

УДК 631.527.5:633.11

ПРОБЛЕМА ВТОРИЧНОЙ ХАЗМОГАМИИ  
В ОТДАЛЕННОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM* L.)\*

В.С. РУБЕЦ, В.В. ПЫЛЬНЕВ, М.В. ЯЛТОНСКАЯ, М.Г. ДИВАШУК, А.А. КОРОТАЕВА

(РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева)

Отдаленная гибридизация используется в селекции довольно давно для улучшения сортов полевых культур. Дикие сородичи культурной пшеницы обладают признаками хорошей адаптации к различным абиотическим и биотическим факторам среды. Пшеница Тимофеева (*Triticum timopheevii* Zhuk) обладает комплексным иммунитетом к грибным болезням, поэтому часто используется в селекционных программах. Однако возникают трудности, такие как стерильность гибридов F<sub>1</sub>, вторичное открытое цветение (вторичная хазмогамия) и др. Вторичная хазмогамия приводит к неконтролируемому перекрестному опылению и, как итог, к популятивности сортообразцов.

В данной работе изучены предполагаемые причины вторичного хазмогамного цветения поздних поколений отдаленных гибридов пшеницы, полученных от скрещивания *Triticum aestivum* L. с *T. timopheevii* Zhuk. Показано, что вторичная хазмогамия у них не зависит от фертильности пыльцы и размеров пыльников. Изучаемые поздние поколения отдаленных гибридов имеют сбалансированный по числу хромосом геном, сходный с мягкой пшеницей (2n=42). Тип цветения не влияет на завязываемость и среднюю массу зерновки без изоляции колосьев. Изоляция колосьев в фазу цветения приводит к снижению завязываемости зерен при любом типе цветения и не влияет на формирование крупности зерен. Выявлено влияние материнского сорта мягкой пшеницы на степень вторичного открытого цветения отдаленных гибридов.

Ключевые слова: отдаленные гибриды пшеницы, вторичное хазмогамное цветение, фертильность пыльцы, завязываемость зерен в колосе.

Способ цветения культуры определяет особенности селекционной и семеноводческой работы с ней. Отдаленная гибридизация в селекции пшеницы используется довольно давно. Дикие сородичи культурной пшеницы часто обладают признаками хорошей адаптации к различным неблагоприятным абиотическим и биотическим факторам среды [2, 4]. Одним из наиболее значимых в этом плане видов является пшеница Тимофеева, о которой Н.И. Вавилов писал: «...Вид *Triticum timopheevii* исключительно интересен своим иммунитетом ко многим заболеваниям» [8]. Однако, обладая иным, негомологичным другим видам, геномом G, этот вид пшеницы труд-

\* Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках выполнения ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2012 годы (ГК №16.552.11.7032 от 29 апреля 2011 г.) на оборудовании ЦКП «ВНИИСБ».

но использовать в селекционных программах. Даже после преодоления нескрещиваемости и стерильности гибридов первого поколения, дальнейшая работа затруднена проявлением в потомстве (даже позднем) некоторых нежелательных признаков, в частности вторичного хазмогамного цветения [9, 10].

Способ цветения культуры определяет особенности селекционной и семеноводческой работы с ней. Мягкая пшеница является самоопылителем с незначительным факультативным перекрестом (до 2%) [1, 11, 12], что позволяет проводить селекционно-семеноводческую работу с ней без изоляции. При этом у нее проявляются атаксистические признаки, присущие предковым анемофильным формам и выражающиеся в кратковременном раскрытии цветковых чешуй в момент цветения (первичная хазмогамия) и выбрасывании наружу пыльников с остатками пыльцы на длинных тычиночных нитях. У пшеницы около 80% цветков в период цветения раскрываются при благоприятных погодных условиях благодаря набуханию лодикул (умеренная температура воздуха и повышенная влажность). Время, в течение которого цветки остаются раскрытыми, невелико — в среднем около 12 мин. Такой процесс может приводить к незначительному спонтанному перекрестному опылению [1, 12, 13].

Однако у селекционных образцов, полученных с участием отдаленных гибридов *T. aestivum* x *T. timopheevii*, даже в поздних поколениях ( $F_7$ - $F_{in}$ ) проявляется вторичное хазмогамное цветение, выражающееся в продолжительном раскрытии цветковых чешуй у большинства цветков в колосе. Это значительно повышает риск биологического засорения сорта. Поэтому выявление причин вторичной хазмогамии у отдаленных гибридов *T. aestivum* x *T. timopheevii* является первоочередной задачей, решение которой позволит использовать их в селекционных программах, направленных на создание сортов мягкой пшеницы с устойчивостью к грибным болезням.

Наша работа посвящена изучению возможных причин вторичной хазмогамии поздних поколений ( $F_7$ - $F_{in}$ ) отдаленных гибридов *T. aestivum* x *T. timopheevii*, полученных в 1994 г. в Алтайском НИИСХ В.Ф. Козловской и М.М. Старостенковой [5].

Предположительно причинами вторичной хазмогамии могли быть следующие явления: 1 — несбалансированность числа хромосом, приводящая к стерильности пыльцы; 2 — слабое развитие пыльников; 3 — цитоплазматическая мужская стерильность.

### Материал и методика

Для условий Московской обл. наиболее подходящими оказались гибридные комбинации Л1-6 [(Жница \* *T. timopheevii*) / Жница] и Л-25 [(Новосибирская 67 x *T. timopheevii*) x Новосибирская 67]. Однако у линий, отобранных из этих комбинаций, проявляется вторичное хазмогамное цветение, передающееся селекционным номерам, полученным с их участием. Для выяснения причин этого явления нами были отобраны контрастные по фертильности пыльцы линии, которые вследствие вторичной хазмогамии являются популяциями (по 3 линии с повышенной и по 3 линии с пониженной фертильностью из каждой комбинации), а также их родительские формы. Для комбинации Л-6 [(Жница x *Triticum timopheevii*) x Жница] линии с повышенной фертильностью пыльцы — это Л-6-7, Л-6-10, Л-6-12, с пониженной — Л-6-6, Л-6-15 и Л-6-19. Для комбинации Л-25 [(Новосибирская 67 x *Triticum timopheevii*) x Новосибирская 67] линии с повышенной фертильностью пыльцы это — Л-25-22, Л-25-23 и Л-25-26, с пониженной — Л-25-21, Л-25-24, Л-25-27. У каждой из линий вторичное хазмогамное цветение проявляется в различной степени. Поэтому в пре-

делах каждой линии были отобраны растения как нормально цветущие, так и вторично хазмогамные. В опыте участвовали исходные популятивные линии для подсчета процента хазмогамных растений на делянке, а также отборы из них, различающиеся по типу цветения.

Исследования проводили на кафедре селекции и семеноводства полевых культур и в Центре молекулярной биотехнологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева в 2010—2011 гг. Опытные образцы были высеяны на Селекционной станции им. П.И. Лисицына. В 2010 г. площадь делянки исходных популятивных линий была 1,5 м<sup>2</sup>, в 2011 г. — 1 м<sup>2</sup>. Потомства отобранных растений с различным типом цветения в пределах каждой линии высевали вручную. Агротехника — общепринятая для Черноземной зоны.

Метеорологические условия, сложившиеся в период вегетации, сильно различались в оба года исследований. В 2010 г. в начале цветения наблюдались обильные осадки, затем — жесточайшая засуха на фоне крайне высоких температур. Это привело к формированию очень низкой массы зерна в колосе. В 2011 г., наоборот, в начале вегетации и цветения отмечалась жесткая засуха на фоне повышенных температур. Окончание цветения совпало с обильными осадками. Созревание шло при значительном дефиците влаги на фоне повышенных среднесуточных температур.

Подсчет хромосом проводили на метафазных пластинках [7]. Фертильность пыльцы определяли ацетокарминовым методом [6]. Измерение размеров пыльников проводили с помощью стереоскопического микроскопа МБС-3 у растений с вторичной хазмогамией и нормально цветущих в пределах каждой линии. Во время цветения изолировали колосья растений с обоими типами цветения для изучения влияния изоляции на завязываемость и массу зерновок. Определяли завязываемость зерен как отношение числа зерен к числу развитых цветков. Данные после преобразования по [3] подвергали дисперсионному анализу с помощью программы «DIANA».

### Результаты и их обсуждение

В 2010 г. наблюдали высокий уровень вторично хазмогамного цветения у родительской формы Жницы и линий комбинации Л-6 с ее участием (около 40%). У второй комбинации Л-25 только у двух линий (Л-25-22 и Л-25-24) был отмечен высокий процент вторичной хазмогамии (10 и 20% соответственно). В 2011 г. уровень вторичной хазмогамии был ниже у всех линий. У комбинации Л-6 он варьировал от 4 до 22%, у Жницы — 1,2%, у комбинации Л-25 — от 0 до 3%. Причем у родительской формы Новосибирская 67 вторичная хазмогамия не отмечена. Таким образом, налицо влияние материнского сорта мягкой пшеницы.

Определение числа хромосом у всех изучаемых линий отдаленных гибридов показало, что все они имеют диплоидное число хромосом, характерное для *Triticum aestivum* — 42. Анеуплоидия зафиксирована не была.

Определение фертильности пыльцы показало, что все линии обладают вполне нормальной пыльцой, хоть и различаются по значению фертильности. Самое низкое значение фертильности зафиксировано у линии Л-6-19 — 79%. Этого вполне достаточно для оплодотворения одного семязачатка в цветке. При этом ни в один из лет исследований не отмечено корреляций между фертильностью пыльцы и процентом вторично хазмогамных растений на делянке.

Размеры пыльников у изучаемых линий отдаленных гибридов довольно значительно различались и были либо в пределах родительских форм, либо значительно

крупнее. Не отмечено корреляций между размерами пыльников, с одной стороны, и процентом вторично хазмогамных растений на делянке и фертильностью пыльцы — с другой. Сравнение размеров пыльников между вторично хазмогамными и нормально цветущими растениями в пределах каждой линии показало отсутствие существенных различий по этому признаку между растениями с разными типами цветения.

*Завязываемость зерен без изоляции колосьев*

У всех линий обеих комбинаций были определены завязываемость зерен и масса одной зерновки без предварительной изоляции колосьев в фазу цветения (табл. 1).

У комбинации Л-6 в 2010 г. были отмечены различия между вторично хазмогамными растениями изучаемых линий и не отмечены у нормально цветущих. При этом двухфакторный дисперсионный анализ показал, что завязываемость зерен

Т а б л и ц а 1

**Завязываемость и масса зерен у растений с разным типом цветения в пределах изучаемых линий без изоляции колосьев**

Линия	Завязываемость зерен, %				Масса одной зерновки, мг			
	вторично хазмогамные растения		нормально цветущие растения		вторично хазмогамные растения		нормально цветущие растения	
	2010 г.	2011 г.	2010 г.	2011 г.	2010 г.	2011 г.	2010 г.	2011 г.
<i>Комбинация Л-6 [(Жница x <i>Triticum timopheevii</i>) x Жница]</i>								
Л-6-6	67	52	74	65	29	41	36	36
Л-6-7	53	69	54	68	21	34	29	36
Л-6-10	62	69	70	71	24	40	31	40
Л-6-12	56	76	68	66	24	32	35	30
Л-6-15	44	56	63	60	28	41	29	37
Л-6-19	66	71	64	71	21	36	25	34
НСР <sub>05</sub>	10,2	7,0	14,1	4,9	11,2	5,2	10,6	6,1
<i>Комбинация Л-25 [(Новосибирская 67 x <i>Triticum timopheevii</i>) x Новосибирская 67]</i>								
Л-25-21	—	89	—	71	—	38	—	37
Л-25-22	61	66	64	61	20	34	32	38
Л-25-23	—	76	—	72	—	33	—	36
Л-25-24	53	66	65	67	17	35	32	36
Л-25-26	68	86	82	72	22	32	31	32
Л-25-27	—	—	—	—	—	—	—	—
НСР <sub>05</sub>	18,9	7,0	6,0	4,9	7,4	5,2	6,6	6,1

у нормально цветущих растений достоверно выше, чем у вторично хазмогамных. В 2011 г. получены аналогичные результаты по завязываемости зерен между линиями, однако не обнаружено достоверных различий между растениями с разным типом цветения в пределах каждой линии.

Что касается комбинации Л-25, то в 2010 г. линии не различались между собой по проценту завязавшихся зерен в колосе у вторичнохазмогамных растений и существенно различались у нормально цветущих. В 2011 г. различия между линиями наблюдались при обоих типах цветения. Двухфакторный дисперсионный анализ не выявил у изученных линий отдаленных гибридов существенных различий по завязываемости зерен между растениями с разным типом цветения в оба года исследований.

У обеих гибридных комбинаций не найдено различий по массе одной зерновки между линиями при любом типе цветения как в 2010 г., так и в 2011 г. Однако в 2010 г. было выявлено, что у нормально цветущих растений зерно существенно крупнее, чем у цветущих открыто. В 2011 г. не найдено различий между двумя типами цветения.

Таким образом, у изученных комбинаций отдаленных гибридов не выявлено достоверного влияния типа цветения на завязываемость зерен и их массу без предварительной изоляции колосьев.

#### *Завязываемость зерен при изоляции колосьев*

Изоляция колосьев в фазу цветения может привести к отсутствию зерен в случае стерильной пыльцы или цитоплазматической мужской стерильности.

В наших опытах не было отмечено полного отсутствия зерна в изолированных колосьях. Это говорит об отсутствии вышеупомянутых причин у изучаемых линий отдаленных гибридов.

Тем не менее мы получили данные, позволяющие говорить о значительном влиянии изоляции на завязываемость зерен у отдаленных гибридов пшеницы (табл. 2).

Т а б л и ц а 2

#### **Завязываемость и масса зерен у растений с разным типом цветения в пределах изучаемых линий при изоляции колосьев, 2011 г.**

Линия	Завязываемость зерен, %				Масса одной зерновки, мг			
	вторично хазмогамные растения		нормально цветущие растения		вторично хазмогамные растения		нормально цветущие растения	
	изолированные	интактные	изолированные	интактные	изолированные	интактные	изолированные	интактные
<i>Комбинация Л-6 [(Жница x <i>Triticum timopheevii</i>) x Жница]</i>								
Л-6-6	44	52	54	65	42	41	39	36
Л-6-7	52	69	56	68	34	34	36	36
Л-6-10	48	69	57	71	40	40	41	40
Л-6-12	66	76	62	66	30	32	28	30
Л-6-15	39	56	42	60	41	41	39	37
Л-6-19	54	71	62	71	35	36	34	34

Линия	Завязываемость зерен, %				Масса одной зерновки, мг			
	вторично хазмогамные растения		нормально цветущие растения		вторично хазмогамные растения		нормально цветущие растения	
	изолированные	интактные	изолированные	интактные	изолированные	интактные	изолированные	интактные
<i>Комбинация Л-25 [(Новосибирская 67 x Triticum timopheevii) x Новосибирская 67]</i>								
Л-25-21	72	89	60	71	38	38	37	37
Л-25-22	59	66	59	61	32	34	33	38
Л-25-23	71	76	58	72	35	33	34	36
Л-25-24	52	66	55	67	33	35	36	36
Л-25-26	82	86	67	72	30	32	30	32
Л-25-27	—	—	57	67	—	—	37	34
Жница	62	74	62	74	34	33	34	33
Новосибирская 67	61	70	61	70	32	33	32	33
Пшеница Тимофеева	59	80	59	80	25	26	25	26
НСР <sub>05</sub>	8,0	6,7	7,1	5,0	6,4	5,2	6,9	5,7

Изоляция колосьев ранее отобранных вторично хазмогамных и нормально цветущих растений в пределах каждой линии показала, что как при изоляции, так и без нее завязываемость зерен значительно различается у разных линий. Так, у линий Л-6-6 и Л-6-15 наблюдается достоверно низкая завязываемость в сравнении с материнским сортом Жница независимо от типа цветения и изоляции. В другой комбинации сходные данные получены по линиям Л-25-21 и Л-25-26. У них, наоборот, завязываемость выше, чем у материнского сорта Новосибирская 67 независимо от изоляции. Однако двухфакторный анализ показал, что при изоляции колосьев достоверно снижается завязываемость зерен в сравнении с интактными растениями у растений с обоими типами цветения.

Изоляция колосьев в период цветения не влияет на формирование массы одной зерновки у растений с обоими типами цветения в оба года исследований.

### Выводы

1. Изучаемые поздние поколения отдаленных гибридов *T. aestivum* x *T. timopheevii* имеют сбалансированный по числу хромосом геном, сходный с мягкой пшеницей ( $2n=42$ ).

2. У отдаленных гибридов нормально развиты пыльники, часто они крупнее, чем у родителей.

3. Изученные линии отдаленных гибридов *T. aestivum* x *T. timopheevii* обладают высокой фертильностью пыльцы. У них отсутствует цитоплазматическая мужская стерильность.

4. Изоляция снижает завязываемость зерен при любом типе цветения (вторичная хазмогамия и нормальное цветение).

5. Изоляция колосьев во время цветения не влияет на формирование крупности зерновки.

6. Выявлено влияние материнского сорта мягкой пшеницы на проявление вторичной хазмогамии у гибридов.

Таким образом, вопрос о причинах вторичной хазмогамии у поздних поколений отдаленных гибридов *T. aestivum* x *T. timopheevii* остается открытым.

### Библиографический список

1. Горин А.П. Биология цветения и естественной гибридизации у пшеницы: дис. ... д-ра с.-х. наук. М., 1950. 295 с.
2. Давоян Р.О. Использование генофонда дикорастущих сородичей в улучшении мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.): автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Краснодар, 2006. 49 с.
3. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. М.: Колос, 1973. 336 с.
4. Качество зерна и муки у интрогрессивных линий яровой мягкой пшеницы с генами устойчивости к листовой ржавчине от *Triticum timopheevii* Zhuk. / Л.В. Обухова [и др.] // Сельскохозяйственная биология. 2008. № 5. С.38-42.
5. Козловская В.Ф. Интрогрессивная гибридизация видов рода *Triticum* L.: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Новосибирск, 1994. 50 с.
6. Паушеев З.П. Практикум по цитологии растений. М.: Агропромиздат, 1988. 271 с.
7. Пухальский В.А., Соловьев А.А., Бадаева Е.Д., Юрцев В.Н. Практикум по цитологии и цитогенетике растений. М.: КолосС, 2007. 198 с.
8. Теоретические основы селекции растений / под общей ред. акад. Н.И. Вавилова. М.-Л.: Изд-во совхозной и колхозной литературы, 1935. Т.2. 711 с.
9. Ухинова Е.П. Селекционно-генетическая оценка различных форм пшеницы, полученных методом отдаленной гибридизации: дис. ... канд. биол. наук. М., 2009. 136 с.
10. Ухинова Е.П., Пыльнее, В.В. Рубец В.С. Цитогенетический анализ гибридов мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) с пшеницей Тимофеева (*Triticum timopheevii* Zhuk.) // Известия ТСХА. 2009. Вып. 2. С. 131-138.
11. Чеботарь А.А., Челак В.Р., Мошкочич А.М., Архипенко М.Г. Эмбриология зерновых, бобовых и овоще-бахчевых возделываемых растений. Кишинев: Штиинца, 1987. 225 с.
12. !je Vries A.Ph. Flowering biology of wheat, particularly in view of hybrid seed production — a review // Euphytica. 1971. Vol. 20. P. 152-170.
13. Rajki E. Open- and closed flowering in some wheat varieties // Novenytenneles. 1960. T. 9. №4. P. 319-320.

Рецензент — д. б. н. Л.И. Хрусталева

### SECONDARY HASMOGAMY PROBLEM OF DISTANT HYBRIDISATION IN WHEAT (*TRITICUM* L.)

V.S. RUBETS, V.V. PYLNEV, M.V. YALTONSKAYA, M.G. DIVASHUK, A.A. KOROTAEVA

(RTSAU named in honour of K.A. Timiryazev)

*Distant hybridization had been used in plant breeding for a long time to improve varieties of cereal crops. Wild relatives of cultivated wheat possess good adaptation characteristics to different unfavorable both abiotic and biotic factors of the environment. It is well known, that *Triticum timopheevii* Zhuk. has the complex fungous diseases immunity. Therefore this species of wheat is*



*used in breeding programmes very often. However, difficulties arise such as sterility of the hybrids FI, secondary open flowering (secondary chasmogamy) et al. Secondary chasmogamy is the cause of uncontrolled cross-pollination between selection samples of wheat.*

*Reasons for chasmogamic flowering of the following distant wheat hybrid generations, obtained by crossing *Triticum aestivum* L. with *T. timopheevii* Zhuk, have been studied. It has been discovered that secondary chasmogamy phenomenon depends upon neither pollen fertility nor on anther size. There is a balance in chromosome number in the genome of the hybrids, which are similar to soft wheat ( $2n=42$ ). The blossoming type does not affect grain setting and the average weight of grain without spike isolation. The spike isolation during the blossoming stage results in decreasing grain setting for any blossoming type and does not affect the grain size. The influence of the female parent variety of soft wheat on the degree of the secondary open flowering in distant hybrids has been revealed.*

*Key words: wheat distant hybrids, secondary open blossoming, pollen fertility, grain setting in the spike.*

**Рубец Валентина Сергеевна** — к. б. н., доцент кафедры селекции и семеноводства полевых культур РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел.: (499) 976-12-72; e-mail: selection@timacad.ru).

**Пыльнев Владимир Валентинович** — д. б. н., проф. кафедры селекции и семеноводства полевых культур РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Тел.: (499) 976-12-72; e-mail: selection@timacad.ru.

**Ялгонская Мария Васильевна** — магистрант РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева. Тел.: (499) 976-12-72.

**Дивашук Михаил Георгиевич** — к. б. н., научный сотрудник Центра молекулярной биотехнологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Тел.: (499) 976-08-94.

**Коротаева Алина Александровна** — аспирант Центра молекулярной биотехнологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Тел.: (499) 976-08-94.