

БАТУРИН С.О.,<sup>1</sup> АМБРОС Е.В.,<sup>2</sup> КУЗНЕЦОВА Л.Л.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН,

Россия, 630090, Новосибирск, пр-т Лаврентьева, 10, e-mail: SO\_baturin@mail.ru

<sup>2</sup>Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, Россия, 630090, г.

Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101

<sup>3</sup>Новосибирский государственный аграрный университет, Россия, 630039,

Новосибирск, ул. Добролюбова, 160

## МАТРОКЛИННОЕ НАСЛЕДОВАНИЕ ПРИ СКРЕЩИВАНИЯХ *FRAGARIA* × *POTENTILLA*

Межродовые скрещивания *Fragaria* × *Potentilla* проводились многими исследователями как с теоретической целью — выяснения филогенетических связей между двумя очень похожими родами, так и практической — интрогрессии ценных признаков представителей рода *Potentilla* в генофонд крупноплодной земляники *Fragaria* × *ananassa* Duch. ( $2n=8x=56$ ). Большинство опытов по межродовой гибридизации имели успех лишь в том случае, если в качестве материнской формы были использованы представители рода *Fragaria*, и только в скрещивании *Potentilla* (*Duchesnea*) *indica* ( $8x$ ) × *Fragaria* × *ananassa* ( $8x$ ) авторы у 40 семян по морфологическим и молекулярным маркерам предположили гибридную природу (Marta et al., 2004). Образцы диплоидной лесной земляники *Fragaria vesca* при гибридизации с различными видами *Potentilla* дают сублетальные гибриды (Mangelsdorf, East, 1927; Jones, 1955; Ellis, 1962; Asker, 1971). При использовании тетраплоидного образца *F. vesca* в скрещиваниях с *Potentilla fruticosa* ( $2n=14$ ) образуются триплоидные нецветущие гибриды, а с *Potentilla* (*Comarum*) *palustris* семена не завязываются (Ellis, 1962). Успешными оказались опыты по межродовой гибридизации с участием гексаплоидного вида *F. moschata* ( $2n=42$ ). Так, S. Asker (1970) и W.H. MacFarlane Smith и J.K. Jones (1985), используя в качестве отцовского родителя *P. fruticosa* ( $2n=14$ ), получили белоцветковые, но стерильные  $4x$  гибриды, которые фенотипически были подобны материнской форме.

Подавляющее количество скрещиваний было проведено с использованием в качестве материнских форм различных октоплоидных образцов *Fragaria* и *ananassa* ( $2n=56$ ). Причем полученные сеянцы, как правило, были двух типов — матроморфные (агамоспермного происхождения) с  $2n=28, 56$  (Asker, 1971; Barrientos, Bringham, 1973; Jelenkovic et al., 1984) и ожидаемые гибриды. Однако межродовые гибриды были получены лишь в комбинациях, где в качестве опылителя использовались  $2x$  образцы *Potentilla fruticosa* и  $6x$  образцы *Potentilla palustris*. В комбинации скрещивания *F. ananassa* × *P. fruticosa* полученные гибриды были *Fragaria*-типа, имели ожидаемое число хромосом  $2n=35$ , полную стерильность и бледно-желтую либо белую окраску венчика цветка (Harland, 1957, цит. по Asker, 1971; Ellis, 1962; Jelenkovic et al., 1984; Niemirowicz-Szczytt, 1984; Sayegh, Hennerty, 1993). Особо следует отметить результаты скрещивания *F. ananassa* × *P. palustris*

(Ellis, 1962). Автору удалось получить 50 доживших до цветения гибридных сеянцев с  $2n=49$ . Гибриды по внешним признакам больше соответствовали *Fragaria*. Большинство растений были безусыми. Окраска лепестков цветка у гибридов была розовой — промежуточной между окраской венчика исходных видов. Практически все цветки были полностью мужскостерильные, и лишь некоторые проявили слабую степень женской фертильности, поскольку после опыления пылью земляники смогли образовать плоды с 3–5 семянками. В результате обработки (7х) гибридов колхицином было получено несколько растений с  $2n=98$  с улучшенной фертильностью. На этих растениях развивались мелкие плоды с полноценными семянками. В дальнейшем J.R. Ellis были проведены бэккроссы с *F. ananassa*, которые позволили получить гибриды с более низким числом хромосом. Из них выделены первые зарегистрированные сорта Pink Panda (синоним “Frel”) и Serenata ( $2n=58$ ). Таким образом, лишь межродовые гибриды, полученные J.R. Ellis (1962), благодаря матроклинному эффекту и частичной фертильности, получили дальнейшее применение в селекции при создании сортов двойного назначения — декоративно-ягодного. Цель данного исследования — оценить характер наследования признаков в семенных потомствах от скрещиваний *F. × ananassa* (8х) × *P. anserina* (4х) и *F. × ananassa* (8х) × *P. nepalensis* (6х).

#### **Материал и методы исследования**

В эксперименте в качестве материнских форм *Fragaria × ananassa* ( $2n=8х=56$ ) использованы гибриды №Л-1-15-1, №96/10-78-4 и №7-29 из коллекции земляник лаборатории популяционной генетики растений ИЦиГ СО РАН. Эти гибриды имеют пестичный тип цветков и не требуют кастрации, что существенно упрощает процесс гибридизации. В качестве опылителей использовали местный экотип *Potentilla anserina* L. ( $2n=4х=28$ ) и сеянцы *Potentilla nepalensis* Hook. ( $2n=6х=42$ ), выращенные из семян, приобретенных в розничной торговле. Скрещивания образцов проводили в условиях экспериментального участка. До и после опыления цветения помещали в изолятор из прозрачного упаковочного целлофана. Опыление проводили однократно при помощи мягкой кисточки. Семена, полученные от скрещивания с *P. anserina* проращивали в земляной смеси и затем сеянцы выращивали на обычном агрофоне.

Семена от скрещивания с *P. nepalensis* проращивали на питательной среде МС (Murashige, Skoog, 1962). Для получения асептических всходов семена обрабатывали 70%-ным спиртом в течение 5 мин, стерилизовали 30%-ным раствором перекиси водорода в течение 15 мин, с последующим четырехкратным промыванием в стерильной дистиллированной воде. В условиях ламинарного бокса у стерилизованных семян при помощи биноклярного микроскопа МПС-1 отрезали микропилярную часть семени до рубчика. Разрезанные семянки, содержащие рубчик, высевали для проращивания на безгормональную среду МС с половинным содержанием минеральных солей и органических добавок, количеством сахарозы 2%. Разрезанные семена начинали прорасти на 5–7 день после посева. Проростки доращи-

вали от стадии первого настоящего листа до 4-х настоящих листьев на среде МС без регуляторов роста.

Для индукции побегообразования растения-регенеранты высаживали на среды МС, дополненные регуляторами роста: 6-безиламинопуринном (БАП),  $\alpha$ -нафтилуксусной кислотой (НУК), 6-фурфуриламинопуринном (кинетином — Кн). Регуляторы роста вносили в среду для культивирования в следующих комбинациях: 0,25 мг/л БАП; 0,5 мг/л БАП; 0,93 мг/л НУК и 1,14 мг/л БАП; 1,5 мг/л БАП и 0,5 мг/л Кн. Культивирование проводили в условиях 16-ти часового фотопериода, при температуре днем 23–25 °С, ночью 16–18 °С, освещенности 4 клк.

### Результаты и обсуждение

Многолетние исследования по гибридизации *F. × ananassa* (8x) × *P. anserina* (4x) нами проводятся с целью получения 8x агамоспермного потомства и изучения в этом потомстве характера генетической изменчивости (Baturin, Ambros, 1999). Межродовые гибриды в семенных потомствах *F. × ananassa* при таких скрещиваниях, как правило, отсутствуют, что делает межродовую гибридизацию удобным методом получения 8x агамоспермных потомков. Однако при использовании одной из материнских форм *F. × ananassa* — гибрида №Л-1-15-1 в скрещиваниях с *P. anserina*, наряду с матроморфными потомками с  $2n=56$  был получен сеянец №85-4, который фенотипически несколько отличался от *F. × ananassa* по видовым признакам, хотя в целом имел признаки *Fragaria*-типа. Подсчет чисел хромосом в клетках корневой меристемы этого сеянца показал  $2n=6x=42$  — промежуточное число хромосом между скрещиваемыми родительскими формами. У гибрида окраска венчика белая, образование усов обильное. Андроей и гинецей полностью редуцированы. Фенологические фазы гибрида совпадают с таковыми у *F. × ananassa*. Таким образом, по основным биоморфологическим признакам (тройчатый лист, габитус, тип цветоноса, строение цветка и др.) образец №85-4, имея межродовую природу происхождения, по внешним признакам близок к представителям рода *Fragaria*, т.е. проявляет матроклиный эффект в наследовании признаков. Ранее в скрещиваниях *F. × ananassa* × *P. anserina* удавалось получать лишь 8x матроморфные агамоспермные сеянцы (Asker, 1971; Jelenkovic et al., 1984) и единичные 4x сеянцы (Barrington, Bringham, 1973).

С 2009 года нами начата работа по гибридизации *F. × ananassa* (8x) с *P. nepalensis* (6x) и *P. sanguinea* (8x). Скрещивания *F. × ananassa* (8x) × *P. sanguinea* оказались безрезультатными, в 26 опыленных цветках семянки не развились. Тем не менее, в скрещиваниях *F. × ananassa* × *P. nepalensis* получены полноценные плоды и семена из 43 опыленных цветков. Завязываемость плодов составила у материнских форм *F. × ananassa* — гибрида №96/10-78-4 — 54,8%, а у гибрида №7-29 — 100%. Всего заложено на проращивание 223 семянки. Всхожесть семян, развившихся на плодах гибрида №96/10-78-4 составила 20,4%, а гибрида №7-29 — 70,4%. На ювенильной стадии большая часть всходов погибла. Причем выделяются две критические стадии

развития проростков на которых происходит их гибель — стадия семядолей и 3–4 настоящих листочков. В итоге получено 5 семян гибрида №7-29 и 4 семеница из семян гибрида №96/10-78-4. Полученные сеянцы распределились на два класса: 3 матроморфных сеянца с  $2n=56$  — и 6 предполагаемых межродовых гибридов. Последние выглядят иначе, чем матроморфные сеянцы. Они имеют более выраженную антоциановую окраску черешка листа, вытянутые доли листовой пластинки с более многочисленными зубцами, отстоящее опушение черешков листа, хотя в целом соответствуют признакам *Fragaria*. В настоящий момент сеянцы растут в культуре *in vitro*. В дальнейшем они будут адаптированы к условиям выращивания в открытом грунте, где и будет окончательно подсчитано число хромосом в клетках корневой меристемы.

Из опубликованных сведений по гибридизации *Fragaria* × *Potentilla* использование в качестве опылителя *P. anserina* не дало положительного результата в получении межродовых гибридов (Jones, 1955; Asker, 1971; Barrientos, Bringham, 1973; Jelenkovic et al., 1984). Нам в скрещивании *F. ananassa* × *P. anserina* удалось получить межродовой гибриды с высокой зимо- и засухоустойчивостью, легко клонируемый благодаря высокой побегообразовательной способности, при этом полностью стерильный. Его фенотип соответствует родовым признакам *Fragaria*, свидетельствуя о матроклинном наследовании в данной комбинации скрещивания. Такое же наследование мы наблюдаем у предполагаемых гибридов в комбинации скрещивания *F. ananassa* × *P. nepalensis*.

Таким образом, результаты наших экспериментов по гибридизации *Fragaria* × *Potentilla* вполне согласуются с полученными ранее сведениями (Smith, Jones, 1985; Sayegh, Hennerty, 1993; Marta et al., 2004). Выраженная летальность и сублетальность всходов в комбинации скрещивания *F. ananassa* × *P. nepalensis* была отмечена в одной из первых работ по гибридизации *Fragaria* × *Potentilla* (Mangelsdorf, East, 1927). Использование современных питательных сред открывает перспективы сохранения проростков межродового происхождения для дальнейшего изучения их наследственности. В целом следует отметить, что при гибридизации *Fragaria* × *Potentilla* у гибридов  $F_1$  реализуется матроклиния, т.е. межродовые гибриды гораздо в большей степени несут признаки генома *Fragaria*, чем генома *Potentilla*.

#### Литература

1. Baturin S.O., Ambros E.V. The use of intergeneric crosses in strawberry breeding // Materials of the 7th Intern. Conf. Lednice, Czech Republic. — 1999. — P. 13–17.
2. Barrientos F., Bringham R. S. A haploid of an octoploid strawberry cultivar // HortScience. — 1973. — Vol.8. — P. 44.
3. Asker S. Some viewpoints on *Fragaria* × *Potentilla* intergeneric hybridization // Hereditas. — 1971, №67. — P. 181–190.
4. Ellis J.R. *Fragaria-Potentilla* intergeneric hybridization and evolution in *Fragaria* // Proc. Linnean Society of London. — 1962. — V.173. — P. 99–106.
5. Harland S. C. Cytogenetical investigations on soft fruits. — Progr. Rep. for the period ending 31 May 1957, Univ. Manchester, Dep. Bot., A.R.C. — 57. — 1957. — P. 347.

6. Jelenkovic G., Wilson M.L., Harding P.J. An evaluation of intergeneric hybridization of *Fragaria* spp. × *Potentilla* spp. as a means of haploid production // *Euphytica*.— 1984.— 33.— P. 143–152.
7. Jones J.K. Cytogenetic Studies in the Genera *Fragaria* and *Potentilla*.— Ph. D. thesis.— University of Manchester, UK.— 1955.
8. Mangelsdorf A.J., East E.M. Studies on the genetics of *Fragaria* // *Genetics*.— 1927.— 12.— P. 307–339.
9. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol Plant*.— 1962.— 15.— P. 473–497.
10. Niemirowicz-Szczytt K. Morphological and cytological evaluation of progeny obtained from pollination of *Fragaria x ananassa* Duch. with *Potentilla* ssp. // *Acta Soc. Bot. Pol.*— 1984.— Vol.53.— №4.— P. 455–468.
11. Marta A., Camadro E., Dnaz-Ricci J., Castagnaro A. Breeding barriers between the cultivated strawberry *Fragaria Chananassa* and related wild germplasm // *Euphytica*.— Vol.136.— №2.— 2004.— P. 139–150.
12. Sayegh A., Hennerty M. Intergeneric hybrids of *Fragaria* and *Potentilla* // *Acta Horticult.*— 1993.— 348.— P. 151–153.
13. Smith M., Jones J.K. Intergeneric crosses with *Fragaria* and *Potentilla*. I. Crosses between *Fragaria moschata* and *Potentilla fruticosa* // *Euphytica*.— 1985.— 34.— P. 725–735.

#### **Резюме**

В результате межродовой гибридизации *Fragaria* × *Potentilla* получен один гибрид в комбинации скрещивания *F. x ananassa* (8x) × *P. anserina* (4x) и шесть предполагаемых гибридов в комбинации скрещивания *F. x ananassa* (8x) × *P. nepalensis* (6x). По фенотипу межродовые гибриды гораздо в большей степени сходны с *Fragaria*, чем с *Potentilla*.

A *Fragaria x ananassa* (8x) × *P. anserina* (4x) hybrid and six putative *F. ananassa* (8x) × *P. nepalensis* (6x) hybrids were obtained as a result of intergeneric *Fragaria* × *Potentilla* crosses. The bigeneric hybrids show mostly *Fragaria*-like characteristics.

#### **ВИШНЕВСКАЯ Н.А., ФЕОКТИСТОВА А.С., СТРУННИКОВА О.К.**

ГНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии,  
Россия, Санкт-Петербург, ш. Подбельского, д. 3.  
e-mail: Strunnikova@arriam.spb.ru

#### **КОЛОНИЗАЦИЯ КОРНЕЙ ЯЧМЕНЯ АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ БАКТЕРИЕЙ *PSEUDOMONAS FLUORESCENS***

Применение антагонистических бактерий для снижения заболеваемости растений почвообитающими патогенами в настоящее время является одним из перспективных направлений защиты растений от болезней, вызываемых почвообитающими фитопатогенными грибами. Хорошо известны такие механизмы подавления фитопатогенов антагонистическими бактериями как: