

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР «БИОРЕСУРСЫ»
ЦЕНТРАЛЬНЫЙ БОТАНИЧЕСКИЙ САД
Отдел биохимии и биотехнологии растений

**ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ И ПРИКЛАДНЫЕ
АСПЕКТЫ БИОХИМИИ
И БИОТЕХНОЛОГИИ
РАСТЕНИЙ**

Сборник научных трудов
III Международной научной конференции
14–16 мая 2008 г., Минск

*К 50-летию Отдела биохимии
и биотехнологии растений*

Минск
«Издательский центр БГУ»
2008

УДК 581:576.3(043.2)
ББК 28.55
Т33

Научные рецензенты:

д-р биол. наук, проф., акад. НАН Беларуси *В. Н. Решетников*;
д-р биол. наук, проф. *В. М. Юрин*;
д-р биол. наук, проф. *В. Л. Калер*

Редакционная коллегия:

*В. Н. Решетников, О. П. Булко, И. И. Паромчик, Т. И. Фоменко,
Е. В. Спиридович, Т. В. Антипова*

Теоретические и прикладные аспекты биохимии и биотехнологии растений : сб. науч. тр. 3-й Междунар. науч. конф., 14–16 мая 2008 г., Минск : к 50-летию Отд. биохимии и биотехнологии растений / НАН Беларуси, Центр. ботан. сад [и др.] ; редкол. : В. Н. Решетников [и др.] . — Минск : Изд. центр БГУ, 2008. — 562 с.
ISBN 978-985-476-604-1.

В сборнике изложены результаты исследований по составу, свойствам, организации интерфазных клеточных ядер и пластид высших растений, путей регулярного воздействия на ядерный аппарат, включая реконструкцию генома с помощью трансгеноза. Представлены отдельные проблемы регуляции морфогенеза растительных клеток и микрклонального размножения некоторых культур, использования молекулярных маркеров в документировании ботанических коллекций. Рассмотрены биохимические основы практического использования растительных ресурсов.

УДК 581:576.3(043.2)
ББК 28.55

ISBN 978-985-476-604-1

© Центральный ботанический сад
НАН Беларуси, 2008

УДК 582.542.1:581.19:631.527

ПОЛИМОРФИЗМ ХОЗЯЙСТВЕННО-ЦЕННЫХ ПРИЗНАКОВ И СВОЙСТВ У ОТДАЛЕННЫХ ГИБРИДОВ ОВСЯНИЦЫ ЛУГОВОЙ (*FESTUCA PRATENSIS*) И ОВСЯНИЦЫ ТРОСТНИКОВОЙ (*FESTUCA ARUNDINACEA*)

¹Столепченко В. А., ²Кондрацкая И. П., ¹Шишлова А. М.,
¹Васько П.П., ²Фоменко Т.И., ¹Козловская З. Г., ¹Ольшевская Н. Б.

¹РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию», г. Жодино, ул. Тимирязева 1, 222160 Беларусь, e-mail: izis@tyt.by, valiantsinas@mail.ru

²ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси», г. Минск, ул. Сурганова, 2в, 220012 Беларусь. e-mail: ikondratskaya@mail.ru

Введение. Кормопроизводство является одной из основных отраслей сельского хозяйства, которая должна обеспечивать животноводство достаточным количеством высококачественного корма.

В селекции овсяницы луговой и тростниковой используются следующие методы:

- индивидуальный, индивидуально-семейственный и семейственно-групповой отбор на анализирующих фонах, в том числе на инфекционном фоне;
- внутривидовая гибридизация на основе ограниченно-свободного опыления и искусственного скрещивания;
- межвидовая гибридизация между овсяницами луговой и тростниковой;
- методы поликросса для создания синтетических и сложногибридных популяций;
- метод экспериментальной полиплоидии.

Создание межвидовых гибридов овсяницы луговой (*Festuca pratensis*) и овсяницы тростниковой (*Festuca arundinacea*) с мягкими листьями позволит получить среднеспелые пастбищные травостои, адаптированные к избыточному увлажнению почв с высокой продуктивностью, хорошим качеством корма и высокой поедаемостью скотом.

Материал и методы. Подбор родительских пар для гибридизации проводили с учетом уровня ploидности (ди- или тетра-) сортообразцов. В качестве родительских форм для реципрокных скрещиваний было использовано четыре образца овсяницы луговой: Высокогорная, Exidion, Зорька, Коммерческая и четыре овсяницы тростниковой: Западная, Зарница, Дикорастущая, Ноккай-4. Межвидовая гибридизация связана с про-

явлением про- и постгамной несовместимости. Для преодоления постгамной несовместимости использовали метод эмбриокультуры *in vitro*, а стерильности гибридов F_1 – метод полиплоидизации регенерантов колхицином. Полиплоидизация способствовала также и закреплению гетерозиса не только в первом, но и последующих поколениях. Основная работа с отдаленными гибридами овсяниц в популяциях поколений F_2 и F_3 связана с выявлением полиморфизма признаков при учете нарастания зеленой массы и семенной продуктивности растений, определении мягкости листьев и учете болезней (пятнистостей), определении количества побегов, площади листьев и других признаков в сравнении с родительскими формами. Изучение биохимических показателей было проведено по полиморфизму легкорастворимых белков у отдаленных гибридов и родительских форм с целью маркирования хозяйственно-ценных признаков и биологических свойств растений. Объектом служили листья отдаленных гибридов и родительских форм овсяницы луговой и овсяницы тростниковой, собранные в полевых условиях первого и второго укоса.

Результаты и обсуждение. В результате проведения гибридизации было получено семь комбинаций скрещиваний, у которых в среднем завязываемость гибридных зерен составила 18,2%. В условиях *in vitro* было высажено 602 зародыша, что составило 65,7%, от полученных зерен, и после проведения колхицинирования получено 244 регенеранта или 40,5%.

Визуальная оценка гибридов F_1 , F_2 и F_3 в полевых условиях показала, что практически все они отличаются более мягкими и сочными листьями по сравнению с сортами овсяницы тростниковой. Исключение составили реципрокные комбинации с сортами Западная и Высокогорная у них растения отличались жесткими листьями не только в фазу цветения, но и при отрастании растений после укосов. По продуктивности зеленой массы эти комбинации оказались самыми урожайными, но по качеству корма они уступали родительским формам. Для использования данных комбинаций в селекции в дальнейшем запланировано их беккроссирование сортами овсяницы луговой.

Наблюдения за ростом и развитием растений позволили сформировать популяции по намечаемым хозяйственно-ценным признакам путем разделения каждой популяции на биотипы и выделения из них более ценных.

Были изучены клоновые гибриды овсяниц следующих комбинаций скрещиваний: Западная x Eхidion, Зарница x Зорка, Зорка x Зарница, Зорка x Дикорастущая, Высокогорная x Зарница, у которых мягкость листьев у гибридов F_2 наследовалась по промежуточному типу, и у которых были отмечены как полужесткие, так и мягкие листья по сравнению с родительскими формами. Было отмечено, что при включении в гибридизацию

иностранных сортов наблюдался более широкий полиморфизм по изучаемому показателю.

Изучение возможности использования полученных гибридов в пастбищном режиме проводилось путем скашивания и учета скорости отрастания. Были выделены гибриды с быстрым отрастанием, а также гетерозисные по высоте растений: Высокогорная х Зарница и Зарница х Зорка.

Проведенный структурный анализ растений в фазу флагового листа – начала выметывания показал, что облиственность гибридов в среднем была невысокой, так в популяции Коммерческая х Ноккай-4 она составила 39%, у родителей – Коммерческая – 44,5%, а у Ноккай-4 – 33,5%. У отдельных гибридов облиственность достигала 49%.

По семенной продуктивности у изученных популяций в сравнении с исходными формами в основном наблюдался гетерозис, кроме гибридов Высокогорная х Зарница, Зорка х Дикорастущая Франция.

Для проведения электрофоретического анализа листьев по спектрам легкорастворимых белков в качестве родительских форм использовали два сорта овсяницы луговой – Зорка и Высокогорная и два – тростниковой – Зарница и Западная. Было проанализировано три комбинации, где в качестве материнской формы использовали овсяницу тростниковую и две реципрокные комбинации.

Биохимический анализ листьев отдаленных гибридов, собранных в июне (первый укос), по электрофоретическим спектрам легкорастворимых белков выявил близкие показатели по количественному составу белковых компонентов с родительскими формами этих гибридов. Однако, в спектрах белковых компонентов гибрида Высокогорная х Зарница и его родительских форм выявлены существенные отличия, как по качественным, так и по количественным показателям. У гибрида, по сравнению с родительскими формами значительно увеличен уровень экспрессии белковых компонентов, особенно в полипептидах с молекулярной массой около 12,0 кД, которая соответствует малой субъединице РБФКО (рибулезобифосфаткарбоксилаза). Как известно у высших растений малая субъединица РБФКО кодируется геномом ядра. Площадь пика малой субъединицы РБФКО у гибрида больше в 3,4 раза, чем у отцовской формы Зарница и в 5,4 раза, чем у материнской – Высокогорная. Также у гибрида значительно увеличен синтез белкового компонента в области молекулярной массы около 24,0 кД. У сорта Высокогорная отмечен высокомолекулярный полипептид с молекулярной массой выше 56,0 кД с уровнем экспрессии, значительно превышающей уровень экспрессии этого полипептида у гибрида и у сорта Зарниц, а также высокомолекулярный полипептид с Мм 105,0 кД, который не обнаружен у гибрида и у отцовской формы (рис. 1).

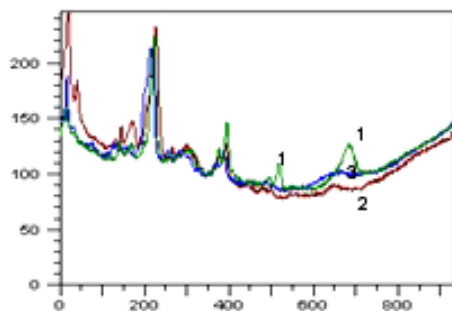


Рис. 1. Денситограмма электрофоретического разделения легко растворимых белков отдаленных гибридов и родительских форм (первый укос): 1. отдаленный гибрид о.л.Высокогорная X о.т. Зарница; 2. о.л.Высокогорная; 3. о.т. Зарница.

Электрофоретическое разделение легко растворимых белков из листьев отдаленных гибридов и их родительских форм второго укоса показало существенные качественные и количественные отличия в полипептидных спектрах легко растворимых белков отдаленных гибридов и их родительских форм в сравнении с первым укосом

Электрофоретическое исследование белков гибридов и родительских форм выявило их высокую гетерогенность по составу и по интенсивности белковых полос – 11-15 полипептидных зон у гибридов и их родительских форм первого укоса и 17-23 – у гибридов и их родительских форм второго укоса в области молекулярных масс 12,0 кД – 119 кД. Однако основные белковые компоненты сохраняются на всех стадиях развития растения.

Анализ гибрида Зарница x Зорка и его родительских форм (рис. 2 А) выявил отличия по составу и интенсивности белковых полос. Гибрид характеризовался интенсивной экспрессией белков, расположенных в области молекулярных масс от 60,0 кД до 12,0 кД. По количественному составу гибрид отличался наличием 22 белковых зон, в то время как материнская форма – Зарница имеет 20 белковых зон, а отцовская – Зорка только 17. В полипептидных спектрах сорта Зорка не обнаружены высокомолекулярные полипептиды в области Мм 119-110,0 кД, однако эти полипептиды выявлены как у гибрида, так и у сорта Зарница. Также у гибрида имеются полипептидные спектры в области средне- и низкомолекулярных масс, которые не выявлены у родительских формах. Такая же картина по полипептидным спектрам наблюдается и у гибрида Зорка x Зарница.

Электрофоретическое исследование легко растворимых белков гибрида Высокогорная x Западная показало, что гибрид и материнская форма Высокогорная имеют одинаковое количество белковых компонентов, отличия наблюдаются только по интенсивности полипептидных полос (рис. 2Б). У отцовской формы – Западная в полипептидном спектре наблюдается один высоко-, два средне- и 4 низкомолекулярных полипепти-

да, которые не наблюдаются у гибрида и у овсяницы луговой – Высокогорная. Однако площадь пика полипептида с молекулярной массой 12,0 кД у гибрида и у сорта Высокогорная в 3,2 и в 3,0 раза соответственно, превышает площадь пика этого полипептида у отцовской формы сорта – Западная. Следует отметить, что по остальным белковым компонентам у овсяницы тростниковой сорта Западная уровень экспрессии выше, чем у гибрида и овсяницы луговой сорта Высокогорная.

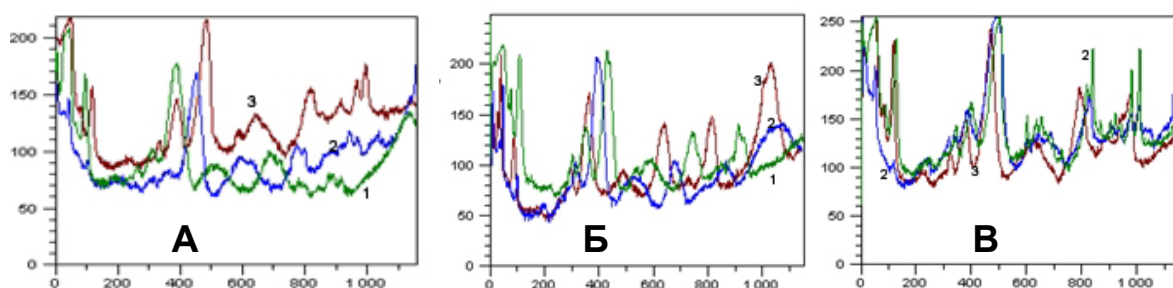


Рис. 2. Денситограммы электрофоретического разделения легкорастворимых белков: А – 1. о.т.Зарница; 2. о.л.Зорка; 3. отдаленный гибрид о.т.Зарница X о.л.Зорка. Б – 1. о.т.Зарница; 2. о.л.Высокогорная; 3. отдаленный гибрид о.л.Высокогорная X о.т.Зарница. В – 1. о.т.Западная; 2. о.л. высокогорная; 3. отдаленный гибрид о.т.Западная X о.л.Высокогорная.

При электрофоретическом разделении легкорастворимых белков отдаленного гибрида Западная x Высокогорная и его родительских форм (рис. 2В) выявлена схожесть в полипептидных спектрах, однако незначительные отличия имеют место. Гибрид и материнская форма овсяница тростниковая сорт Западная имеют одинаковое количество полипептидных зон, которые по уровню экспрессии и по площади пика основных белковых компонентов полностью идентичны. Но в спектрах электрофоретического разделения отцовской формы овсяницы луговой сорта Высокогорная имеются два высокомолекулярных полипептида в области молекулярных масс выше 100 кД и три полипептида с молекулярной массой 82,3, 22,5, 19,8 кД, которые не встречаются у гибрида и у материнской формы.

В комбинации Высокогорная x Западная обнаружен полипептид с молекулярной массой 82,3 кД, который не встречается в реципрокных скрещиваниях.

Заключение. Полученные результаты исследований показали, что во всех комбинациях скрещиваний появляются рекомбинантные формы по таким признакам как площадь и жесткость листьев, высота растений, семенная продуктивность, скорость отрастания и другим показателям.

Белковые спектры легкорастворимых белков из листьев отдаленных гибридов и их родительских форм полиморфны и позволяют дифферен-

цировать гибриды и родительские формы. Отдельные гибриды имеют свои специфические белковые компоненты, которые не выявлены у родительских форм. У некоторых отдаленных гибридов наблюдается идентичность, как по количественному полипептидному составу, так и по уровню экспрессии белка с одной из родительских форм. Выявлено несколько гибридов, которые полностью повторяют белковый спектр обоих родительских форм. Результаты анализа показали так же, что содержание белка у некоторых гибридов выше, чем у родительских форм.

Полученные гибриды являются ценным исходным и селекционным материалом для дальнейших исследований в области создания сортов кормовых трав для сенокосных и пастбищных травостоев.