

# СЕЛЕКЦИЯ И СЕМЕНОВОДСТВО

Известия ТСХА. выпуск 2, 1990 год

УДК 633.11:631.524.02

## МЕЖВИДОВАЯ ГИБРИДИЗАЦИЯ ПШЕНИЦЫ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБАХ ОБРАБОТКИ ПЫЛЬЦЫ

С. В. ИВАНОВА, К. ИВОНЭ ЛИМА, П. А. ТОМАЙЛЫ

(Кафедра генетики, селекции и семеноводства полевых культур)

Для осуществления отдаленной гибридизации гексаплоидных и тетраплоидных пшениц *T. aestivum*, *T. timopheevii*, *T. dicoccum* проводили облучение пыльцы отцовского компонента гамма-лучами различной мощности в дозе 15 Гр при прямом и обратном скрещивании. Лучшие результаты по завязыванию гибридных семян получены при кратковременном облучении большой мощности. Впервые для межвидовой гибридизации пшеницы применена обработка пыльцы лазерными лучами и химическими мутагенами. Использование лучей лазера (красного и синего света) вдвое повысило завязываемость зерен. Положительные результаты дали и мутагены ДАБ и НЭМ.

Отдаленная гибридизация как метод создания исходного материала все более активно внедряется в селекцию сельскохозяйственных культур. С помощью внутривидовой гибридизации практически невозможно повысить устойчивость сортов к патогенам и улучшить качество продукции из-за ограниченности генофонда сортов, особенно интенсивного типа. Поэтому селекционеры все чаще обращаются к диким формам или к другим культурным, но малопродуктивным видам, обладающим полезными хозяйственными признаками. В роде *Triticum* к таким видам относятся *T. dicoccum* и особенно *T. timopheevii*. Однако работа по передаче сортам мягкой пшеницы отдельных ценных свойств или даже целых их комплексов сопряжена с большими трудностями, связанными с генетическими различиями скрещиваемых форм, сцеплением генов и другими факторами, что приводит к плохой завязываемости гибридных семян, стерильности  $F_1$ , другим нежелательным последствиям.

Для повышения эффективности отдаленной гибридизации используют ряд дополнительных приемов, в частности облучение пыльцы отцовского компонента ионизирующей радиацией, обработку растений химическими мутагенами и т. д. На ряде культур получены положительные результаты [4].

При отдаленной гибридизации пшеницы в последние годы используют главным образом гамма-облучение пыльцы (ТСХА, ИОГен, НПО «Подмосковье»). Получены обнадеживающие результаты. Но многие вопросы, особенно методического характера

ра, требуют дальнейшего изучения. Например: как лучше обрабатывать материал? Давать одну и ту же дозу облучения за длительный период при малой мощности или за краткий при большой мощности? Одинаково ли реагируют на облучение гексаплоидные и тетраплоидные виды пшеницы и как это сказывается на их гибридизации? Представляет интерес использование и других приемов предварительной обработки скрещиваемых форм пшеницы, например, химических мутагенов и лучей лазера. Все эти вопросы были заложены в программу исследования, результаты которого представлены в настоящей статье.

### Методика

Исследования проводили в 1986—1989 гг. на кафедре генетики, селекции и семеноводства полевых культур в лаборатории селекции и генетики полевых культур ТСХА. Компонентами скрещивания служили *T. aestivum* ( $2n=42$ , сорта Родина и Академия), *T. dicossum* ( $2n=28$ , var. fagrum) и *T. timopheevii* ( $2n=28$ , var. timopheevii). Гибридизацию осуществляли в полевых условиях и в теплице путем механической кастрации материнских колосьев и опыления в основном твел-методом, а также подстановкой колосьев отцовского компонента и принудительно. В период цветения срезанные колосья отцовских форм обрабатывали гамма-лучами  $^{60}\text{Co}$  на установке ГУБЭ-800 в Институте общей генетики АН СССР. Доза облучения — 15 Гр, мощность — 0,5, 1,0, 10,0 Гр/мин при экспозиции соответственно 30, 15 и 1,5 мин.

Химические мутагены НЭМ и ДАБ в концентрациях 0,01 и 0,05 % использовали в виде водных растворов, в которых помещали срезанные колосья отцовских растений на 5, 12

и 24 ч.

Обработка колосьев лучами лазера проводилась в Институте геологической и аналитической химии им. Вернадского\*. Варианты различались только длиной волны ( $\lambda$ ): 621, 582 и 455 нм. Мощность облучения — 2 мДж, частота — 10 Гц; облучение импульсное, экспозиция — 15 мин.

Для каждого варианта опыта кастрировали и опыляли не менее 30 колосьев. Контролем служили скрещивания без обработки отцовского компонента. Гибридные поколения выращивали в поле и в теплице. За два года материал доведен до  $F_4$ .

Эффективность действия химических и физических факторов определяли по завязываемости семян в год скрещивания, всхожести, жизнеспособности и плодovitости гибридов, характеру расщепления, количеству перспективных для селекции форм (продуктивных, устойчивых к патогенам, высокобелковых).

Фертильность пыльцы исследовали на давленых препаратах, окрашенных ацетокармином. Материал обрабатывали статистически.

### Результаты

#### Изучение реципрокных скрещиваний *T. aestivum* и *T. timopheevii*

Опыт проведен на сорте Родина с использованием гамма-лучей в дозе 15 Гр при мощности 1,75 Гр/мин (табл. 1).

В скрещиваниях, где материнской формой служила *T. aestivum*, завязываемость семян была невысокой. Облучение отцовского компонента не оказало положительного влияния на этот процесс.

\* Мы выражаем глубокую благодарность сотрудникам института Н. В. Чекалину, А. С. Кочеткову, И. И. Власову и А. Г. Морункову за оказанную помощь.

Влияние облучения (15 Гр) на завязываемость гибридных зерен и всхожесть  $F_1$  в реципрокных гибридах

Вариант скрещивания	Фертильность пыльцы, %	Завязываемость зерен, %	Всхожесть, $F_1$ , %
<i>T. aestivum</i> × <i>T. timopheevii</i>	88,9 ± 0,9	6,7 ± 0,6	31,4 ± 5,0
Контроль	96,7 ± 0,5	9,1 ± 0,7	78,5 ± 1,3
<i>T. timopheevii</i> × <i>T. aestivum</i>	78,9 ± 1,2	37,3 ± 1,4	26,5 ± 2,9
Контроль	98,8 ± 0,3	24,5 ± 1,1	5,0 ± 1,9

В обратной комбинации завязываемость семян была значительно выше. Наблюдался эффект от облучения пыльцы *T. aestivum*. Такая закономерность отмечена как для каждого года опыта, так и в среднем за 1986—1989 гг. Всхожесть семян  $F_1$ , наоборот, была выше в прямой комбинации, особенно в контроле.

Отчетливо проявилось отрицательное действие облучения на фертильность пыльцы отцовского компонента и *T. aestivum* и *T. timopheevii*. Путем цитологического анализа пыльников выявлено большое количество пыльцевых зерен с деформированными или разорванными спермиями и другими аномалиями.

По-видимому, радиация, действуя на генетический аппарат пыльцевого зерна, изменяя структуру спермиев и метаболизм в целом, ослабляет несовместимость разных видов и способствует их лучшей скрещиваемости. Это подтверждается данными о завязываемости зерен в обратной комбинации. Что касается всхожести семян, то в прямой комбинации она значительно выше, чем в обратной. Здесь действуют многие факторы и прежде всего, вероятно, различия в геномном составе эндосперма реципрокных гибридов. В прямой комбинации эндосперм содержит 8 геномов, в обратной — 7 при одинаковом пентаплоидном зародыше. Подобная картина наблюдается при скрещивании мягкой пшеницы с другими тетраплоидными видами [6].

Работу с *T. timopheevii* пришлось прекратить из-за полной стерильности гибридов. Беккроссы дали единичные зерна, их размножение ведется с помощью каллусной культуры. Но фертильных растений пока нет.

#### Изучение различной мощности облучения гамма-лучами

Проведено изучение влияния различной длительности обработки растений одной и той же дозой радиации, т. е. разной мощности облучения.

При оптимальной для облучения пыльцы пшеницы дозе 15 Гр [5] испытывали три мощности — 0,1; 1,0 и 10,0 Гр/мин при экспозиции соответственно 2,5 ч, 15,0 и 1,5 мин. Данные табл. 2 свидетельствуют о значительном преимуществе кратковременной обработки: завязываемость семян находилась в обратной зависимости от воздействия. Такая же тенденция обнаружилась и в

Таблица 2

Завязываемость гибридных зерен при разной мощности облучения пыльцы в комбинации *T. aestivum* (Академия) × *T. dicoccum*

Мощность, Гр/мин; экспозиция	Опылено цветков, шт.	Получено зерен, шт.	Завязываемость зерен, %
0,1; 2,5 ч	422	74	18,3
1,0; 15,0 мин	308	112	36,3
10,0; 1,5 мин	404	174	41,2

Примечание. Гибридизация проведена на срезанных материнских колосьях в питательной среде.

последующих опытах, где минимальную мощность по техническим причинам пришлось увеличить до 0,5 Гр. При самой малой мощности облучения завязываемость была ниже, чем в контроле (табл. 3).

Просматривается и связь завязываемости семян с фертильностью облученной пыльцы. Подтверждается также ранее отмеченная закономерность: в контроле фертильность выше, а завязываемость ниже (за исключением варианта с минимальной мощностью облучения). Всхожесть семян  $F_1$  выше в вариантах пониженной завязываемостью семян.

#### Использование химических мутагенов

Химические мутагены при отдаленной гибридизации используются большей частью для обработки гибридных семян с целью преодоления стерильности (бесплодия) гибридов  $F_1$ . Наиболее распространенным мутагеном является колхицин, применяемый также для приведения к одинаковому уровню плоидности скрещиваемых форм. Что касается других химических мутагенов, действие которых не связано с изменением числа хромосом, например НЭМ, ДАБ, то в отдаленной гибридизации они используются крайне редко. Можно назвать единичные работы, которые проводились с другими культурами [7, 9]. Сведения о при-

Таблица 3

Влияние мощности облучения на показатели гибридизации *T. aestivum* (Академия) × *T. dicoccum*

Мощность, Гр/мин; экспозиция, мин	Фертильность пыльцы, %	Завязываемость зерен, %	Всхожесть $F_1$ , %
0,5; 30	87,1 ± 1,5	28,8 ± 10,0	54,3 ± 5,9
1,0; 15,0	93,6 ± 1,1	56,5 ± 1,1	47,1 ± 6,0
10,0; 1,5	96,5 ± 0,8	58,0 ± 1,2	47,1 ± 6,0
Контроль	99,1 ± 0,4	47,0 ± 1,2	57,1 ± 5,9

Примечание. Данные по фертильности и всхожести приведены за 1988 г., а по завязываемости — за 1987 г.

## Результативность отдаленной гибридизации при использовании химических мутагенов

Вариант обработки	T. aestivum (Родина) × T. timopheevii			T. aestivum (Академия) × T. dicoccum		
	Фертильность пыльцы, %	Завязываемость гибридных зерен, %	Всхожесть F <sub>1</sub> , %	Фертильность пыльцы, %	Завязываемость гибридных зерен, %	Всхожесть F <sub>1</sub> , %
НЭМ—5 ч	94,3 ± 0,7	21,3 ± 1,4	56,3 ± 1,2	95,8 ± 0,9	45,2 ± 1,9	72,1 ± 3,8
НЭМ—12 ч	97,5 ± 0,5	26,7 ± 1,4	61,5 ± 9,7	96,5 ± 0,8	58,9 ± 1,8	63,6 ± 5,1
НЭМ—24 ч	92,8 ± 0,5	18,8 ± 1,4	52,9 ± 12,1	94,1 ± 1,0	58,6 ± 2,0	59,3 ± 4,2
ДАБ—5 ч	97,4 ± 0,5	15,6 ± 1,1	60,0 ± 10,0	88,8 ± 1,3	52,8 ± 1,9	50,7 ± 4,2
ДАБ—12 ч	93,8 ± 0,7	18,9 ± 1,2	64,3 ± 12,8	89,1 ± 1,3	50,1 ± 1,9	50,0 ± 4,2
ДАБ—24 ч	95,0 ± 0,7	23,6 ± 1,4	58,8 ± 11,9	91,2 ± 1,1	57,9 ± 1,8	57,9 ± 4,2
Контроль	99,5 ± 0,8	7,5 ± 1,0	82,4 ± 3,0	99,2 ± 0,4	43,3 ± 1,8	72,9 ± 3,8

Примечание. В комбинации T. aestivum (Родина) × T. timopheevii данные по фертильности пыльцы и завязываемости зерен приводятся за 1987—1988 гг., по всхожести—за 1987 г.; в комбинации T. aestivum (Академия) × T. dicoccum по фертильности пыльцы и всхожести F<sub>1</sub>—за 1988 г., по завязываемости зерен—за 1987—1988 г.

менении этих препаратов в межвидовой гибридизации пшеницы в литературе отсутствуют.

В связи с этим мы поставили задачу изучить влияние на гибридизацию гекса- и тетраплоидных видов пшеницы химических мутагенов ДАБ и НЭМ при обработке ими мужского гаметофита (пыльцы).

Опыт проведен на двух комбинациях: T. aestivum (Родина) × T. timopheevii и T. aestivum (Академия) × T. dicoccum.

Прежде всего следует отметить, что в обеих комбинациях независимо от типа мутагена и времени его действия обработка материала привела к повышению завязываемости гибридных зерен (табл. 4). Наибольший эффект (повышение в 2 и более раза по сравнению с контролем) получен при обработке T. timopheevii. Максимальная завязываемость гибридных зерен в комбинации T. aestivum (Родина) × T. timopheevii была на уровне 26,7 %, T. aestivum (Академия) × T. dicoccum—58,9 %. Различий между мутагенами по степени воздействия их на пыльцу и результаты гибридизации не обнаружены. Очень четкую картину, одинаковую по годам и комбинациям, дали разные экспозиции. Наибольший эффект НЭМ проявляется при выдерживании колосьев в растворе мутагена в течение 12 ч, ДАБ—в течение 24 ч. Ослабление барьера несовместимости, по-видимому, связано с действием мутагена на пыльцу, о чем свидетельствуют некоторое снижение фертильности пыльцы в целом и наличие в пыльцевых зернах разорванных, укороченных, фрагментированных спермиев и других аномалий. Что касается всхожести гибридных семян, то, как и в опытах с использованием гамма-лучей, она была максимальной в контроле.

Результативность отдаленной гибридизации при обработке пыльцы лазерными лучами (1987—1988 гг.)

Вариант обработки	Фертильность пыльцы, %	Завязываемость зерен, %	Всхожесть F <sub>1</sub> , %
T. aestivum (Родина) × T. timopheevii			
Красные лучи	95,6 ± 0,6	18,5 ± 1,5	65,5 ± 8,8
Синие лучи	88,7 ± 0,8	19,6 ± 1,6	81,1 ± 2,7
Зеленые лучи	86,1 ± 1,1	10,3 ± 1,3	64,7 ± 11,6
Контроль	97,9 ± 0,5	8,9 ± 1,0	82,4 ± 3,0
T. aestivum (Академия) × T. dicoccum			
Красные лучи	97,9 ± 0,4	68,3 ± 1,8	70,0 ± 3,9
Синие лучи	86,2 ± 0,6	69,9 ± 2,0	71,4 ± 3,8
Зеленые лучи	89,5 ± 0,9	57,1 ± 2,0	67,1 ± 4,0
Контроль	99,2 ± 0,3	38,4 ± 2,0	79,9 ± 3,8

Примечание. Данные о всхожести F<sub>1</sub> в комбинации T. aestivum (Академия) × T. dicoccum приведены за 1988 г.

### Использование лучей лазера

В последние годы лазеры находят все более широкое применение в разных областях техники, медицины, биологии. Мы поставили опыт по изучению действия этого фактора на скрещиваемость разных видов пшеницы опять-таки с целью изыскания приемов повышения эффективности отдаленной гибридизации.

В обеих комбинациях скрещивания обнаружено положительное действие лучей лазера на завязываемость зерен (табл. 5). Лучшие результаты получены при обработке пыльцы красными и синими лучами; зеленые лучи оказались менее эффективными. Возможно, это связано с наличием хлорофилла в зеленых частях колоса и большим отражением этого вида лучей. Тем не менее завязываемость гибридных зерен в этом варианте выше, чем в контроле.

### Заключение

Таким образом, наши опыты показали, что различные физические и химические факторы (гамма-лучи, лучи лазера, НЭМ и ДАБ) оказывают положительное действие на завязываемость гибридных зерен при скрещивании разнохромосомных видов пшеницы. Несмотря на различную природу этих факторов, их действие вызывает однотипное изменение обработанного материала — снижение фертильности пыльцы. Возможно, эти и другие нарушения структуры и метаболизма пыльцевого зерна являются причиной снижения избирательности оплодотворения, что и обеспечивает более высокую завязываемость гибридных зерен.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Бовкис Е. Н. Некоторые вопросы использования облученной

пыльцы в генетике и селекции озимой мягкой пшеницы (T. aestivum). — Генетика, 1978, т. 14, № 7, с. 1237—1246. — 2. Бляндур О. В.,

Девятков М. Д. и др. Лазерный луч и его возможности в селекционно-генетических исследованиях кукурузы. — Кишинев: Штиинца, 1987. — 3. Валева С. А. Принципы и методы применения радиации в селекции растений. — М.: Атомиздат, 1969. — 4. Денисова Р. Н., Смирнов Ю. А., Горбова О. В. Использование химических мутагенов при отдаленной гибридизации видов *Corylus*. — ЦГЛ, Мичуринск, 1984. — 5. Иванова С. В. Реципрокный эффект в межвидовой гибридизации пшеницы. — Изв. ТСХА, 1987, № 1, с. 60—65. — 6. Кантор Т. С. Применение химических мутагенов с целью получения плодовых землянично-клубничных гибридов. — ЦГЛ, Мичуринск, 1987. — 7. Керкадзе И. Г. Теория и практика спонтанного и индуцирован-

ного мутагенеза субтропических культур. — Автореф. докт. дис. М., ИОГен, 1987. — 8. Маслов А. Б. Мутагенез в селекционно-генетических исследованиях отдаленных гибридов и полиплоидов. — М.: Наука, 1983. — 9. Молканова О. И. Использование облученной пыльцы при межвидовой гибридизации пшеницы. — Автореф. канд. дис. М., 1985. — 10. Остапенко В. И., Рыжков С. Д. Влияние нонизирующих облучений  $^{60}\text{Co}$  на физико-химические свойства пыльцы и результаты отдаленной гибридизации плодовых растений. — Тез. докл. к симпозиуму по обсуждению вопросов, связанных с облучением вегетирующих растений. Л., 1972.

*Статья поступила 8 сентября 1989 г.*

#### SUMMARY

To implement distant hybridization of hexaploid and tetraploid wheats *T. aestivum*, *T. timopheevii*, *T. dicoccum*, the pollen of sire component was irradiated with gamma-rays of different power at the dose of 15 Gr. with direct and reverse crossing. The best results in setting hybrid seed are obtained after short-term treatment with irradiation of high power. Application of laser rays (red and blue light) made the setting two times higher. Mutagens DAB and NEM also produced positive results.

For the first time laser rays and chemical mutagens have been used for interspecific hybridization of wheat.