

<https://doi.org/10.15407/frg2019.04.295>

УДК 631.523:633.264

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЕМОМ ПРИ СОЗДАНИИ И РАЗМНОЖЕНИИ МЕЖРОДОВОГО ГИБРИДА *FESTULOLIUM* МОРФОТИПА ОВСЯНИЦЫ ТРОСТНИКОВОЙ (*FESTUCA ARUNDINACEA*) С ВЫСОКИМ ПИТАТЕЛЬНЫМ КАЧЕСТВОМ КОРМА

Т.В. МАЗУР<sup>1</sup>, И.П. КОНДРАЦКАЯ<sup>1</sup>, В.А. СТОЛЕПЧЕНКО<sup>2</sup>, П.П. ВАСЬКО<sup>2</sup>,  
А.М. ДЕЕВА<sup>1</sup>, Е.А. ВОЙЦЕХОВСКАЯ<sup>1</sup>, О.В. ЧИЖИК<sup>1</sup>, Г.А. ПРЯДКИНА<sup>3</sup>,  
В.Н. РЕШЕТНИКОВ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси  
220012 Минск, ул. Сурганова, 2в  
e-mail: ikondratskaya@mail.ru

<sup>2</sup>Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси  
по земледелию

222160 Жодино, ул. Тимирязева, 1

<sup>3</sup>Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук  
Украины

03022 Киев, ул. Васильковская, 31/17

С помощью клеточных биотехнологий созданы фертильные межродовые (♀ овсяница тростниковая сорта Зарница и ♂ райграсс многоцветковый сорта Матадор) гибриды фестулолиума морфотипа овсяницы тростниковой. Разработаны методы микроклонального размножения межродовых гибридов. Описаны условия микроклонального размножения, позволяющие сократить сроки создания гибридов фестулолиума. Проведен сравнительный анализ содержания углеводов в зеленой массе гибридных растений фестулолиума и их родительских форм. Установлено, что гибриды существенно (на 17–27 %) превышали родительские формы по суммарному содержанию водорастворимых углеводов в вегетативной массе, относительное содержание дисахаридов в суммарном содержании водорастворимых углеводов у родительских форм было меньше (36–39 %), чем у гибридных растений (50–53 %). Созданные фертильные межродовые гибриды фестулолиума морфотипа овсяницы тростниковой являются генетическими источниками хозяйственно-ценных признаков и могут служить основой для селекции сортов и гибридов многолетних злаковых трав с высоким уровнем продуктивности.

**Ключевые слова:** *Festulolium*, *Festuca arundinacea* Schreb., межродовой гибрид, морфотип, микроклональное размножение, растения-регенеранты, эксплантаты, углеводы.

Кормовые травы родов *Lolium* и *Festuca* принадлежат к семейству Poaceae, подсемейству Festucoideae, которое объединяет свыше 400 различных видов [1]. Наиболее ценными с точки зрения производства

зеленого пастбищного корма являются *Festuca pratensis* Huds., *Festuca arundinacea* Schreb., а из рода *Lolium* — *Lolium multiflorum* Lam., *Lolium perenne* L. [2—4].

Райграсы характеризуются очень высокой питательной ценностью из-за большого содержания белка и водорастворимых углеводов в сухом веществе. Среди всех кормовых трав райграсы имеют высокие усвояемость, питательность и конкурентоспособность по отношению к другим компонентам травостоя. Однако данный род чувствительный к недостатку влаги в почве во время засухи, а также имеет низкие морозостойкость и зимостойкость [5].

Питательная ценность овсяницы зависит от ее вида. Овсяница луговая (*Festuca pratensis* Huds.) содержит много водорастворимых углеводов и белка, относится к ценным видам с хорошей поедаемостью, а овсяница тростниковая (*Festuca arundinacea* Schreb.) отличается высоким содержанием лигнина и гемицеллюлозы, а также цианогенных гликозидов и алкалоидов, которые снижают ее усвояемость и вкусовые качества. Оба эти вида райграсов устойчивы к изменениям температурного режима и условий увлажнения [5].

Метод отдаленной гибридизации уже достаточно давно с успехом используется в селекции многолетних злаковых трав. Впервые искусственные гибриды овсяницы луговой ( $2n = 14, 28$ ) и райграса пастбищного ( $2n = 14, 28$ ) были получены D. Ganton в 1795 г. [6]. Спонтанные стерильные гибридные растения между этими видами неоднократно отмечались при обследовании пастбищ в Великобритании, Голландии [7], бывшем СССР [8]. В странах Западной Европы межродовые гибриды овсяницы луговой и райграса многоукосного вызвали научный интерес с конца XIX в. Однако растения полученных гибридов были стерильны и не могли использоваться в селекционной работе, пока W. Hertzch в 1959 г. не получил более или менее фертильные амфидиплоидные гибриды путем скрещивания аутополиплоидных растений овсяницы луговой и райграса многоукосного [6, 9]. Целенаправленным созданием межродовых гибридов селекционеры начали заниматься с 1970-х годов, селекционные работы по созданию межродовых гибридов велись во многих странах Европы и Америки. В 1975 г. в Великобритании были получены гибридные сорта фестулолиума Elmet (райграс многоукосный × овсяница луговая) и Priog (райграс пастбищный × овсяница луговая). В 1976 г. в США был районирован гибридный сорт фестулолиума Kenhay (овсяница тростниковая × райграс вестервольдский). Основные его достоинства — высокий урожай, отличные поедаемость и переваримость корма [6]. В начале 1980-х годов в Голландии при скрещивании райграса многоукосного с овсяницей луговой были созданы сорта фестулолиума Varcross и Tandem, которые отличались высоким урожаем кормовой массы, хорошей устойчивостью к засухе и высокой зимостойкостью [6]. В 1979 г. в Литве при скрещивании тетраплоидных форм овсяницы луговой сорта Dotvuna I (Литва) и райграса многоцветкового сорта Muljam (Голландия) был получен межродовой гибрид сорта Punia. В Государственном реестре сортов Республики Беларусь первый сорт фестулолиума Пуня был зарегистрирован в 2007 г. Селекционные исследования по созданию фестулолиума в Рес-

публике Беларусь проводятся с начала 2000-х годов. Первый отечественный сорт Удзячны, созданный в отделе многолетних трав Республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию», зарегистрирован в Государственном реестре сортов Республики Беларусь в 2015 г. В связи с этим в лугопастбищном хозяйстве Беларуси фестулолиум правомерно называть новым видом кормовой культуры, который приобретает все большее значение и занимает, согласно инвентаризации 2016 г., посевную площадь 8,6 тыс. га [5].

С помощью отдаленной гибридизации путем передачи полезных признаков от одного вида к другому мы планируем получить фестулолиум морфотипа овсяницы тростниковой, сочетающий устойчивость к морозам, засухе и высокому уровню грунтовых вод с более высокими показателями кормовой ценности, чем у овсяниц.

В отдаленной гибридизации находят применение такие методы культуры изолированных тканей, как оплодотворение *in vitro*, выращивание изолированных зародышей на искусственных питательных средах, микроклональное размножение ценных гибридов, получение гаплоидов *in vitro* и криосохранение [10]. Одним из распространенных направлений метода культуры тканей является микроклональное размножение, при котором получают генетически идентичные формы, что способствует сохранению генетически однородного посадочного материала [11]. Для каждой культуры необходима разработка конкретной методики микроклонального размножения [12].

Целью данного исследования является разработка метода микроклонального размножения *in vitro* гибридов фестулолиума для размножения здорового посадочного материала ценных биотипов межродовых гибридов фестулолиума.

### Методика

Для создания межродовых гибридов фестулолиума морфотипа овсяницы тростниковой было проведено скрещивание между ♀ овсяницей тростниковой сорта Зарница и ♂ райграсом многоцветковым сорта Матадор в условиях фитотронно-тепличного комплекса с последующей гибридизацией раннеспелых и позднеспелых форм в полевых условиях. Фертильные растения межродовых гибридов фестулолиума получены методом эмбриокультуры при селекции многолетних злаковых трав [10].

Для введения в культуру *in vitro* фестулолиума морфотипа овсяницы тростниковой стерильные семена проращивали на безгормональной (б/г) среде Мурасиге—Скуга (МС) в термостате при температуре  $25 \pm 0,5$  °С. Для дальнейшего размножения фестулолиума нами использовался метод активизации пазушных меристем. Для этого полученные сеянцы фестулолиума помещали на твердые среды, содержащие минеральный состав МС, с добавлением 6-бензиламинопурина (БАП).

Количественное определение содержания углеводов проводили по методу Бертрана [13]. Навеску (от 25 до 50 г) растительного материала экстрагировали дистиллированной водой на водяной бане при темпе-

ратуре 80 °С в течение 60 мин. Часть полученного экстракта 30 мин гидролизовали с соляной кислотой. Аликвоты полученных растворов анализировали на содержание редуцирующих сахаров и сахарозы.

Содержание сахаров вычисляли по формуле

$$x = 100 a V/V_1 n (\%),$$

где  $a$  — количество сахаров во взятом объеме ( $V_1$ ), найденное по таблицам, мг;  $V$  — объем вытяжки, полученной из навески, см<sup>3</sup>;  $n$  — масса навески материала, г.

Биохимические измерения проводили в двух биологических и трех аналитических повторностях. Результаты исследований обработаны статистически с помощью  $t$ -теста Стьюдента [14]. Статистически достоверной считали разницу при  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

Для создания жизнеспособных гибридов фестулолиума на 17-е сутки после опыления было культивировано более 600 зародышей из незрелых зерновок материнских растений овсяницы тростниковой и высажены на питательную среду. Количество полученных фертильных растений составило от 49 до 174 (табл. 1).

Растения-регенеранты гибридов фестулолиума морфотипа овсяницы тростниковой были пересажены в почвенные условия фитотронно-тепличного комплекса (ФТК). Яровизацию хорошо раскустившихся растений проводили в условиях ФТК при пониженных температурах для получения семенного материала гибридных растений.

Для сокращения сроков создания межродовых гибридов фестулолиума морфотипа овсяницы тростниковой с заданными хозяйственно-ценными признаками, а также для размножения лучших биотипов разработаны условия микроклонального размножения для данной культуры. Для введения в культуру *in vitro* использовали семена фертильных растений фестулолиума. Немаловажную роль в процессе стерилизации играют подбор стерилизующих соединений, эффективность их концентраций и продолжительность обработки с целью устранения инфекции и получения высокого выхода жизнеспособных эксплантатов. Следует отметить, что для каждого вида растений оптимальный режим стерилизации, способствующий высо-

ТАБЛИЦА 1. Результативность создания межродовых гибридов фестулолиума морфотипа овсяницы тростниковой

Комбинация	Незрелые зерновки в метелках, шт.	Высажено зародышей на питательную среду, шт.	Получено растений, шт.
Fl-13, Fl-8, Fl-9, Fl-30, Fl-31, Fl-11, Fl-18, Fl-35	208	155	49
Fl-18a, Fl-186, Fl-1, Fl-34, Fl-17	455	299	174
Fl-26, Fl-28, Fl-14, Fl-32	205	167	153

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЕМОВ



Рис. 1. Этапы стерилизации семян гибридов фестулолиума морфотипа овсяницы тростниковой

кому выходу жизнеспособных эксплантатов, устанавливается экспериментальным путем.

Стерилизацию семян проводили согласно общепринятым методикам с использованием схемы, представленной на рис. 1. Эффективность стерилизации оценивали по двум критериям: проценту инфицированных семян и количеству проросших семян (всхожесть семян).

Семена проращивали на безгормональной среде МС в термостате при температуре  $25 \pm 0,5$  °С. Показатели стерильности и всхожести семян фестулолиума оказались высокими (табл. 2). У межродовых гибридов фестулолиума 17-1, 31-1, 32-4 после стерилизации семян 0,1 %-м раствором нитрата серебра достигнута 100 %-я стерильность исходного материала, при стерилизации семян гибридного растения 18а-5 наблюдали 1,61 % контаминации. Максимальные показатели всхожести зафиксированы у гибридных растений 17-1 и 31-1 — соответственно 87,5 и 82,32 %. У гибридных растений 18а-5 и 32-4 процент всхожести был немного ниже и составил соответственно 72,82 и 73,75 %. Самый низкий процент всхожести семян наблюдали у гибрида 32-2 — 33,33 %, что, возможно, объясняется использованием прошлогодних семян.

После достижения проростками длины побегов 2,5—3 см (рис. 2) их переносили в культуральные сосуды со средой МС для дальнейшего культивирования в люминостате при температуре 25—27 °С, освещенности 3000—4000 лк и 16-часовом фотопериоде.

Микроклональное размножение гибридных растений фестулолиума осуществляли методом активизации развития уже существующих в растении меристем добавлением в питательную среду веществ ци-

ТАБЛИЦА 2. Эффективность действия стерилизующего реагента при введении в культуру *in vitro* фестулолиума морфотипа овсяницы тростниковой

Стерилизующее вещество	Гибрид	Контаминация, %	Всхожесть семян, %
0,1 %-й раствор AgNO <sub>3</sub>	17-1	0	87,5
	18а-5	1,61	72,82
	31-1	0	82,32
	32-4	0	73,75
	32-2	0	33,33

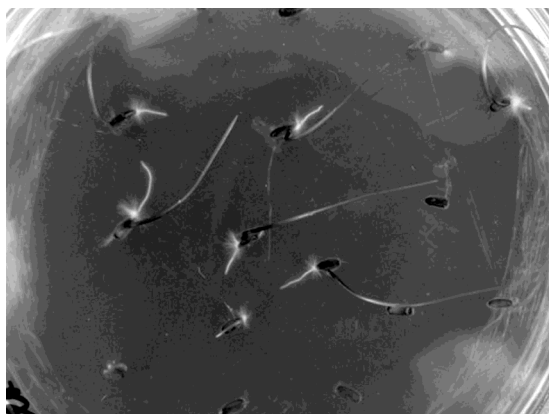


Рис. 2. Всхожесть семян фестулолиума после стерилизации в 0,1%-м растворе  $\text{AgNO}_3$

токининового типа, индуцирующих развитие побегов. Принято считать, что количество добавляемых в среду экзогенных регуляторов роста связано с балансом эндогенных фитогормонов. Таким образом, культивирование гибридов фестулолиума проводили на среде МС с добавлением БАП в концентрации 0,5; 1,0 и 1,5 мг/л и кинетина в концентрации 0,5; 1,0 и 2,0 мг/л. В качестве контроля использовали среду, не содержащую цитокининов. Спустя 6 недель культивирования учитывали число побегов, образовавшихся на каждом эксплантате (табл. 3).

Установлено, что гибриды фестулолиума одинаково реагируют на наличие БАП в среде культивирования. Наиболее эффективной для стимулирования побегообразования оказалась среда с добавлением БАП в концентрации 1,0 мг/л. На данной среде наблюдали максимальное побегообразование для всех гибридных растений фестулолиума: 17-1 —  $1,9 \pm 0,68$ ; 18a-5 —  $2,3 \pm 0,41$ ; 31-1 —  $3,1 \pm 0,73$ ; 32-4 —  $2,3 \pm 1,15$ ; 32-2 —  $2,5 \pm 0,78$  (см. табл. 3). Однако, сравнив интенсивность побегообразования между гибридами, мы отметили межродовой гибриды

ТАБЛИЦА 3. Активность побегообразования при культивировании фестулолиума в культуре *in vitro* на среде Мурасиге—Скуга, содержащей цитокинины

Гибрид	Среднее количество побегов на эксплантат в зависимости от концентрации БАП, мг/л			
	б/г*	0,5	1,0	1,5
17-1	1,0±0	1,7±0,77	1,9±0,68	1,5±0,55
18a-5	1,0±0	1,8±0,59	2,3±0,41	2,0±0,28
31-1	1,0±0	1,4±0,69	3,1±0,73	2,1±1,02
32-4	1,0±0	2,0±0,69	2,3±1,15	1,4±0,54
3MP2	1,0±0	1,4±0,51	2,5±0,78	1,9±0,36
Гибрид	Среднее количество побегов на эксплантат в зависимости от концентрации кинетина, мг/л			
	б/г	0,5	1,0	2,0
17-1	1,0±0	1,28±0,48	1,30±0,35	1,42±0,53
18a-5	1,0±0	1,12±0,35	1,37±0,74	1,33±0,50
31-1	1,0±0	1,33±0,51	1,50±0,70	1,20±0,44
32-4	1,0±0	1,14±0,37	1,22±0,44	1,44±0,52
3MP2	1,0±0	1,0±0	1,50±0,53	1,25±0,48

\*Безгормональная среда.

31-1, у которого количество побегов на эксплантат колебалось от 2 до 4, в то время как для других рассмотренных вариантов оно было несколько меньше — 1—3 побега на эксплантат (рис. 3). Повышение концентрации БАП на 0,5 мг/л в среде культивирования приводило к снижению активности побегообразования у всех гибридов.

Добавление кинетина при размножении растений фестулолиума на средах МС незначительно влияло на побегообразование (см. табл. 3). Максимальное побегообразование для гибридов 18а-5, 31-1, 3МР2 наблюдали на среде МС с добавлением кинетина в концентрации 1 мг/л, а для гибридов 17-1 и 32-4 — на среде с добавлением кинетина 2 мг/л. Их количество колебалось от 1 до 3 побегов на эксплантат.

Образовавшиеся побеги осторожно отделяли скальпелем и помещали на среду МС с добавлением ауксина 3-индолилуксусной кислоты в концентрации 1,0 мг/л для формирования развитой корневой системы для обеспечения эффективной адаптации растений к условиям *ex vitro*.

Таким образом, согласно полученным результатам исследования, для дальнейшего размножения фестулолиума в культуре *in vitro* эффективнее использовать среды МС с добавлением цитокинина БАП в концентрации 1 мг/л.

Важную роль углеводов в жизнедеятельности растений обуславливает разнообразие их функций. Водорастворимые углеводы выполняют энергетическую и транспортную функции, являются эффективными осмопротекторами, контролируют клеточный тургор, играют роль сигнальных молекул [15]. Кроме того, они влияют на экспрессию генов, регулируют метаболические процессы, обеспечивают адаптацию растений к стрессовым условиям, поскольку стабилизируют белковые и липидные компоненты мембран [16]. Следует также отметить, что сахара служат основным питанием зародыша, играют важную биохимическую роль в период прорастания семян и на первых этапах развития зародыша. В настоящее время появляются сведения о роли углеводов в обеспечении иммунитета растений. Полагают, что некоторые из них являются элиситорами, эффективными для защиты растений, а другие действуют как сигнальные молекулы подобно фитогормонам [17]. Показано также, что введение в рацион животных оптимального количества водорастворимых углеводов способствует повышению жирности молока, переваримости клетчатки, улучшению усвоения каротина и минеральных солей корма, а их недостаточное поступление с кормом вызывает в организме животных дефицит глюкозы [18].

С учетом значения углеводов как в жизнедеятельности растений, так и в питательной ценности кормовых трав проведен сравнительный анализ содержания углеводов в зеленой массе созданных перспективных гибридных растений фестулолиума и их родительских форм. Содержание редуцирующих сахаров в вегетативной массе райграса и овсяницы тростниковой составляло 8,6—9,3 % сырого вещества, у гибридных растений фестулолиума колебалось от 8,2 до 9,7 % (рис. 4). В то же время содержание основного нередуцирующего сахара — сахарозы — у родительских форм и гибридов значительно от-

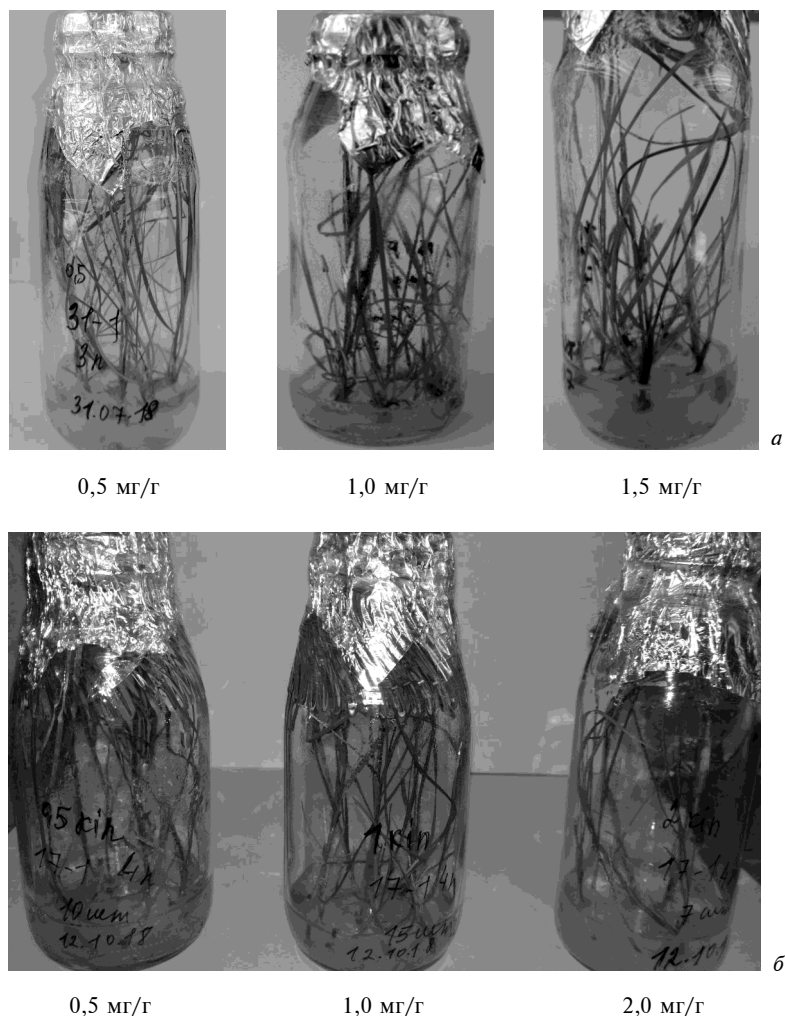


Рис. 3. Побегообразование у растений фестулолиума на среде Мурасиге—Скуга с добавлением БАП (а) и кинетина (б)

личалось. У первых из них оно составляло 5,2–5,6 %, у вторых было почти вдвое выше — 8,7–10,0 %. Это повлияло и на суммарное содержание водорастворимых углеводов в вегетативной массе: у гибридных растений их количество было на 17–27 % выше, чем у родительских форм. Анализ количества сахарозы показал, что относительное содержание дисахаридов в суммарном содержании водорастворимых углеводов у родительских форм составляло 36 % (райграс многоцветковый, сорт Матадор) и 39 % (овсяница тростниковая, сорт Зарница), у гибридных растений — 50–53 %.

Наличие резервов углеводов считают признаком стабильности продуктивности растений, особенно в стрессовых условиях [19]. Это может быть связано с тем, что стрессоры разной природы действуют непосредственно на синтез сахаров [20], а также с возможностью их ремобилизации в неблагоприятных условиях [19], их ролью в системе антиоксидантной защиты [17, 21], влиянием на экспрессию генов и регуляцию метаболических процессов [16]. В целом сахара рассма-



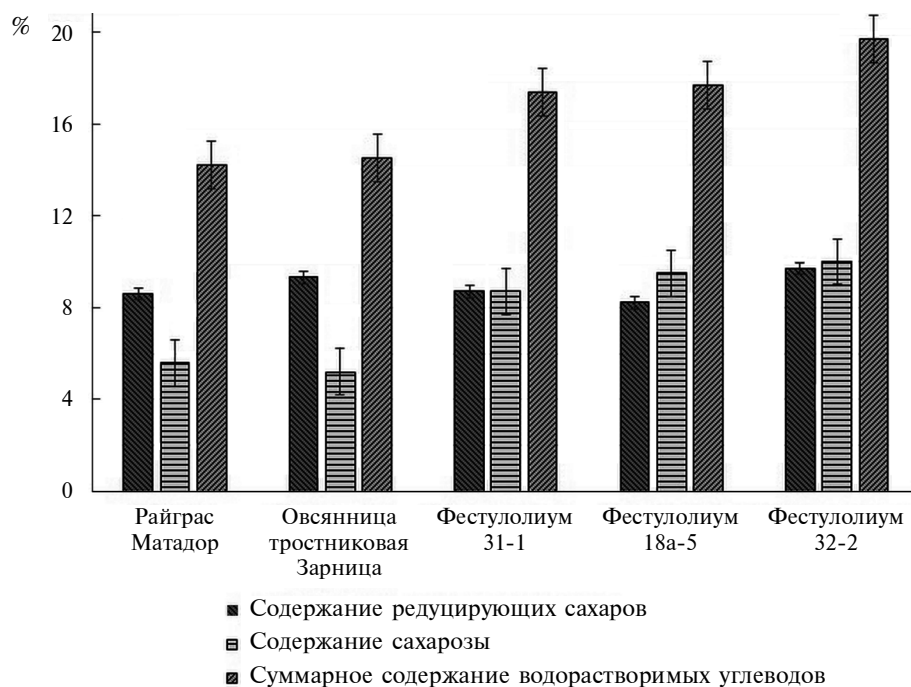


Рис. 4. Содержание углеводов в вегетативной массе гибридных растений фестулолиума и их родительских форм (в пересчете на массу сырого вещества)

триваются как факторы сложной коммуникационной системы, необходимой для координации метаболизма с ростом, развитием, реакциями на изменения и стрессы в окружающей среде, в связи с тем, что они взаимодействуют с суточными изменениями, абиотическими и биотическими стрессами, передачей гормонов [22]. Таким образом, большее содержание сахарозы у гибридных растений фестулолиума может свидетельствовать о более высокой по сравнению с родительскими формами потенциальной продуктивности и о лучших кормовых качествах.

Итак, разработанные и примененные биотехнологические приемы дали возможность сократить сроки создания межродовых гибридов фестулолиума морфотипа овсяницы тростниковой с высокими питательными качествами корма и размножить их лучшие биотипы. Установлено, что гибридные растения фестулолиума существенно превышают родительские формы по содержанию сахарозы и суммарному содержанию водорастворимых углеводов в вегетативной массе.

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Clayton W.D., Renvoize S.A. Genera Gramineae: grasses of the world. London: H.M.S.O., 1986. 389 p.
2. Kopecky B., Lukaszewski A.J., Gibeault V. Reduction of Ploidy Level by Androgenesis in Intergeneric *Lolium-Festuca* Hybrids for Turf Grass Breeding. *Crop Sci.* 2005. **45**. P. 274–281.
3. Leceniewska-Boicianowska A., Kosmala A., Skibinska M., Zwierzykowski Z. Zastosowanie genomowej hybridyzacji in situ w badaniach genetycznych mieszcancow

- oddalonych kompleksu Lolium-Festuca. *Zeszyty Problemowe Postepow Nauk Rolniczych*. 2001. **474**. P. 37–46.
4. Thomas H.M., Morgan W.G., Humphreys M.W. Designing grasses with nature — combining the attributes of Lolium and Festuca. *Euphytica*. 2003. **133**, N 1. P. 19–26.
  5. Клыга Е.Р., Васько П.П. Фестулолиум: агрономические аспекты возделывания: аналитический обзор. Минск: ИВЦ Минфина, 2016. 68 с.
  6. Золотарев В.Н., Зотов А.А., Кошен М.В., Кулешов Г.Ф., Рябова В.Э., Семенов Н.А. Эколого-биологические и технологические основы возделывания райграса. Астана: Типография ИП Жадилова С.П., 2008. 736 с.
  7. Aschenson P., Graebnen P. Sinopsis den Mitteleno-paichen Flora. Leipzig. 1902, Bd.2, ab.1. 202 p.
  8. Булашевич Н.Е. Гибриды овсяницы луговой с английским райграсом. *Селекция и семеноводство*. 1938. **7**. С. 27–29.
  9. Кулешов Г.Ф. Селекция основных видов многолетних злаковых трав. Селекция и семеноводство многолетних трав. Москва: ВНИИК, 2005. С. 109–112.
  10. Kondratskaya I., Stolepchenko V., Chizhik O., Yukhimuk A., Mazur T., Reshetnikov V., Vasko P. Cellular and molecular technologies for creation of intergeneric hybrids of Festulolium. *Environmental and Experimental Biology*. 2018. **16**, N 3. P. 218.
  11. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений in vitro и биотехнологии на их основе. Москва: ФБК-ПРЕСС, 1999. 160 с.
  12. Кондрацкая И.П., Столепченко В.А., Васько П.П., Мазур Т.В., Чижик О.В. Создание межродовых и межвидовых гибридов злаковых трав с использованием постгеномных технологий (in vitro, культура клеток и тканей). *Биотехнология: достижения и перспективы развития*: Сборник материалов II Междунар. науч.-практ. конф. (Пинск, 7–8 дек. 2017). Пинск, 2017. С. 20–22.
  13. Арасимович В.В. Определение сахаров. Методы биохимического исследования растений. Ермаков А.И. (ред.). Ленинград: Агропромиздат, 1987. С. 122–142.
  14. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. Москва: Агропромиздат, 1985. 351 с.
  15. Сиваш О.О., Михайленко Н.Ф., Золотарьова О.К. Цукри як ключова ланка в регуляції метаболізму фотосинтезуючих клітин. 2001. *Укр. бот. журнал*. **58**, № 1. С. 121–125.
  16. Bhowmik P.K., Tamura K., Sanada Y., Tase K., Yamada T. Sucrose Metabolism of Perennial Ryegrass in Relation to Cold Acclimation. *Z. Naturforsch. C*. 2006. **61**, N 1-2. P. 99–104. Retrieved 12 Jun. 2019, from <https://doi.org/10.1515/znc-2006-1-218>
  17. Trouvelot S., Heloir M.C., Poinssot B., Gauthier A., Paris F., Guillier C., Combiere M., Trda L., Daire X., Adrian M. Carbohydrates in plant immunity and plant protection: roles and potential application as foliar sprays. *Front Plant Sci*. 2014 **5**: 592. Published online 2014, Nov 4. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00592>
  18. Кудашева А.В., Галиев Б.Х., Заверюха А.Ч., Картеменов К.Ш. Биологическая ценность углеводов многолетних культур и влияние на продуктивность крупного рогатого скота. *Вестник мясного скотоводства*. 2015. № 4 (92). С. 135–139.
  19. Slewinski T.L. Non-structural carbohydrate partitioning in grass stems: a target to increase yield stability, stress tolerance, and biofuel production. *J. Exp. Bot*. 2012. **63**, N 13. P. 4647–4670. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers124>
  20. Yang J., Zhang J., Wang Z., Zhu Q. Activities of starch hydrolytic enzymes and sucrose-phosphate synthase in the stems of rice subjected to water stress during grain filling. *J. Exp. Bot*. 2001. **52**, N 364. P. 2169–2179.
  21. Keunen E., Peshev D., Vangronsveld J., van den Ende W., Cuypers A. Plant sugars are crucial players in the oxidative challenge during abiotic stress: extending the traditional concept. *Plant Cell Environ*. 2013. **36**, N 7. 1242–1255.
  22. Rolland F., Baena-Gonzalez E., Sheen J. Sugar sensing and signaling in plants: conserved and novel mechanisms. *Annu. Rev. Plant Biol*. 2006. **57**. P. 675–709.

Получено 25.06.2019

## REFERENCES

1. Clayton, W.D. & Renvoize, S.A. (1986). *Genera Gramium: grasses of the world*. London: H.M.S.O.
2. Kopecky, B., Lukaszewski, A. J. & Gibeault, V. (2005). Reduction of Ploidy Level by Androgenesis in Intergeneric *Lolium-Festuca* Hybrids for Turf Grass Breeding. *Crop Science Society of America*, 45, pp. 274-281.
3. Leceniewska-Boicianowska, A., Kosmala, A., Skibinska, M. & Zwierzykowski, Z. (2001). Zastosowanie genomowej hybrydyzacji in situ w badaniach genetycznych mieszańców oddalonych kompleksu *Lolium-Festuca*. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 474, pp. 37-46.
4. Thomas, H.M., Morgan, W.G. & Humphreys, M.W. (2003). Designing grasses with nature — combining the attributes of *Lolium* and *Festuca*. *Euphytica*, 133, pp. 19-26.
5. Klyga, E.R. & Vasko, P.P. (2016). *Festulolium: agronomic aspects of cultivation*. Analytical review. Minsk: ICC Ministry of Finance [in Russian].
6. Zolotarev, V.N., Zotov, A.A., Koshen, M.V., Kuleshov, G.F., Ryabova V.E. & Semenov, N.A. (2008). *Ecological-biological and technological bases of cultivation of ryegrass*. Astana: Tipografiya IP Zhadilova S.P. [in Russian].
7. Aschenson, P. & Graebnen, P. (1902). *Sinopsis den Mitteleno-paichen Flora*. Leipzig. Bd.2, ab. 1.
8. Bulashevich, N.E. (1938). Hybrids of *Festuca pratensis* with English ryegrass. *Selection and Seed Production*, 7, pp. 27-29 [in Russian].
9. Kuleshov, G.F. (2005). Selection of the main types of perennial cereal grasses. Selection and seed production of perennial grasses. Moscow: VNIIC [in Russian].
10. Kondratskaya, I., Stolepchenko, V., Chizhik, O., Yukhimuk, A., Mazur, T., Reshetnikov, V. & Vasko, P. (2018). Cellular and molecular technologies for creation of intergeneric hybrids of *Festulolium*. *Environmental and Experimental Biology*, 16, No. 3, p. 218.
11. Butenko, R.G. (1999). *Biology of cells of higher plants in vitro and biotechnology based on them*. Moscow: FBK-PRESS [in Russian].
12. Kondratskaya, I.P., Stolepchenko, V.A., Vasko, P.P., Mazur, T.V. & Chizhik, O.V. (2017, December). Creation of intergeneric and interspecific hybrids of cereal grasses using postgenomic technologies (in vitro, cell and tissue culture). *Biotechnology: Achievements and Prospects for Development* (pp. 20-22). Pinsk [in Russian].
13. Arasimovich, V.V. (1987). Determination of sugars. *Methods of biochemical studies of plants*. Ermakov, A. I. (Ed.) Leningrad, pp. 122-142 [in Russian].
14. Dosphehov, B.A. (1973). *The methods of field experiment*. Moskva: Kolos [in Russian].
15. Sivash, O.O., Myhaylenko, N.F. & Zolotareva, O.K. (2001). Sugars as a key link in the regulation of the metabolism of photosynthetic cells. *Ukr. Bot. J.*, 58, No. 1, pp. 121-125 [in Ukrainian].
16. Bhowmik, P.K., Tamura, K., Sanada, Y., Tase, K. & Yamada, T. (2006). Sucrose Metabolism of Perennial Ryegrass in Relation to Cold Acclimation. *Z. Naturforsch. C.*, 61, No. 1-2, pp. 99-104. Retrieved 12 Jun. 2019, from <https://doi.org/10.1515/znc-2006-1-218>
17. Trouvelot, S., Heloir, M.C., Poinssot, B., Gauthier, A., Paris, F., Guillier, C., Combier, M., Trda, L., Daire, X. & Adrian, M. (2014). Carbohydrates in plant immunity and plant protection: roles and potential application as foliar sprays. *Front Plant Sci.*, 5: 592. Published online 2014, Nov 4. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00592>.
18. Kudasheva, A.V., Galiev, B.Kh., Zaveryukha, A.Ch. & Kartekenov, K.Sh. (2015). The biological value of carbohydrates of perennial crops and the impact on the productivity of cattle. *Bulletin of beef cattle*, 4 (92), pp. 135-139 [in Russian].
19. Slewinski, T.L. (2012). Non-structural carbohydrate partitioning in grass stems: a target to increase yield stability, stress tolerance, and biofuel production. *J. Exp. Bot.*, 63, No. 13, pp. 4647-4670. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers124>
20. Yang, J., Zhang, J., Wang, Z. & Zhu, Q. (2001). Activities of starch hydrolytic enzymes and sucrose-phosphate synthase in the stems of rice subjected to water stress during grain filling. *J. Exp. Bot.*, 52, No. 364, pp. 2169-2179.

21. Keunen, E., Peshev, D., Vangronsveld, J., van den Ende, W. & Cuypers, A. (2013). Plant sugars are crucial players in the oxidative challenge during abiotic stress: extending the traditional concept. *Plant Cell Environ.*, 36, pp. 1242-1255.
22. Rolland, F., Baena-Gonzalez, E. & Sheen, J. (2006). Sugar sensing and signaling in plants: conserved and novel mechanisms. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 57, pp. 675-709.

Received 25.06.2019

ВИКОРИСТАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ПРИЙОМІВ ПРИ СТВОРЕННІ І РОЗМНОЖЕННІ МІЖРОДОВОГО ГІБРИДА *FESTULOLIUM* МОРФОТИПУ КОСТРИЦІ ОЧЕРЕТЯНОЇ (*FESTUCA ARUNDINACEA*) З ВИСОКОЮ ПОЖИВНОЮ ЯКІСТЮ КОРМУ

Т.В. Мазур<sup>1</sup>, І.П. Кондрацька<sup>1</sup>, В.А. Столепченко<sup>2</sup>, П.П. Васько<sup>2</sup>, А.М. Дєєва<sup>1</sup>,  
О.А. Войцеховська<sup>1</sup>, О.В. Чижик<sup>1</sup>, Г.О. Прядкіна<sup>3</sup>, В.М. Решетніков<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Центральний ботанічний сад Національної академії наук Білорусі, Мінськ  
e-mail: ikondratskaya@mail.ru

<sup>2</sup>Науково-практичний центр Національної академії наук Білорусі із землеробства,  
Жодіно

<sup>3</sup>Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України, Київ

За допомогою клітинних біотехнологій створено фертильні міжродові (♀ костриця очеретяна сорту Зарниця і ♂ райграс багатоквітковий сорту Матадор) гібриди фестулoluіму морфотипу костриці очеретяної. Розроблено методи мікроклонального розмноження міжродових гібридів. Описано умови мікроклонального розмноження, що дають змогу скоротити терміни створення гібридів фестулoluіму. Проведено порівняльний аналіз вмісту вуглеводів у зеленій масі гібридних рослин фестулoluіму та їхніх батьківських форм. Встановлено, що гібриди істотно (на 17–27 %) перевищували батьківські форми за сумарним вмістом водорозчинних вуглеводів у вегетативній масі, відносний вміст дисахаридів у сумарному вмісті водорозчинних вуглеводів у батьківських форм був меншим (36–39 %), ніж у гібридних рослин (50–53 %). Створені фертильні міжродові гібриди фестулoluіму морфотипу костриці очеретяної є генетичними джерелами господарсько-цінних ознак і можуть бути основою для селекції сортів і гібридів багаторічних злакових трав із високим рівнем продуктивності.

*Ключові слова:* *Festulolium*, *Festuca arundinacea* Schreb., міжродовий гібрид, морфотип, мікроклональне розмноження, рослини-регенеранти, експлантати, вуглеводи.

THE USE OF BIOTECHNOLOGICAL TECHNIQUES IN THE CREATION AND REPRODUCTION OF THE INTERGENERIC HYBRID *FESTULOLIUM* OF THE MORPHOTYPE OF TALL FESCUE (*FESTUCA ARUNDINACEA*) WITH HIGH NUTRITIONAL QUALITIES OF FODDER

Т.В. Мазур<sup>1</sup>, І.П. Кондратська<sup>1</sup>, В.А. Столепченко<sup>2</sup>, П.П. Васко<sup>2</sup>, А.М. Дєєва<sup>1</sup>,  
Е.А. Войцеховська<sup>1</sup>, О.В. Чижик<sup>1</sup>, Г.А. Приадкіна<sup>3</sup>, В.Н. Решетніков<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Central Botanical Garden, National Academy of Sciences of Belarus  
2v Surganov St., Minsk, 220012, Republic of Belarus

e-mail: ikondratskaya@mail.ru

<sup>2</sup>Research and Practical Center of National Academy of Sciences of the Republic of Belarus for Arable Farming

1 Timiryazeva St., Zhodino, 222160, Republic of Belarus

<sup>3</sup>Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine  
31/17 Vasylkivska St., Kyiv, 03022, Ukraine

With the help of cell biotechnologies, fertile intergeneric (♀ tall fescue variety Zarnitsa and ♂ ryegrass multi-flowered variety Matador) hybrids of festulolium of the tall fescue morpho-

type were created. Methods of microclonal reproduction of intergeneric hybrids have been developed. The conditions of microclonal reproduction are described that make it possible to shorten the time taken to create hybrids of festulolium. A comparative analysis of the carbohydrate content in the green mass of hybrid festulolium plants and their parent forms has been carried out. It has been established that hybrids significantly (by 17–27 %) exceeded the parental forms in the total content of water-soluble carbohydrates in the vegetative mass. It was also found that the relative content of disaccharides in the total content of water-soluble carbohydrates in parental forms was less (36–39 %) than in hybrid plants (50–53 %). The created fertile intergeneric hybrids of festulolium of the tall fescue morphotype are genetic sources of economically valuable traits and can serve as a basis for breeding varieties and hybrids of perennial cereal grasses with a high level of productivity.

*Key words:* *Festulolium*, *Festuca arundinacea* Schreb., intergeneric hybrids, morphotype, micropropagation, regenerated plants, explant, carbohydrates.