

# ЗАКОНОМЕРНОСТИ СОЗДАНИЯ ИСХОДНОГО СЕЛЕКЦИОННОГО МАТЕРИАЛА ПРИ БЕККРОССИРОВАНИИ МЕЖВИДОВЫХ ГИБРИДОВ СОРТАМИ ТАБАКА

*Ларькина Н.И., канд. биол. наук, Костюкова С.В.*

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт табака, махорки и табачных изделий», Российская Федерация, г. Краснодар

**Аннотация.** Отдаленная гибридизация используется для изучения закономерностей наследственности и изменчивости у созданных новых генотипов с ценными признаками. Полученные фертильные межвидовые гибриды – это новый исходный материал для генетических исследований, но их использование в практике невозможно. Они несут в себе нежелательные признаки дикого вида. Для восстановления комплекса культурного растения с новым сочетанием генов, полученных от дикого вида, применяется метод возвратных скрещиваний – беккроссирование межвидового гибрида сортами культурного растения.

**Ключевые слова.** Беккроссирование, геном, мейоз, гибриды, семена, in vivo, in vitro.

## REGULARITIES OF THE CREATION OF THE INITIAL BREEDING MATERIAL WHEN BACKCROSSING INTERSPECIFIC HYBRIDS WITH TOBACCO VARIETIES

*Larkina N.I., cand. of biol. sciences, Kostyukova S.V.*

FSBSI All-Russian Scientific Research Institute of Tobacco, Makhorka and Tobacco Products, Russian Federation, Krasnodar

**Abstract.** Distant hybridization is used to study the patterns of heredity and variability in the created new genotypes with valuable traits. The obtained fertile interspecific hybrids are a new source material for genetic research, but their use in practice is impossible. They carry undesirable traits of the wild species. To restore the complex of a cultivated plant with a new combination of genes obtained from a wild species, the method of backcrosses is used - backcrossing of an interspecific hybrid with varieties a cultivated plant.

**Keywords.** Backcrossing, genome, meiosis, hybrids, seeds, in vivo, in vitro.

Экспериментально полученные фертильные межвидовые гибриды являются исходным материалом для селекционно-генетического процесса, но прямое их использование в процессе невозможно, так как они несут в себе нежелательные признаки дикого вида. Поэтому для восстановления хромосомного комплекса культурного растения с новым, желаемым сочетанием генов, полученных от дикого вида, применяется метод возвратных скрещиваний – беккроссирование фертильного межвидового гибрида сортами культурного растения. Гибриды от первого беккроссирования культурным растением – сесквидиплоиды содержат в соматических клетках два генома культурного

растения и один геном дикого вида. Они являются важным промежуточным этапом в получении растений, близких по своим особенностям к культурному сорту, и характеризуются некоторыми морфобиологическими признаками, обусловленными двумя геномами одного из родителей и одним геномом другого.

При первом беккроссировании амфидиплоидов – фертильных межвидовых гибридов, сортами табака в большинстве случаев гибридные семена на растения завязывались в небольшом количестве. Масса гибридных семян была ниже, чем у исходных фертильных межвидовых гибридов. Большая часть собранных гибридных семян в условиях *in vivo*, то есть в естественных природных условиях после периода покоя не наклевывалась. Из 11 гибридных комбинаций только у пяти наблюдались слабые всходы из семян.

При проращивании гибридных семян в естественных условиях, в стерилизованной смеси земли и песка, семена прорастали и вначале развивались до фазы крестика нормально, то есть до фазы образования четырех маленьких листочков, а дойдя до этого периода проростки прекращали расти, корни бурели и отмирали.

Отмечен низкий процент жизнеспособности у большинства гибридных семян. Было получено небольшое число гибридных растений во взрослом состоянии до цветения. В некоторых гибридных комбинациях удалось вырастить небольшое число растений в условиях *in vitro*, в пробирках. Несколько семян некоторых гибридных комбинаций проросли на питательных средах каллусообразования, органогенеза и укоренения, и во внешних условиях были доведены до цветения и завязали гибридные семена вторых беккроссов при опылении сортами табака.

Судя по итогам исследований можно сказать, что амфидиплоиды при первом беккроссировании табаком слабо завязывают жизнеспособные гибридные семена, но использование методов культуры *in vitro* позволяет из слабо развитых семян получать новые гибридные жизнеспособные растения, преодолевая различные несовместимости. По морфологическим признакам выращенные сесквидиплоиды – гибриды от первого беккроссирования были разнообразны, на это оказывали влияние сорта табака, используемые при возвратных скрещиваниях.

От самоопыления у сесквидиплоидов семена не получены. Коробочки образовывались у некоторых растений, но семян в них не было.

Для объяснения отмеченных выше причин изучался процесс микроспорогенеза у сесквидиплоидов, то есть гибридов первых беккроссов с двумя наборами хромосом *N. tabacum* и одним набором хромосом дикого вида *Nicotiana*. Мейоз в процессе микроспорогенеза имел большое число нарушений, в то время, как у амфидиплоидов – фертильных межвидовых гибридов, он был стабилен. По количеству встречающихся у растений первых беккроссов аномалий в мейозе установлено их соответствие этому процессу у амфигаплоидов – стерильных межвидовых гибридов, из-за этого при

образовании пыльцы отмечены значительные аномалии, приводящие к ее стерильности и неполучению семян от самоопыления.

Полученные новые растения от первого беккроссирования фертильных межвидовых гибридов явились совершенно новыми гибридными формами, которые можно использовать для следующего беккроссирования сортами табака и создания гибридного материала, близкого по внешним признакам, то есть по фенотипу, уже к культурному табаку.

Растения, полученные от первого беккроссирования табаком, явились новыми гибридными формами при межвидовой гибридизации, отличающиеся от межвидовых гибридов и культурного табака. Эти формы скрещивали с сортами табака, то есть проводили второе беккроссирование для создания гибридов по фенотипу «табачного типа», характеризующегося уже внешними признаками, близкими к культурному табаку. Проводились исследования на первичной материнской плазме культурного табака у межвидовых гибридов. Было опылено 1247 цветков гибридов первого беккроссирования, получено 130 семенных коробочек с гибридными семенами разных комбинаций.

Варьировало в гибридных комбинациях при получении семян вторых беккроссов число опыленных цветков сесквидиплоидов пыльцой сортов табака от 50 до 343 штук; семенных коробочек на соцветии от 5 до 30 шт.; семян в коробочке от 34 до 235 шт.; масса семян в 1 коробочке от 2,6 до 19,9 мг. Гибридные семена созданы были с сортами: Иммунный 580; Бел 61-9; Дюбек 44; Хикс Ризистан; Иммунный 117, от возвратных скрещиваний с другими сортами семена не получены.

Нарушения мейоза макроспорогенеза при образовании в завязи семязпочек у гибридов первых беккроссов происходили, видимо, в разном процентном отношении. Поэтому с рядом сортов не получены гибридные семена, а те, которые образовывались, были в небольшом количестве. Это говорит о том, что гибридизация идет со значительными нарушениями, что связано, возможно, с имеющимися несовместимостями при оплодотворении, развитии зародыша, эндосперма, а также при процессе прорастания семян.

Малое число гибридных семян от беккроссирования сесквидиплоидов сортами табака можно объяснить присутствием в половых клетках большого числа унивалентных хромосом диких видов *Nicotiana*, что обусловило нарушение процесса оплодотворения. Изучали гибриды с присутствием генов диких видов *N.debneyi*, *N.otophora*, *N.rosulata*, с другими видами никаких результатов не получено. Большая часть гибридных семян вторых беккроссов от насыщения *N.tabacum* амфидиплоидов с *N.debneyi* и *N.otophora* проросла в условиях *in vivo* и развивалась в парниках и на полевом опытно-селекционном участке вполне нормально в цветущие растения, которые давали разное число семян от самоопыления. Семена от второго беккроссирования табаком амфидиплоидов с геномом *N.rosulata* не проросли в условиях *in vivo*. Оставшаяся часть семян была высеяна в условиях *in vitro* в пробирки на питательную среду Уайта для укоренения. В культуре *in vitro* семена проросли, образовали проростки с корнями, из них через горшечную культуру в камере искусственного климата выросли растения, доведенные на

вегетационной площадке до цветения. Были получены растения вторых беккроссов двух гибридных комбинаций с сортами Дюбек 44 и Хикс резистан с присутствием генов от *N.rosulata*. Получены семена от самоопыления, которые во втором поколении проросли в парниках без внешних аномалий и растения в поле росли нормально.

Данные проведенной вторичной гибридизации амфидиплоидов сортами табака свидетельствуют о проявлении слабой завязываемости гибридных семян, среди которых встречались не проросшие. Это значит, что несовместимости продолжали проявляться. При развитии из семян новых гибридных растений, в большинстве случаев, сильные аномалии не наблюдались, но при проявлении аномалий проращивание семян в условиях культуры *in vitro* на специализированной питательной среде Уайта для укоренения в пробирках позволило их преодолеть и вырастить взрослые растения до цветения и образования семян от самоопыления.

Таким образом было выращено восемь типов гибридов от второго беккроссирования сортами табака амфидиплоидов с геномами *N.debney*, *N.rosulata*, *N.otophora*.

Гибриды табачного типа или вторые беккроссы, морфологически отличались от ранее полученных амфигаплоидов, амфидиплоидов и сесквидиплоидов, то есть гибридов от первого беккроссирования. Внешне, у фенотипа явно прослеживалось влияние культурного табака (*N.tabacum* Lin.).

При исследовании цветков у гибридов от второго беккроссирования, где первичной материнской формой был *N.tabacum*, у межвидовых гибридов не отмечены внешние изменения. Рыльца и пестики цветков были на одной высоте и опылялись хорошо собственной пылью, образуя семена от самоопыления в различном количестве, что, видимо, было связано с аномалиями при макро- и микроспорогенезе в разном процентном соотношении.

Кроме отмеченного выше, выявлено влияние цитоплазмы первичной материнской формы у стерильных межвидовых гибридов – амфигаплоидов. опыление пылью диких видов проводили на *N.tabacum* – материнской форме. Поэтому, на растения цитоплазма *N.tabacum* оказывала влияние на всех этапах исследований получения фертильных межвидовых гибридов и гибридов от первого и второго беккроссирования их сортами табака, в отличии от гибридного материала, полученного от межвидовой гибридизации диких видов с культурным табаком. В этом случае на селекционный процесс влияла цитоплазма дикого вида. В исследованиях М.Ф. Терновского отмечалось, что цитоплазма дикого вида оказала влияние при возвратных скрещиваниях межвидовых гибридов с сортами табака во вторых и третьих беккроссах, выявляя признаки цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС)

Гибриды от второго беккроссирования фертильных межвидовых гибридов сортами табака, созданные на основе межвидовых гибридов, где первичной материнской формой является *N.tabacum*, не образуют растения с цитоплазматической мужской стерильностью, относительно хорошо плодоносят, образуют семена от самоопыления в разном количестве,

стерильных форм не встречается, уже достаточно хорошо скрещиваются с сортами табака, создавая возможность работать дальше в селекционном процессе для создания нового перспективного исходного материала.

### **Литература**

1. Goodspeed. The genes *Nicotiana* // *Chronica Botanica*. 1954. V. 16. P. 120-200.
2. Ларькина Н.И. Научные основы межвидовой гибридизации на плазме *Nicotiana tabacum* Lin: монография / ФГБНУ ВНИИТТИ. Краснодар: Просвещение-Юг, 2015. 188 с.
3. Ларькина Н.И. О возможностях опыления *in vitro* *Nicotiana tabacum* пыльцой австралийских диких видов рода *Nicotiana* // *Естественные и технические науки*. 2021. №5. С. 99-102.
4. Ларькина Н.И. Отдаленная гибридизация в биологии на примере рода *Nicotiana* /ФГБНУ ВНИИТТИ. Краснодар: Просвещение-Юг, 2017. 95 с.