

УДК: 575.222.73:631.527.5

МОРФОБИОЛОГИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГИБРИДОВ *A. SATIVA* × *A. STERILIS* В СВЯЗИ С СЕЛЕКЦИЕЙ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К БОЛЕЗНЯМ

*Н.И. Дубовец, доктор биологических наук, доцент,
тел. +375(17)2841945, e-mail: N.I.Dubovets@igc.by*

*Е.А. Сычева, кандидат биологических наук,
тел. +375(17)2841848, E.Sycheva@igc.by*

Н.И. Дробот

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси

*А.Г. Власов, кандидат сельскохозяйственных наук,
тел. +375(1775)32411, izis-oves@yandex.by*

*С.П. Халецкий, кандидат сельскохозяйственных наук,
тел. +375(1775)32411, izis-oves@yandex.by*

Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию

Ключевые слова: *Avena sativa* L., *Avena sterilis* L., отдаленная гибридизация, устойчивость к болезням, SSR-маркеры.

Проведен анализ наследования ряда морфологических признаков, а также устойчивости к листовым болезням и полиморфизма по 6 SSR-локусам у образцов *Avena sativa* L., *Avena sterilis* L. и их межвидовых гибридов F_1 - F_2 . Выявлены высокоинформативные (PIC от 0,57 до 0,89) SSR-маркеры (AM1 AM3, AM4 и AM7), которые могут быть использованы для дифференциации генетически близких генотипов овса. Отобраны генотипы, предпочтительные для дальнейшей селекционной работы.

Введение. Овес (*Avena sativa* L.) - одна из важнейших зерновых культур мира, занимающая по сумме посевных площадей пятое место после пшеницы, риса, кукурузы и ячменя. Значительный ущерб урожаю и качеству продукции этой культуры наносят вредители и болезни. Среди болезней наиболее вредоносными являются корончатая и стеблевая ржавчина, в последние годы широкое распространение получила также красно-бурая пятнистость. В связи с этим одной из важнейших задач в селекции культуры является создание устойчивых сортов, в том числе с использованием межвидовой гибридизации с дикорастущими видами овса. Особый интерес представляет включение в селекционную работу диких гексаплоидных видов, имеющих аналогичную *A. sativa* геномную

структуру (AACDD), что гарантирует получение в скрещиваниях фертильных гибридных форм [1].

В статье представлены результаты морфобиологической и молекулярно-генетической оценки исходных родительских форм (сорта *Avena sativa* L. и образцы *Avena sterilis* L.) и созданных на их основе межвидовых гибридов в связи с отбором наиболее перспективных генотипов для использования в селекции на устойчивость к болезням.

Материалы и методы исследований. Материалом для исследований служили 15 сортов овса посевного *Avena sativa* L. и 12 образцов *Avena sterilis* L. – источников устойчивости к корончатой и стеблевой ржавчине из мировой коллекции ВИР, и полученные на основе скороспелых сортов отдаленные гибриды *A. sativa* × *A. sterilis*. Устойчивость к болезням оценивали по 9-ти бальной шкале. Выделение геномной ДНК осуществляли из зеленых листьев с использованием набора «Plant DNA Preparation Kit» PP-207s производства «Jena Bioscience». Определение генетического полиморфизма коллекции проводили с помощью комплекта SSR-маркеров: *AM1*, *AM3*, *AM4*, *AM5*, *AM7*, *AM15* [2]. Общий уровень качества прохождения реакции оценивали разделением продуктов реакции электрофорезом в 1,5% агарозном геле в 1×TAE буфере в течение 60 минут при напряжении 80В. Определение генетического полиморфизма коллекции осуществляли с помощью стандартного фрагментного анализа при помощи генетического анализатора ABI 3500.

Результаты исследований и их обсуждение.

Наследование морфологических признаков зерна у гибридов от скрещивания A. sativa × A. sterilis.

Как известно, *A. sterilis* обладает рядом морфологических признаков (наличие подковки у нижнего зерна, грубые ости, сильное опущение основания первого зерна и наружной цветковой чешуи), нежелательных для передачи в сорта овса. Наследованию этих признаков в гибридном материале было уделено особое внимание.

Все образцы *A. sterilis*, использованные в качестве отцовских форм, характеризовались наличием подковки у основания первой зерновки, что обуславливает осыпание колосков. У образцов *A. sativa* (материнская форма) наблюдалось отделение первого зерна путем обламывания. Такой тип отделения, называемый «культурным», доминировал у гибридов F_1 , в то время как у гибридов F_2 наблюдалось расщепление по данному признаку (таблица 1).

Отсутствие ярко выраженной подковки отмечено у гибридов 6 комбинаций скрещивания из 14 проанализированных, при этом пре-

Таблица 1 - Морфологический анализ по признаку «подковка» у гибридов F_2 *A. sativa* × *A. sterilis*

♀ <i>A. sativa</i>	зерновки F_2 , соотношение			♂ <i>A. sterilis</i>
	отсутствует	промежуточная	присутствует	
Айвори	1	2	1	CAV 1975
Sprinter	1	3	0	CAV 1360
Sprinter	1	3	0	CAV 1414
Sprinter	19	1	0	ME 1083
Sprinter	1	2	1	CI 8081
Stoper	1	2	1	CAV 1414
Gagybatori K.H.	1	2	1	CAV 1360
Gagybatori K.H.	1	2	1	CI 8081
AC Goslin	1	2	1	CAV 1975
AC Francis	1	2	1	CAV 1414
AC Francis	1	2	1	CAV 1975
AC Francis	1	3	0	CI 8081
Айвори × Stoper	1	3	0	CAV 1360
Айвори × Stoper	1	3	0	CAV 1414

обладали растения с промежуточным характером наследования признака, у которых подковка была малых размеров, или просматривалась только под увеличительным стеклом. Наличием ярко выраженной подковки характеризовались 8 гибридных комбинаций F_2 .

У всех образцов *A. sterilis* у первого и второго зерна в колоске формировались коленчатые, сильно закрученные в нижней части грубые ости, тогда как у овса посевного они отсутствовали. У гибридов F_1 наследование этого признака было промежуточным. У первого зерна интенсивность развития остей (размер, жесткость, степень закрученности основания) была в два раза ниже, а у вторых зерен ости отсутствовали. У гибридов F_2 вариабельность признака увеличилась. Максимальное проявление остистости у первых зерен выявлено у гибридов Айвори × CAV 1975 и Sprinter × ME 1083, минимальное – у гибрида AC Francis × CI 8081, что делает его предпочтительным для использования в селекционной работе. В 7 гибридных комбинациях в колосках у второго зерна отмечено формирование слабоколенчатой короткой ости.

У включенных в исследование образцов овса посевного зерновки были без опушения, в то время как у образцов *A. sterilis* отмечено сильное опушение у основания первого и второго зерна. У гибридных зерновок F_1 интенсивность опушения была от средней до сильной у первой зерновки, слабой или опушение отсутствовало у второй зерновки. В гибридных популяциях F_2 доминировали зерновки с интенсивным опушением наружной цветковой чешуи. У гибридных комбинаций Айвори × CAV 1975, Stoper × CAV 1414 степень опушения варьировала от слабой до интенсивной. В гибридной комбинации Sprinter × ME 1083 отмечены зерновки у которых опушение наружной чешуи отсутствует.

Оценка устойчивости к листовым болезням гибридов F_2 *A. sativa* × *A. sterilis* и их родительских форм

В условиях естественного инфекционного фона проведена оценка устойчивости к красно-бурой пятнистости и корончатой ржавчине межвидовых гибридов F_2 и их родительских форм (таблица 2).

Установлено, что материнские формы (*A. sativa*) AC Francis, AC Goslin, Sprinter были восприимчивы к красно-бурой пятнистости, сорт стандарт Запавет показал умеренную устойчивость, сорт Фристайл – умеренную восприимчивость, тогда как исходная комбинация Айвори × Stoper обладала устойчивостью на уровне 7 баллов. Отцовские формы (*A. sterilis*) характеризовались устойчивостью к данному заболеванию (7 баллов). Как видно из данных таблицы 3, межвидовые гибриды были в основном умеренно устойчивы к красно-бурой пятнистости (5 баллов). Устойчивостью на уровне 7 баллов обладали гибридные формы Sprinter × CI 8081, Stoper × CAV 1414, AC Francis × CAV 1414, (Айвори × Stoper) × CAV 1360.

Ввиду депрессивного развития корончатой ржавчины в посевах оценка устойчивости форм овса к ней была в некоторой степени субъективной. Среди материнских форм восприимчивыми были Stoper, Айвори и Айвори × Stoper. По оценке «умеренно устойчивый» выделились AC Francis, AC Goslin, Gagybatori K.H., Sprinter. Все отцовские формы продемонстрировали умеренную устойчивость. Межвидовые гибриды в основном были устойчивы или высоко устойчивы к корончатой ржавчине. В гибридных комбинациях Sprinter × CAV 1360, AC Francis × CAV 1414, AC Francis × CAV 1975 и (Айвори × Stoper) × CAV 1360 признаков поражения этой болезнью не выявлено.

Анализ полиморфизма микросателлитных локусов у сортов *A. sativa*, образцов *A. sterilis* и их межвидовых гибридов

В результате ДНК-типирования рабочей коллекции выявлено 42 аллеля в шести SSR-локусах. Количество аллелей варьировало от 2 до

Таблица 2 - Устойчивость к болезням межвидовых гибридов F₂ *A. sativa* × *A. sterilis* и их родительских форм

Генотип	Листовые болезни, балл	
	красно-бурая пятнистость	корончатая ржавчина
Межвидовые гибриды F ₂ ♀ <i>A. sativa</i> L × ♂ <i>A. sterilis</i>		
Айвори × CAV 1975	5	7
Sprinter × CAV 1360	5	9
Sprinter × CAV 1414	5	7
Sprinter × ME 1083	5	5
Sprinter × CI 8081	7	7
Stoper × CAV 1414	7	7
Gagybatori K.H. × CAV 1360	5	7
Gagybatori K.H. × CI 8081	5	7
AC Goslin × CAV 1975	5	7
AC Francis × CAV 1414	7	9
AC Francis × CAV 1975	5	9
AC Francis × CI 8081	5	7
(Айвори × Stoper) × CAV 1360	7	9
(Айвори × Stoper) × CAV 1414	5	5
Материнские формы ♀ <i>A. sativa</i>		
Запавет (стандарт 1)	5	3
Фристайл (стандарт 2)	3	3
AC Francis	1	5
AC Goslin	1	5
Gagybatori K.H.	3	5
Stoper	3	1
Sprinter	1	5
Айвори	3	1
Айвори × Stoper	7	1
Отцовские формы ♂ <i>A. sterilis</i>		
ME 1083	7	5
CAV 1360	7	5
CAV 1414	7	5
CAV 1975	7	5
CI 8081	7	5

Таблица 3 - Характеристика исследуемых SSR- локусов

SSR-маркер	Кол-во аллелей	Факт. размер, п.о.	Теор. ожид. размер, п.о.	Частота встречаемости	PIС	MI
AM1	9	152-213	157-225	0,07-0,25	0,88	1,69
AM3	9	257-316	243-325	0,06-0,1	0,89	2,11
AM4	7	129-150	133-227	0,08-0,21	0,83	0,96
AM5	2	131-134	172	0,1-0,8	0,2	0,02
AM7	10	149-191	155-198	0,06-0,23	0,87	2,067
AM15	4	223-229	229	0,1-0,6	0,57	0,219

Таблица 4 - Количество аллелей SSR- локусов у образцов *Avena sativa* L. и *Avena sterilis* L. и их межвидовых гибридов

Образцы	Количество аллелей SSR- локусов					
	AM1	AM3	AM4	AM5	AM7	AM15
Сорта <i>A. sativa</i> белорусской селекции	3	5	2	4	4	4
Сорта <i>A. sativa</i> иностранной селекции	6	4	3	1	5	2
Образцы <i>A. sterilis</i>	6	9	4	1	5	4
Гибриды <i>A. sativa</i> / <i>A. sterilis</i>	8	7	3	1	4	2

10 и составило в среднем 6,8 на один локус (таблица 3). Фактический размер фрагментов соотносился с теоретически ожидаемым за исключением локуса AM5. Частота встречаемости аллелей в анализируемой выборке варьировала от 0,06 до 0,8, при этом индекс информативности (PIС, polymorphism information content) ранжировался от 0,2 (AM5) до 0,89 (AM3), маркерный индекс (MI, marker index) – от 0,02 до 2,11. Необходимо отметить, что для локусов с числом аллелей больше 5 – AM1 AM3, AM4 и AM7 индекс информативности был достаточно высоким (> 0,5), что позволяет рекомендовать данные SSR-маркеры для дифференциации генетически близких генотипов овса (таблица 4). В то же время локусы AM5 и AM15 характеризовались невысоким полиморфизмом и минимальным числом аллелей, что делает их использование для изучения генетического разнообразия неэффективным.

Заключение. Изучены особенности морфологии у образцов *A. sterilis* по сравнению с сортами *A. sativa* и характер их наследования

у межвидовых гибридов $F_1 - F_2$. Установлено, что наибольшую селекционную ценность представляет комбинация скрещивания Sprinter × ME 1083, гибридные растения которой несут минимальное количество «диких» морфологических признаков овса. Показано, что межвидовые гибриды *A. sativa* × *A. sterilis* в основном умеренно устойчивы к краснобурой пятнистости (5 баллов), а также характеризуются устойчивостью (7 баллов) или высокой устойчивостью (9 баллов) к корончатой ржавчине. В результате ДНК-типирования образцов *Avena sativa* L., *Avena sterilis* L. и их межвидовых гибридов выявлены высокоинформативные (PIC от 0,57 до 0,89) SSR-маркеры (AM1 AM3, AM4 и AM7), которые могут быть использованы для дифференциации генетически близких генотипов овса.

Библиографический список

1. Лоскутов, И. Г. Дикорастущие виды овса – источник ценных для селекции генов / И. Г. Лоскутов. – СПб: ВИР. 2005. – 823-830 с.
2. Li, C.D. The development of oat microsatellite markers and their use in identifying relationships among *Avena species* and oat cultivars / C.D. Li, B.G. Rosnagel, G.J. Scoles // Theor. Appl. Genet. – 2000. – Vol.101, №8 – P. 1259-1268.

MORPHOBIOLOGICAL AND MOLECULAR-GENETIC CHARACTERS OF SATIVA × A. STERILIS HYBRIDS IN BREEDING FOR DISEASE RESISTANCE

Dubovets N.I., Sycheva Y.A., Drobot N.I., Vlasov A.G., Khaletsky S.P.

Key words: *Avena sativa* L., *Avena sterilis* L., distant hybridization, resistance to diseases, SSR-markers.

Analysis of heritance of a number of morphological characters and resistance to leaf diseases and polymorphism by 6 SSR-loci in the specimens of Avena sativa L., Avena sterilis L. and their interspecies F_1 - F_2 hybrids performed. Highly informative (PIC from 0.57 to 0.89) SSR-markers (AM1 AM3, AM4 and AM7) that can be used to differentiate genetically related oat genotypes identified. Preferential for further breeding genotypes selected.