

УДК 631.527.5:58.036.5:633.1:57.085.23

ПОЛУЧЕНИЕ ВЫСОКОМОРОЗОСТОЙКИХ ФОРМ ПШЕНИЧНО-ПЫРЕЙНЫХ ГИБРИДОВ

© 2012 г. **Е.П. Размахнин, Т.М. Размахнина, В.Е. Козлов, Е.И. Гордеева,
Н.П. Гончаров, Ю.Г. Галицын, С.Г. Вепрев, В.М. Чекуров**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия,
e-mail: eprazmakh@yandex.ru

Поступила в редакцию 18 ноября 2011 г. Принята к публикации 21 декабря 2011 г.

Разработана технология создания высокоморозостойких форм озимой мягкой пшеницы *Triticum aestivum*, основанная на передаче признака высокой морозостойкости пшенице от дикого ее сородича – пырея сизого *Agropyron glaucum*. Технология включает метод получения удвоенных гаплоидов пырея в культуре пыльников, метод отбора генотипов пырея с высокой способностью продуцировать зеленые гаплоиды *in vitro*, метод экспресс-анализа морозостойкости растений, отдаленную гибридизацию морозостойких генотипов пырея с пшеницей и оригинальный метод передачи морозостойкости от пырея пшенице с помощью «листовой няньки». В результате применения данной технологии создана уникальная коллекция андрогенных растений пырея сизого и получен обширный гибридный материал от различных комбинаций скрещивания между морозостойкими растениями пырея и различными сортами яровой и озимой пшеницы. Методом «листовой няньки» получены морозостойкие и высокопродуктивные ЛН-линии озимой пшеницы.

Ключевые слова: *Agropyron glaucum*, пырей сизый, пшеница мягкая, морозостойкость, андрогенез *in vitro*, отдаленная гибридизация, пшенично-пырейные гибриды, «листовая нянька».

Одним из перспективных направлений по созданию морозостойких сортов озимой пшеницы для регионов с экстремальными климатическими условиями является привлечение отдаленной гибридизации существующих сортов пшеницы с ее дикими сородичами, в частности, с разными видами пырея (Horovitz, 1969; Цицин, 1981; Размахнин, Чекуров, 2006). В Институте цитологии и генетики СО РАН такая работа ведется около 40 лет. Исходным материалом для получения морозостойких форм пшенично-пырейных гибридов (ППГ) послужила коллекция семян двух видов пырея *Agropyron glaucum* (Desf. ex DC) Roem. & Schult. (= syn. *Thinopyrum intermedium* (Host) Barkworth & D.R. Dewey) и *Agropyron elongatum* (Host) Nevishi (= syn. *Thinopyrum ponticum* (Podp.) Z.-W. Liu & R.-C. Wang), собранная В.М. Чекуровым и В.М. Шепелевым в 1971 г. в Восточном Казахстане в дикорастущей популяции этих видов, росшей на возвышенном и малоснежном месте. Такие жесткие условия произрастания

растений пырея обусловили, в первую очередь, наличие у них высокой морозостойкости. Пырей является перекрестноопыляющейся культурой и обладает высокой гетерозиготностью, поэтому для повышения эффективности гибридизации его с пшеницей потребовалось создание линейного материала. Сотрудниками ИЦиГ СО АН СССР А.М. Орловой и Н.П. Первушиным с помощью метода принудительного самоопыления к 1985 г. была создана коллекция из более чем 2 тыс. растений различной степени инбридинга до 5-го поколения включительно (Чекуров, Орлова, 1982; Орлова, 1988). В процессе получения инбредных растений пырея лучшие из них были скрещены с образцами озимой пшеницы для передачи гибридам от дикого сородича высокой устойчивости к неблагоприятным факторам среды. В итоге из некоторых гибридных форм были получены высокоморозостойкие сорта озимой пшеницы (Чекуров, Козлов, 2003). Таким образом, данный подход оказался результативным, но

для создания использованных в селекции инбредных линий пырея потребовались большие затраты сил и времени.

Разработка биотехнологии получения андрогенных линий пырея

Для того чтобы решить проблемы, связанные с получением инбредных линий пырея, в 1985 г. Е.П. Размахниным и С.В. Велиевым под руководством В.М. Чекурова в ИЦиГ СО АН СССР была начата разработка биотехнологического метода получения гомозиготных линий пырея в культуре пыльников (андрогенез *in vitro*). На первых этапах работы были испытаны индукционные и регенерационные среды, составленные по прописям, взятым из литературы. Углеводным компонентом в этих средах была сахароза. Было показано, что ее стандартная концентрация, 3 %, применяемая большинством исследователей для индукции андрогенеза пшеницы, ячменя и ряда других злаковых культур, недостаточна для его индукции у пырея (Размахнин, 2003). Оказалось, что у пырея, который в отличие от пшеницы является ветроопыляемой культурой, пыльца имеет более толстую и прочную оболочку, которая предохраняет ее от высыхания при переносе ветром. Для разрыва такой оболочки собственной силы индуцированным в процессе андрогенеза многоклеточным структурам недостаточно, и требуется дополнительная сила осмотического давления, обеспечиваемого высокой концентрацией сахарозы (9–10 %).

В дальнейшей работе, используя питательную среду с 10 %-й сахарозой в качестве индукционной, мы проанализировали на способность к андрогенезу *in vitro* выборку из 2 тыс. кроссбредных и инбредных растений пырея сизого из созданной лабораторной коллекции. Оказалось, что менее 1 % изученных растений были способны образовывать преимущественно зеленые гаплоидные андрогенные растения в культуре пыльников. Около 50 % растений продуцировали исключительно альбиносные гаплоиды и 10 % – преимущественно альбиносные гаплоиды с небольшим количеством зеленых. У пырея удлиненного было проанализировано несколько десятков генотипов, но ни в одном случае развитие зеленых гаплоидов не

наблюдалось (Размахнин и др., 1989; Размахнин, 2003).

Электронно-микроскопический анализ показал, что эмбриониды, из которых развиваются альбиносы, содержат хлоропласты с нарушениями в мембране. В процессе культивирования на искусственных средах такие хлоропласты постепенно разрушаются, обуславливая альбинизм у растений-регенерантов. Эмбриониды, из которых развиваются зеленые гаплоиды, содержат устойчивые к условиям культивирования хлоропласты с ненарушенной мембраной (Galieva *et al.*, 1993).

Дальнейшая работа велась по следующим направлениям: 1) совершенствование метода андрогенеза; 2) расширение коллекции генотипов пырея с высокой способностью к гаплопродукции андрогенных зеленых гаплоидов и создание коллекции гаплоидов и удвоенных гаплоидов пырея сизого.

1. Совершенствование метода андрогенеза. Было исследовано влияние следующих факторов на процессы индукции и регенерации андрогенных гаплоидов пырея в культуре пыльников: 1) различные компоненты в составе питательных сред; 2) микроволновое, ультрафиолетовое и рентгеновское излучение.

В результате было выявлено положительное влияние на выход андрогенных гаплоидов таких фитогормонов, как абсцизовая и гибберелловая кислоты, а также витаминов рибофлавина и никотиновой кислоты, биопрепарата «Новосил» и экстракта из листьев пырея (Razmakhnin, Chekurov, 2001; Чекуров и др., 2002; Размахнин и др., 2004; Чекуров, Размахнин, 2005; Razmakhnin *et al.*, 2010). Для каждого из этих веществ были подобраны эффективные концентрации. Изучение влияния на андрогенез углеводных компонентов среды (Razmakhnin *et al.*, 2010) позволило упростить известную китайскую среду Potato II (Chuang, Ouyang, 1978), часто используемую для индукции андрогенеза. Нами показано, что картофельный экстракт в этой среде может быть заменен дисахаридом мальтозой без потери эффективности (табл. 1).

В качестве эффективной среды для регенерации гаплоидов нами предложена среда оригинального состава с минимальным количеством минеральных солей, содержащая рибофлавин и экстракт листьев растений пырея, обладающих

Таблица 1

Влияние мальтозы и картофельного экстракта на андрогенез *in vitro* пырея сизого

Вариант индукционной среды	Изучено генотипов	Частота андрогенных генотипов, %	Частота пыльников с эмбриоидами, %	Частота генотипов, давших зеленые гаплоиды, %
Potato II +мальтоза	100	69	37	17
Potato II + мальтоза + картофельный экстракт 10 %	100	67	34	17

высокой способностью продуцировать зеленые гаплоиды (Razmakhnin *et al.*, 2010). В табл. 2 приведены данные, показывающие стимуляцию развития андрогенных структур экстрактом из листьев пырея.

Проведенные нами исследования влияния микроволнового, ультрафиолетового и рентгеновского излучения на процесс андрогенеза не показали существенного увеличения выхода андрогенных гаплоидов. В то же время были выявлены пороговые дозы этих излучений, ингибирующие развитие андрогенных структур (Razmakhnin *et al.*, 2010).

Полученные результаты показывают, что разработанная нами гаплоидная технология может быть с успехом использована, во-первых, для получения чистых андрогенных ли-

ний пырея и, во-вторых, для тестирования и отбора генотипов пырея с целью дальнейшего использования во внутривидовой и межвидовой гибридизации (Чекуров, Размахнин, 2003б; Razmakhnin, Chekurov, 2003).

В литературе дискутируется вопрос, какой метод предпочтительнее для создания чистых линий у перекрестноопыляющихся видов растений: инбридинг или гаплоидная технология? (Reinert, 1977; Ницше, Венцель, 1980; Sopory, 1983; Ockendon, 1986; Чекуров, Размахнин, 1999; Гончаров Н.П., Гончаров П.Л., 2009). Многое зависит от изучаемого объекта. Но для создания инбредных и к тому же не полностью чистых линий требуются годы, причем с увеличением глубины инбридинга растения теряют свой габитус из-за инбредной депрессии. Гаплоидная же технология позволяет получать предельно чистые линии за 1–2 года. Причем нами отмечен интересный факт увеличения габитуса удвоенных гаплоидов по сравнению с родительскими растениями (рис. 1). С нашей точки зрения гаплоидная технология и инбридинг должны взаимодополнять друг друга (Размахнин, Чекуров, 2006а).

2. Расширение коллекции генотипов пырея с высокой способностью к гаплопродукции андрогенных зеленых гаплоидов и создание коллекции гаплоидов и удвоенных гаплоидов пырея сизого. Для этой цели были использованы метод андрогенеза, внутривидовая гибридизация, получение потомства от перекрестного и самоопыления и клонирование (Размахнин, Чекуров, 2004; Размахнин, 2008).

Таблица 2

Влияние экстракта листьев пырея на регенерацию гаплоидов в культуре пыльников *A. glaucum*

Концентрация экстракта в регенерационной среде, %	Число изученных генотипов	Высажено эмбриоидов на регенерационную среду	Число зеленых растений-регенерантов	Средняя оценка зеленых растений-регенерантов*, $M \pm m$
0,008	32	123	8	$2,9 \pm 1,6$
0,04	32	123	7	$4,1 \pm 1,95$
0,2	32	123	8	$4,0 \pm 1,8$
1	32	123	11	$3,5 \pm 1,6$
5	32	123	21	$4,7 \pm 1,7$

* Растения в пробирках оценивали по 5-балльной шкале, в зависимости от габитуса. Так, растение высотой 1 см оценивали в 1 балл, а растение высотой 5 см и выше – в 5 баллов (Chekurov, Razmakhnin, 1999).

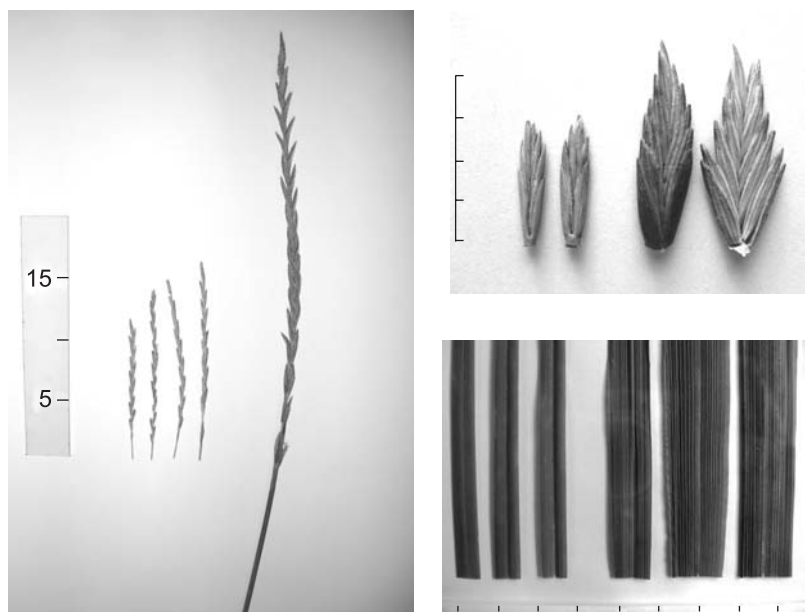


Рис. 1. Колосья, колоски и листья родительского растения *A. glaucum* (слева) и удвоенного гаплоида, полученного в культуре пыльников (справа).

К настоящему времени коллекция андрогенных линий и родительских растений пырея, выращиваемая в поле, составляет более 500 растений, и создана обширная коллекция семян пырея сизого. Ежегодно происходит ее пополнение.

Разработка метода отбора генотипов пырея по способности к андрогенезу *in vitro* для последующей гибридизации с пшеницей

Для оценки гибридизационной способности генотипов пырея, различающихся по способности к андрогенезу, мы провели скрещивания их с сортом озимой пшеницы Саратовца. Результаты гибридизации оценивали по таким параметрам, как «процент завязываемости гибридных зерен», «средняя масса одной зерновки», «процент прорастания семян» и введенному нами параметру «Р», равному произведению процента завязываемости на среднюю массу одной зерновки. Параметр Р удачно объединяет в себе качественную и количественную оценки урожая семян – чем больше его величина, тем удачнее гибридная комбинация. Данные, представленные в табл. 3, показывают, что генотипы пырея А, В, способные продуцировать зеленые андрогенные растения, проявили высокие гибридизационные свойства, оцененные по

параметру Р (Р = 400 и 350 соответственно) и по проценту прорастания гибридных зерновок (95 и 90 % соответственно). Гибриды озимой пшеницы с генотипами пырея S и F, не способные продуцировать зеленые гаплоиды, имели пониженное значение параметра Р (Р = 112 и Р = 0); семена этих гибридов не прорастали.

Нами было получено гибридное растение между продуцирующим исключительно зеленые гаплоиды генотипом пырея А и генотипом

Таблица 3

Характеристики отдаленной гибридизации с пшеницей у генотипов *A. glaucum* с различной способностью к андрогенезу *in vitro*

Генотип пырея	Количество эмбрионов, регенерировавших растения, %		Завязывание гибридных зерен, %	Прорастание гибридных зерен, %	Р
	альбиносы	зеленые			
А	0	100	34	95	401
В	0	10	20	90	350
S	0	0	14	0	112
F	20	0	0	0	0
А × S	0	0	14	0	58

S, не способным к андрогенезу. При опылении озимой пшеницы пыльцой этого гибрида были получены семена, которые не проросли. При этом значение параметра Р было в 7 раз меньше, чем у гибрида озимой пшеницы с генотипом пырея А (табл. 3).

Полученные результаты показывают, что андрогенез *in vitro* является методом, позволяющим эффективно тестировать генотипы пырея по их способности к андрогенному развитию зеленых гаплоидов (Размахнин, Чекуров, 2003а). Именно такие генотипы наиболее перспективны в качестве отцовского компонента скрещивания при отдаленной гибридизации пырея с пшеницей для получения ППГ.

Разработка метода экспресс-анализа морозостойкости растений пырея и пшеницы

Так как наиболее важным признаком, который нужно передать от пырея пшенице, является морозостойкость, желательно иметь простой и эффективный метод ее определения у анализируемых растений. Такой метод нами разработан и запатентован (Размахнин и др., 2009). Он заключается в промораживании фрагментов листьев злаков, наклеенных на скотч, в массивных пластинах в морозильной камере при постепенном понижении температуры с последующим окрашиванием резорцином. Метод удобен для анализа морозостойкости молодых проростков злаков на стадии 1–3 листьев. За один рабочий день можно проанализировать до 200 образцов, причем анализируемые растения после взятия у них на анализ фрагментов листьев продолжают свой рост и развитие и дают нормальное потомство в противовес широко распространенному методу промораживания растений целиком, в результате которого выжившие растения могут содержать повреждения, обусловленные длительным воздействием предельно низких температур.

С помощью такого метода экспресс-анализа морозостойкости мы протестировали большое количество гаплоидных и диплоидных растений пырея из созданной в ИЦиГ СО РАН коллекции, а также различные сорта озимой мягкой пшеницы. Были выявлены генотипы пырея с морозостойкостью, значительно превышающей

морозостойкость озимой пшеницы сортов Багратионовка и Новосибирская 32, которые являются рекорсменами по морозостойкости среди озимой пшеницы (Razmakhnin, 2010) и сортами-стандартами по морозостойкости на ГСУ страны.

На основании полученных результатов по вышеперечисленным направлениям исследований, можно заключить, что применение разработанных нами методов получения андрогенных растений пырея в культуре пыльников, тестирования растений пырея по способности к андрогенезу и по морозостойкости в сочетании с классическим методом инбридинга позволило создать обширную коллекцию андрогенных линий и родительских растений пырея сизого с ценными признаками, такими, как способность к гаплопродукции зеленых андрогенных растений, высокая морозостойкость, самофертильность, крупность зерновок, вегетативная мощь и хорошая скрещиваемость с пшеницей. Причем выявлены растения пырея, обладающие комплексным набором ценных признаков. Эти растения могут быть с успехом использованы в качестве доноров для передачи этих признаков пшенице, а также для создания кормовых сортов пырея.

Отдаленная гибридизация озимой и яровой пшеницы с лучшими образцами пырея из созданной коллекции

В 2008–2010 гг. были проведены скрещивания 20 лучших коллекционных образцов пырея с двумя сортами морозостойкой озимой пшеницы Багратионовка и Филатовка, созданными в лаборатории экспериментального мутагенеза ИЦиГ СО РАН, и пятью сортами яровой пшеницы Саратовская 29, Новосибирская 67, Омская 37, Казанская юбилейная и Новосибирская 20 с целью повышения морозостойкости и увеличения биоразнообразия у получаемых пшенично-пырейных гибридов. В результате было получено более 3000 семян ППГ первого, второго и третьего беккроссов с озимой и более 1000 семян ППГ первого и второго беккроссов с яровой пшеницей. Некоторые гибридные растения отличались увеличенными размерами колоса. В качестве примера на рис. 2 показаны колосья

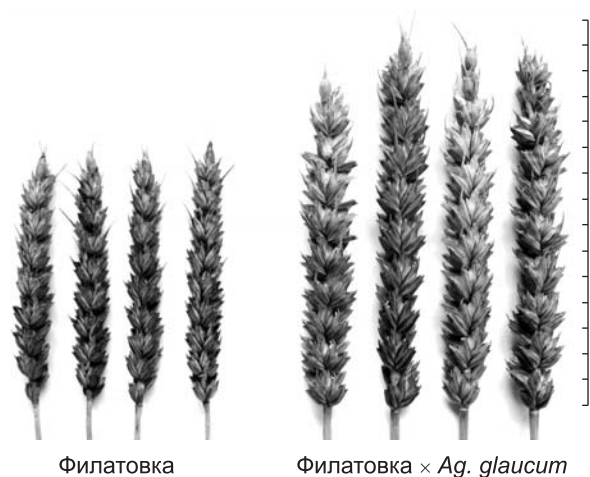


Рис. 2. Колосья озимой пшеницы Филатовка и пшенично-пырейного гибрида Филатовка $\times$ *Ag. glaucum* 3-го поколения после беккрасса.

сорта озимой пшеницы Филатовка и ее гибрида с пыреем. Полученные ППГ в настоящее время размножаются в поле и теплице. Для быстрого перевода гетерозиготных форм ППГ в стабильные линейные формы проводится работа по созданию удвоенных гаплоидов ППГ методом андрогенеза *in vitro*. Описанная технология позволяет, во-первых, целенаправленно получать высокоморозостойкие ППГ и, во-вторых, сократить сроки получения многочисленных линейных форм ППГ до 2–3 лет.

Исследование влияния экстракта из листьев и самих листьев андрогенных и морозостойких форм пырея на продуктивность и морозостойкость пшеницы

После обнаружения положительного воздействия экстракта из листьев пырея на регенерацию гаплоидных растений в культуре пыльников (Razmakhnin *et al.*, 2010) нами были проведены исследования влияния экстракта, выделенного из листьев растений пырея с высокой морозостойкостью и высокой способностью к андрогенезу на морозостойкость растений пшеницы. Было показано повышение морозостойкости у проростков различных сортов яровой и озимой пшеницы при обработке экстрактом (Razmakhnin, 2010). В дальнейших исследованиях удалось достичь увеличения

морозостойкости пшеницы при использовании разрабатываемого нами метода «листовой няньки». Метод заключается в длительном проращивании семян пшеницы в плотном контакте с живыми листьями морозостойких растений пырея при низких температурах (Размахнин и др., 2007; Razmakhnin, 2010). После этого у растений отрезали кончики листьев и анализировали морозостойкость с помощью разработанного нами метода экспресс-анализа. В 5–10 % случаев растения обладали более высокой морозостойкостью, чем контрольные проростки, выращенные вне контакта с листьями пырея в рулонах фильтровальной бумаги. После яровизации при низких температурах растения высаживали в открытый грунт. При созревании полученных методом «листовой няньки» морозостойких растений в ряде случаев было отмечено увеличение некоторых параметров продуктивности и изменение морфологии колосьев. На рис. 3 показаны растения озимой пшеницы Багратионовка с ярко выраженной остистостью колоса, полученные от растения с высокой морозостойкостью, выращенного методом «листовой няньки». При дальнейшем размножении семенами остистость сохранялась в трех последующих изученных поколениях.

В табл. 4 приведены некоторые характеристики ЛН-линий 3-го поколения «листовой няньки». Из 15 ЛН-линий 8 линий имели значительно более высокую выраженность признаков, являющихся компонентами повышения урожайности по сравнению с исходным сортом Багратионовка. В настоящее время проводятся размножение и дальнейшее исследование полученного материала.

Заключение

Разработка и использование метода получения гаплоидов пырея, метода тестирования генотипов пырея по способности к андрогенезу и метода экспресс-анализа морозостойкости растений злаковых позволили создать уникальную коллекцию генотипов пырея сизого с ценными для селекции свойствами. Растения пырея из созданной коллекции используются в широкомасштабной гибридизации с различными сортами озимой и яровой мягкой пшеницы

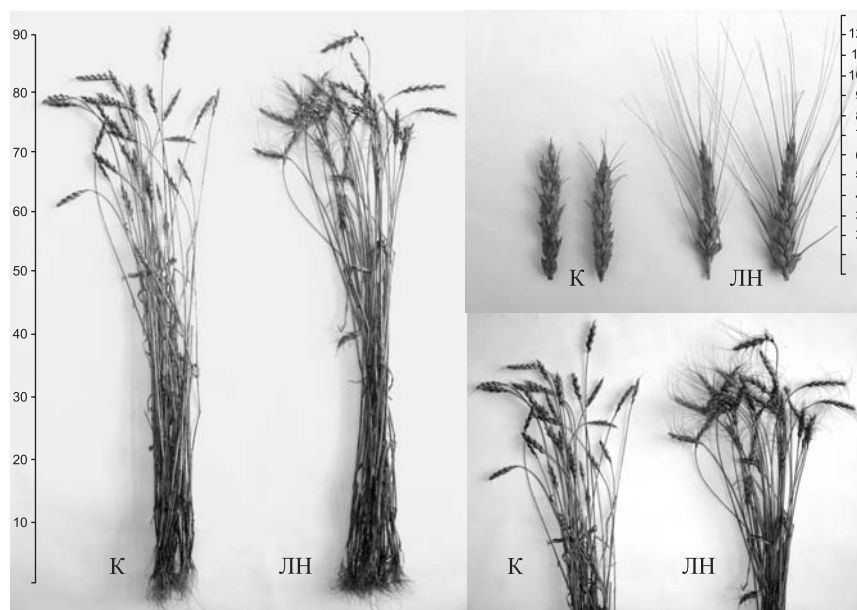


Рис. 3. Развитие остистости колоса в потомстве растения сорта озимой пшеницы Багратионовка, полученного методом «лиственной няньки» (ЛН); К – контроль.

Таблица 4

Характеристики урожая озимой пшеницы Багратионовка и линий, полученных методом «лиственной няньки» (ЛН)

Вариант		Высажено зерен	Число растений	Общий вес растений, г	Средний вес растений, г $M \pm m$	Число зерен	Масса зерен		Масса 1000 зерен, г
							г	% от контроля	
Багратионовка (контроль, безостая)		300	300	640	$2,1 \pm 0,25$	7240	259	100	35,7
ЛН-линии с ярко выраженной остистостью колоса	ЛН-1	300	260	950	$3,7 \pm 0,12$	8900	456	176	51,2
	ЛН-2	300	256	680	$2,7 \pm 0,20$	5230	268,2	104	51,3
	ЛН-3	300	222	834	$3,8 \pm 0,23$	6602	365,4	141	55,3
	ЛН-4	300	254	800	$3,1 \pm 0,30$	6421	318,4	123	49,6
	ЛН-5	300	255	740	$2,9 \pm 0,17$	6049	310,5	120	51,3
	ЛН-6	300	290	640	$2,2 \pm 0,12$	5267	255	98	48,4
	ЛН-7	300	265	585	$2,2 \pm 0,17$	4910	244,5	94	50
	ЛН-8	300	223	940	$4,1 \pm 0,23$	7466	410	158	54,9
	ЛН-9	300	233	1130	$4,8 \pm 0,23$	9101	502,1	194	55,2
	ЛН-10	300	235	1180	$4,9 \pm 0,35$	11245	508,5	196	45,2
	ЛН-11	300	175	1000	$5,7 \pm 0,29$	8150	432	167	53
	ЛН-12	300	242	1240	$5,1 \pm 0,35$	9958	539,2	208	54,1
	ЛН-13	300	240	884	$3,7 \pm 0,12$	7120	385,4	149	54,1
	ЛН-14	300	244	616	$2,5 \pm 0,29$	5292	255,2	99	48,2
	ЛН-15	300	250	692	$2,8 \pm 0,12$	5364	260,8	101	48,6

с целью передачи им полезных признаков, таких, как высокая морозостойкость, устойчивость к болезням, высокое содержание белка и клейковины в зерне, многолетность (Размахнин, Чекуров, 2003б). Разрабатывается новое направление для передачи признака «высокая морозостойкость» от пырея пшенице методом «листовой няньки». С применением этого метода получены высокоурожайные ЛН-линии пшеницы. В целом на базе созданной коллек-

ции растений пырея сизого и разработанных методов можно предложить технологию получения высокоморозостойких форм озимой пшеницы (рис. 4).

Благодарности

Работа частично финансировалась по программе фундаментальных исследований Президиума СО РАН № 62.

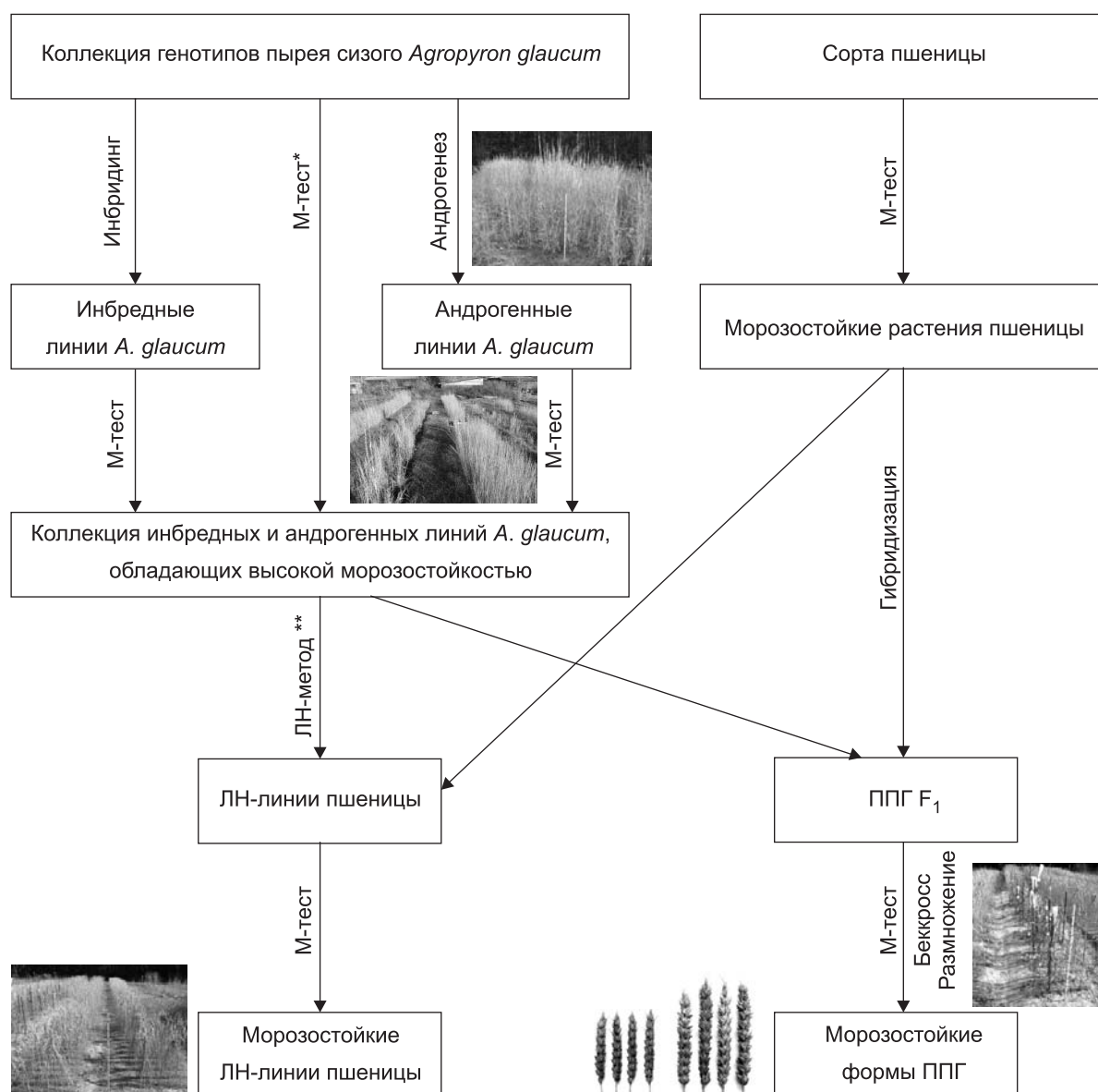


Рис. 4. Технология получения морозостойких форм пшеницы.

* М-тест – метод экспресс-анализа морозостойкости растений; ** ЛН-метод – метод «листовой няньки».

Литература

- Гончаров Н.П., Гончаров П.Л. Методические основы селекции растений. Новосибирск: Акад. изд-во «Гео», 2009. 427 с.
- Ницше В., Венцель Г. Гаплоиды в селекции растений. М.: Колос, 1980. 128 с.
- Орлова А.М. Исследование генетической структуры восточно-казахстанской популяции пырея сизого *Agropyron glaucum* (Desf.) методом инбридинга: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск, 1988. 16 с.
- Размахнин Е.П. Закономерности гаплопродукции в культуре пыльников пырея сизого *Agropyron glaucum* (Desf.): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск, 2003.
- Размахнин Е.П. Генофонд пырея сизого как источник расширения биоразнообразия пшеницы // Информ. вестник ВОГиС. 2008. Т. 12. № 4. С. 701–709.
- Размахнин Е.П., Размахнина Т.М., Чекуров В.М. Эффект применения биостимуляторов в гаплоидной технологии // Матер. конф. «Биологические препараты растительного происхождения и их применение в технологии возделывания с.-х. культур». Бердск, 20–23 января 2004. Новосибирск, 2004. С. 67.
- Размахнин Е.П., Размахнина Т.М., Чекуров В.М. Воздействие экстрактом из листьев пырея сизого увеличивает интенсивность роста и морозостойкость растений пшеницы // Матер. V Междунар. науч. конф. «Регуляция роста, развития и продуктивности растений». Минск, 28–30 ноября. 2007. С. 167.
- Размахнин Е.П., Размахнина Т.М., Чекуров В.М., Козлов В.Е. Способ определения морозостойкости озимых зерновых культур. Патент № 2370942. Приоритет изобретения 04.06.2008. Оpubл. 27.19.2009. Бюл. № 30.
- Размахнин Е.П., Туллер Д.М., Велиев С.Н. и др. Влияние различных сред на выход каллюсов, эмбриоидов, альбиносных и зеленых растений в культуре пыльников пырея сизого *Agropyron glaucum* и удлинённого *Agropyron elongatum* // Онтогенетика высших растений: Тез. докл. Всесоюз. науч. конф. (17–18 октября 1989). Кишинев: Штиинца, 1989. С. 342.
- Размахнин Е.П., Чекуров В.М. Разработка метода тестирования генотипов пырея сизого по параметрам гаплопродукции в культуре пыльников // Тр. междунар. науч.-практ. конф. «Приоритетные направления в селекции и семеноводстве с.-х. растений в XXI в.». Москва, 15–18 декабря, 2003а. С. 423–425.
- Размахнин Е.П., Чекуров В.М. Применение гаплоидной биотехнологии и оригинальных биостимуляторов в отдаленной гибридизации пшеницы и пырея // Тр. междунар. конф. «Отдаленная гибридизация. Состояние и перспективы развития», посвященной 105-летию со дня рождения акад. Н.В. Цицина. Москва, 16–17 декабря 2003. М.: Изд. МСХА, 2003б. С. 208–212.
- Размахнин Е.П., Чекуров В.М. Создание линейного материала пырея сизого для использования в отдаленной гибридизации с пшеницей // Фактори експериментальної еволюції організмів: Зб. наук. пр. Т. 2 / За ред. М.В. Роїка. К. КВЦ, 2004. С. 248–253.
- Размахнин Е.П., Чекуров В.М. Эффективность получения гомозиготных линий пырея сизого методом инбридинга и андрогенеза *in vitro* // Тр. междунар. науч.-практ. конф. «Инновационные технологии в селекции и семеноводстве сельскохозяйственных культур». Москва, 7–9 августа. 2006а.
- Размахнин Е.П., Чекуров В.М. Пути повышения морозостойкости пшеницы // Фактори експериментальної еволюції організмів. Зб. наук. пр. / За ред. М.В. Роїка. К. КВЦ, 2006б. С. 154–159.
- Цицин Н.В. Озимые пшенично-пырейные гибриды // Теория и практика отдаленной гибридизации. М.: Наука, 1981. 160 с.
- Чекуров В.М., Орлова А.М. Выделение гомозиготных линий пырея сизого для скрещивания с мягкой пшеницей // С.-х. биология. 1982. Т. 17. № 1. С. 55–61.
- Чекуров В.М., Козлов В.Е. Низкий метаболизм и высокая морозостойкость – важные компоненты выживаемости озимой пшеницы в Сибири // Матер. 1-й Центр.-Азиат. конф. по пшенице. Алматы, 2003. С. 222.
- Чекуров В.М., Размахнин Е.П. Эффект применения препарата Новосил в биотехнологии, отдаленной гибридизации, сельском и приусадебном хозяйстве // Тез. семинара-совещания «Средства защиты растений, регуляторы роста, агрохимикаты и их применение при возделывании сельскохозяйственных культур». Анапа, 5–9 сентября 2005. С. 43–45.
- Чекуров В.М., Размахнин Е.П., Размахнина Т.М. Эффект применения регуляторов роста в получении андрогенных линий пырея сизого *Agropyron glaucum* // Матер. I Междунар. конгр. «Биотехнология – состояние и перспективы развития». Москва, 14–18 октября, 2002. С. 130–131.
- Chekurov V.M., Razmakhnin E.P. Effect of inbreeding and growth regulators on the *in vitro* androgenesis of wheatgrass, *Agropyron glaucum* // Plant Breeding. 1999. V. 118. P. 571–573.
- Chuang Ch.-Ch., Ouyang T.-W. A set of potato media for wheat anther culture // Proc. Symp. on Plant Tissue Culture. Peking: Sci. Press, 1978. P. 51–56.
- Galieva E.R., Razmakhnin E.P., Khristolubova N.B., Chekurov V.M. Ultrastructural organization of chloroplasts of green and albinous regenerant plants of wheatgrass // Proc. 1st Intern. Conf. Actual Problems of Agricult. Intensification. 22–25 June, 1993. Shorthandy. P. 79.
- Horovitz N. Breeding of hybrids between Triticum and Agropyron species // Boletín Genético. Instituto de Fitotecnia. Castelv, 1969. No 6. P. 11–19.
- Ockendon D.J. Genetic manipulation in plant // Plant Breeding. Walter and Gruyter CO. Berlin; N.Y. Printed in Germany, 1986. P. 256–271.
- Razmakhnin E.P. Transfer of the character of frost resistance from the wheatgrass to wheat by the method of leaf nurse // Abstr. of Intern. Conf. «Plant Genetics, Genomics and Biotechnology». Novosibirsk, June 7–10. 2010. P. 75.
- Razmakhnin E.P., Chekurov V.M. Androgenesis in wheatgrass *Agropyron glaucum* anther culture. Inducing effect of various sugars and growth regulators // Proc. 2nd Russian Symp. Trends in Plant Biotechnolodgy, 18–20 May 1993. Puschino, 1993. P. 209.
- Razmakhnin E.P., Chekurov V.M. Novel patented biological

- preparations from conifers and fungi: applications in biotechnology, distant hybridization and agriculture // Proc. 17th Intern. Conf. on Plant Growth Substances. 1–6 July, 2001. Brno. Czech Republic.
- Razmakhnin E.P., Chekurov V.M. Development of haploid biotechnology for wheatgrass *Agropyron glaucum* (Desf.) // Abstr. 1st Central-Asian Wheat Conference. Almaty, June 10–13. 2003. P. 524.
- Razmakhnin E.P., Razmakhnina T.M., Kozlov V.E. Influence of medium, physical and genetic factors on haplomorphogenesis in anther culture of the wheatgrass *Agropyron glaucum* (Desf.) // Abstr. of Intern. Conf. «Plant Genetics, Genomics and Biotechnology». Novosibirsk, June 7–10. 2010. P. 76.
- Reinert J. Anther culture: haploid production and its significance (Applied and Fundamental Aspects of plant cell, tissue and organ culture /J. Reinert. 1977. P. 251–267.
- Sopory S.K. Induction of haploids: achievements problems and possibilities // Sci. (India), 1983. V. 52. No 23. P. 1112–1113.

RAISE OF HIGH FROST-RESISTANT *AGROPYRON*–*TRITICUM* HYBRIDS

**E.P. Razmakhnin, T.M. Razmakhnina, V.E. Kozlov, E.I. Gordeeva,
N.P. Goncharov, G.Y. Galitsyn, S.G. Veprev, V.M. Chekurov**

Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: eprazmakh@yandex.ru

Summary

One way of obtaining high-frost-resistant varieties of winter wheat is a wide hybridization with wild relatives, in particular, certain species of wheatgrass. The most promising frost resistance donor is *Agropyron glaucum* (Desf. ex DC) Roem. & Schult. (=Syn. *Thinopyrum intermedium* (Host) Barkworth & D.R. Dewey). A large collection of *Agropyron glaucum* genotypes was derived from the original material collected in Eastern Kazakhstan, at an elevated site with little snow, which suggested that they had high frost resistance. A biotechnological approach to obtaining pure androgenous wheatgrass lines via anther culture and an efficient method for rapid analysis of frost resistance in winter wheat, wheatgrass and other crops were developed. The said approach gave rise to androgenous lines with various wheat cultivars, and subsequent backcrossing yielded a diversity of wheat-wheatgrass hybrids. This material is currently being used for creation of frost-resistant varieties of winter wheat and for increasing wheat biodiversity. The described technology shortens the time for production of frost resistant wheat-wheatgrass hybrids to 2–3 years. In addition, experiments on frost resistance transfer from wheatgrass to wheat by means of the leaf nurse method were conducted. When ripe, a few frost-resistant lines of winter wheat obtained displayed elevated productivity and altered morphology of ears, which had long awns, inherited in the progeny. This material is now being studied and propagated.

Key words: *Agropyron glaucum*, wheatgrass, common wheat, frost resistance, androgenesis *in vitro*, wide hybridization, *Agropyron-Triticum* hybrids, «leaf nurse».