

## ПРОБЛЕМА СИНТЕЗА ЛАВАНДИНА (*LAVANDULA HYBRIDA REVERCHON.*)

В.Д. РАБОТЯГОВ, доктор биологических наук  
Никитский ботанический сад – Национальный научный центр

### Введение

Лавандины – межвидовые гибриды первого поколения ( $F_1$ ), возникающие путем естественной гибридизации на границе соприкосновения ареала лаванды узколистной (*Lavandula angustifolia* Mill.) с лавандой широколистной (*Lavandula latifolia* Medic.) или в результате искусственного скрещивания разнообразных форм названных видов. Они отличаются от исходных видов проявлением гетерозиса, чем и обуславливается особый интерес к ним.

Основными районами возделывания лавандина являются Франция, Испания, Италия, Югославия, Марокко, Румыния [2-4, 8-10].

Селекция лавандина заключается только в получении гибридов  $F_1$ , которые имеют низкую всхожесть семян, а сами растения всегда стерильны [2-4]. До настоящего времени фертильные лавандины неизвестны [5]. Неоднократные попытки получить семена от искусственного самоопыления, а также с открыто цветущих лавандинов, к положительным результатам не привели. Безрезультатно было и скрещивание гибридов  $F_1$  с исходными видами [3, 4, 10].

В связи с этим селекцию лавандина мы рассматриваем главным образом с точки зрения: преодоления стерильности у гибридов  $F_1$ ; изучения возможности использования полиплоидии в сочетании с межвидовой гибридизацией для синтетического создания новых гибридных генотипов; получения гетерозисных полиплоидных лавандинов, по качеству масла приближающихся к л. узколистной.

### Объекты и методы исследования

Материалом для исследований служили сортоклоны дикорастущих и культивируемых видов и форм лаванды; экспериментально полученные полиплоидные формы видов *Lavandula angustifolia*: Рекорд, Прима, К34, К37, К67; *L. latifolia*: К2, К4, К5; амфидиплоиды  $F_1$  (А2, А4, А5, А9); межвидовые гибриды  $F_1$  и  $F_2$  от скрещивания диплоидных и полиплоидных форм лаванды в количестве 3092 генотипов по 45 комбинациям. Полиплоидные формы, межвидовые гибриды  $F_1$  и  $F_2$  от скрещивания ди- и полиплоидных форм лаванды созданы в процессе проведения экспериментальной работы. Для создания нового исходного материала использовали методы межвидовой гибридизации форм, отобранных по хозяйственно ценным признакам, беккроссы скрещивания, инбридинг. Для индуцирования полиплоидов применяли приемы колхицинирования в

нашей модификации. Массовую долю эфирного масла в сырье определяли методом гидродистилляции на аппаратах Клевенджера [3-5]. Компонентный состав эфирного масла исследовали на хроматографе Agilent Technology 6890N с масс-спектрометрическим детектором 5973 N [26].

Индексы удерживания компонентов рассчитывали по результатам контрольных анализов эфирных масел с набором нормальных алканов [5]. Статистическая обработка экспериментальных данных проведена общепринятыми методами вариационной статистики

### Результаты исследований

Установлено, что масло лавандина характеризуется наличием наследуемых от л. широколистной соединений, не представляющих ценности, что обедняет его букет в сравнении с маслом л. узколистной. Необходима серьезная селекционная работа по улучшению качества эфирного масла лавандина путем снижения до минимума содержания цинеола, борнеола и камфоры.

Цитогенетическое изучение межвидовых гибридов первого поколения (лавандинов) показало, что они однообразны по числу хромосом ( $2n=48$ ), содержат 24 хромосомы л. узколистной и 24 хромосомы л. широколистной.

Изучение мейоза у лавандинов показало, что он характеризуется общей для них особенностью: различным колебанием числа бивалентов и унивалентов, варьирующих в определенных пределах. Конъюгация хромосом относится к типу пойкилосинтеза [1]. Этому колебанию числа бивалентов мы придаем огромное значение.

Колебания числа бивалентов происходят по следующим причинам: хромосомы л. узколистной и л. широколистной родственны частично, поэтому не всегда осуществляют конъюгацию друг с другом; аутоцитозис хромосом л. узколистной не всегда осуществлялся также из-за того, что они конъюгируют в неродственной им цитоплазме л. широколистной.

Как показали наши исследования, гибель гамет и зигот у лавандинов – результат того, что конъюгируют и не совсем гомологичные хромосомы (отдельные их участки), которые не могут без ущерба замещать друг друга. Кроме того, клетки у гибридов имеют разное число хромосом – от 23 до 27 (а в ряде случаев встречаются клетки и с 48 хромосомами). Однако можно полагать, что многие сочетания хромосом совершенно нежизненны. В таких случаях нарушается общий баланс всей хромосомной системы; у гибридов дегенерируют яйцеклетки на ранних стадиях их развития; пыльцевые мешки, в которых формируется нежизнеспособная пыльца (на 80% стерильная), не получают полного развития и, как результат, – отсутствие потомства.

Для преодоления стерильности у лавандина использовали колхицин [10]. Амфидиплоидные лавандины создавались путем: гибридизации видов с последующим удвоением числа хромосом у стерильного гибрида; удвоения числа хромосом у исходных видов с дальнейшим скрещиванием индуцированных тетраплоидов.

При удвоении числа хромосом мейоз у лавандина протекает уже правильно. Конъюгация хромосом генома La л.узколистной будет происходить с соответствующими хромосомами другого генома La; так же конъюгируют между собой хромосомы геномов Ll л.широколистной. Вследствие этого амфидиплоидные лавандины образуют функциональные гаметы LaLl и гибрид становится плодовитым. У синтезированных лавандинов с удвоенным числом хромосом завязываются крупные семена (масса 1000 семян 3,0-3,6 г, в то время как у F<sub>1</sub> – всего 0,9-0,1 г).

При получении фертильных лавандинов путем скрещивания индуцированных тетраплоидов *L. angustifolia* n=48 × *L. latifolia* n=48 хромосомы *angustifolia* начинают конъюгировать с *angustifolia*, а *latifolia* с *latifolia* и гибриды становятся плодовитыми.

Получение фертильных лавандинов открыло возможности для создания путем экспериментальной полиплоидии и отдаленной гибридизации (решение второго этапа проблемы) качественно новых форм, ценных как новый исходный материал для решения проблемы синтеза лавандина (табл. 1).

Результаты исследований свидетельствуют, что межвидовые скрещивания более успешны в тех случаях, когда цветки материнских растений опылялись отцовской пыльцой, имеющей одинаковое с материнской или меньшее число хромосом. В комбинациях скрещивания, где в качестве отцовского растения брались формы с большим числом хромосом, чем у материнских, завязываемость семян была значительно ниже. На основе полученных данных можно сделать вывод, что гибриды скрещиваются легче, чем «чистые» виды лаванды.

Таблица 1

**Скрещивание диплоидных видов с индуцированными полиплоидами**

| Комбинация скрещивания                                    | Число опыленных цветков, шт. | Завязываемость семян, % | Всхожесть, % | Выращено растений, шт |
|---|------------------------------|-------------------------|--------------|-----------------------|
| <i>L.angustifolia</i> , n=24× <i>L. latifolia</i> , n=24  | 643                          | 14,2                    | 44,0         | 40                    |
| <i>L. latifolia</i> , n=24× <i>L. angustifolia</i> , n=24 | 798                          | 10,8                    | 41,8         | 36                    |
| <i>L.angustifolia</i> , n=48× <i>L. latifolia</i> , n=24  | 592                          | 20,6                    | 54,8         | 67                    |
| <i>L. latifolia</i> , n=48× <i>L. angustifolia</i> , n=24 | 600                          | 20,0                    | 46,6         | 56                    |
| <i>L.angustifolia</i> , n=24× <i>L. latifolia</i> , n=48  | 376                          | 16,0                    | 68,4         | 41                    |
| <i>L. latifolia</i> , n=24× <i>L. angustifolia</i> , n=48 | 398                          | 13,3                    | 68,0         | 36                    |
| <i>L.angustifolia</i> , n=48× <i>Lavandin</i> , n=24      | 490                          | 0,4                     | 0            | 0                     |
| <i>Lavandin</i> , n=24× <i>L. angustifolia</i> , n=24     | 500                          | 0,4                     | 50,0         | 1                     |
| <i>L. latifolia</i> , n=24× <i>L. Lavandin</i> , n=24     | 480                          | 0,6                     | 0            | 0                     |
| <i>Lavandin</i> , n=24× <i>L. latifolia</i> , n=24        | 460                          | 0,6                     | 33,3         | 1                     |
| <i>L.angustifolia</i> , n=48× <i>L. latifolia</i> , n=48  | 403                          | 21,8                    | 45,5         | 40                    |
| <i>L. latifolia</i> , n=48× <i>L.angustifolia</i> , n=48  | 400                          | 18,0                    | 48,5         | 35                    |
| <i>Lavandin</i> , n=48× <i>L. angustifolia</i> , n=24     | 574                          | 23,6                    | 89,4         | 118                   |
| <i>L. angustifolia</i> , n=24 × <i>Lavandin</i> , n=48    | 482                          | 17,6                    | 82,4         | 70                    |
| <i>Lavandin</i> , n=48× <i>L. latifolia</i> , n=24        | 588                          | 16,0                    | 69,1         | 65                    |
| <i>L. latifolia</i> , n=24× <i>Lavandin</i> , n=48        | 401                          | 10,7                    | 66,0         | 29                    |
| <i>Lavandin</i> , n=48× <i>L.angustifolia</i> , n=48      | 809                          | 18,7                    | 82,7         | 124                   |
| <i>L.angustifolia</i> , n=48× <i>Lavandin</i> , n=48      | 538                          | 14,4                    | 34,6         | 27                    |
| <i>Lavandin</i> , n=48× <i>L. latifolia</i> , n=48        | 588                          | 15,3                    | 27,8         | 25                    |
| <i>L. latifolia</i> , n=48× <i>Lavandin</i> , n=48        | 592                          | 14,8                    | 26,1         | 23                    |
| <i>Lavandin</i> , n=48× <i>Lavandin</i> , n=48            | 796                          | 23,6                    | 95,0         | 179                   |

Выявлено, что содержание эфирного масла у лавандинов имеет тенденцию приближения к виду с наибольшим показателем. По характеру наследования этого признака они распределяются следующим образом (табл. 2).

Таблица 2

**Характер наследования лавандинами признака «массовая доля эфирного масла»**

| Комбинация скрещивания            | Тип наследования признака массовая доля эфирного масла |      |                                   |      |               |      |                                   |      |
|-----------------------------------|--|------|-----------------------------------|------|---------------|------|-----------------------------------|------|
|                                   | гетерозис  |      | равноценны<br>лучшему<br>родителю |      | промежуточные |      | равноценны<br>худшему<br>родителю |      |
|                                   | шт.  | %    | шт.                               | %    | шт.           | %    | шт.                               | %    |
| л. узколистная × л. широколистная | 14   | 10,9 | 20                                | 15,4 | 88            | 67,6 | 8                                 | 6,1  |
| л. широколистная × л. узколистная | 4  | 5,5  | 8,                                | 11,1 | 48            | 66,7 | 12                                | 16,7 |

Характер изменчивости эфирного масла в процессе онтогенеза лавандинов позволяет выявить некоторые закономерности. Анализ масел на второй год цветения показал по всем формам гибридов содержание сложных эфиров (в пересчете на линалилацетат) в объеме  $15,3 \pm 0,8\%$  – весьма близком к л. широколистной ( $11,2 \pm 0,1\%$ ), а для сорта Рекорд –  $49,5 \pm 0,1\%$ . На третий год цветения, после окончательного формирования гибридных растений, содержание сложных эфиров повысилось почти в два раза, составив  $28,2 \pm 0,4\%$ , в то время как у л. широколистной процент сложных эфиров остался на прежнем уровне ( $10,8 \pm 0,1$ ), у л. узколистной –  $50,1 \pm 0,1\%$ . Характерно, что нарастание сложных эфиров от первого года до третьего идет равномерно по всем формам гибридов.

Данные по содержанию химических компонентов эфирного масла у лавандинов ( $F_1$ ) и родительских форм, участвующих в скрещиваниях приведены в табл.3.

Изучение закономерностей наследования химических веществ в лавандине показало, что у отдельных гибридов происходит значительное повышение содержания эфирного масла и отдельных его химических компонентов (линалоол) по сравнению с их наличием в растениях одного из родителей, и наоборот – снижение других составных компонентов эфирного масла (камфора).

Амплитуда варьирования содержания эфирного масла и его отдельных химических компонентов по некоторым формам лавандинов выглядит так: для эфирного масла – от 1,3 до 3,7%; для сложных эфиров от 10,1 до 31,8%; для камфоры – от 2,5 до 14% и для цинеола – 8,9-48,2%.

Познание генетики лавандина делает очевидным тот факт, что, синтезируя его высокопродуктивные формы, для скрещивания необходимо правильно подбирать исходных родителей. Не каждый генотип л. узколистной и не каждая форма л. широколистной при скрещивании дадут гибриды с нужным качественным составом. При гибридизации л. узколистная должна (по возможности) иметь более высокое содержание

эфирного масла с большим содержанием линалилацетата, а л. широколистная – характеризоваться низким содержанием камфоры, цинеола и максимально высоким – эфирного масла.

Таблица 3

**Характеристика гибридов F<sub>1</sub> и исходных форм по компонентному составу эфирного масла**

| Гибридные формы                   | Содержание эфирного масла, % на |                | Содержание, % |          |          |
|-----------------------------------|---------------------------------|----------------|---------------|----------|----------|
|                                   | сырой материал                  | сухое вещество | сложные эфиры | камфора  | цинеол   |
| лаванда узколистная (сорт Рекорд) | 2,1 ±0,1                        | 4,7 ±0,1       | 49,5±0,1      | 2,0±0,1  | 2,8±0,2  |
| Рекорд х клон №1                  | 2,7 ±0,1                        | 5,3±0,2        | 21,4±0,8      | 7,7±0,6  | 32,8±1,4 |
| клон №1 х Рекорд                  | 2,9±0,1                         | 5,9±0,1        | 20,5±1,0      | 8,6±0,6  | 32,0±1,5 |
| лаванда широколистная (клон №1)   | 3,3±0,1                         | 7,7±0,1        | 10,08±0,1     | 17,0±0,1 | 38,8±0,1 |

Совершенно очевидно, что этим путем (получение гибридов F<sub>1</sub>) мы не сможем избавиться от присутствия в масле лавандинов камфоры и цинеола [9]. Однако этот путь селекции позволяет довести их содержание до минимальных количеств.

Дальнейшее улучшение эфирного масла лавандинов может быть достигнуто путем: преодоления их стерильности и применения повторных скрещиваний л. узколистной; скрещивания тетраплоидов л. узколистной и л. широколистной; получения неполных амфидиплоидов лавандина.

Для решения проблемы синтеза высокопродуктивных форм лавандина нами в качестве компонентов скрещивания впервые включены экспериментально созданные тетраплоиды л. узколистной и л. широколистной, амфидиплоиды и аллотетраплоиды. Результаты скрещивания оправдали надежды: при изменении генотипа гибрида изменяется и качество эфирного масла.

Отбор, проведенный в искусственно созданных аллополиплоидных популяциях лавандина, приводит к выделению новых рекомбинантов с высоким качеством эфирного масла. Мы допускаем, что в гибридном потомстве с различным числом геномов и в разном их сочетании возможна более полная реализация наследственных возможностей родителей, что, по нашему мнению, должно выражаться в появлении новых генотипических вариаций по химическому составу, не характерных для родителей.

### Синтетическое создание фертильных гибридов лаванды

Удвоение диплоидных наборов хромосом  $F_1$ , позволило получить фертильные амфидиплоиды, сочетающие признаки исходных видов лаванды и представляющие ценный исходный материал для селекции. Амфидиплоид, впервые созданный нами путем колхицирования стерильного аллогамного гибрида  $F_1$  соединяет в себе признаки как *L. angustifolia*, так и *L. latifolia*. Полученный амфидиплоид имеет широколанцетные листья темно-зеленой окраски, плотные, толстые и ломкие, вогнутые по центральной жилке. Соцветие – густое, плотное, достигающее 10-сантиметровой длины, у основания прерывистое. Цветки в мутовках более или менее прижаты к стеблю, крупные (15,2 мг). Прицветные листья пленчатые, гладкие, с заметными жилками, буряющие, ромбовидные, кверху заостренные, короче чашечки, длиной 5-7 мм и шириной 3-4 мм, на ложной мутовке – шиловидные. Чашечка крупная (7 мм), обычно расширенная. Амфидиплоид завязывает до 43,8% семян (на завязь), в чашечке, как правило, образуется одно семя. Хорошо выполненные семена (масса в 2-3 раза больше, чем у исходных видов) прорастают на 80-100%. В отличие от мелкой, полностью стерильной пыльцы аллогамного гибрида, пыльца амфидиплоида содержит до 82% фертильных пыльцевых зерен. Амфидиплоид образует новый тип пыльцы – экваториально-8-прямобороздную, в то время как у исходных видов лаванды она 6-бороздная. Это является надежным диагностическим признаком синтетически созданного гибрида.

Перечисленные признаки, а также склонность к образованию фасцированных цветков, более позднее (на 20 дней) цветение в сравнении с *L. angustifolia*, повышенное содержание эфирного масла и сложных эфиров, а также более высокая зимостойкость в сравнении с *L. latifolia*, делают эту форму ценной для селекции. Нами впервые получено два семенных поколения этого амфидиплоида, характеризующихся высокой фертильностью, которые воспроизводят исходную форму, в то время как аллогамиды обладают полной мужской и женской стерильностью. Исследования показали, что в основе нормализации процессов спорогенеза и, по-видимому, гаметогенеза у амфидиплоидов лежит бивалентный тип конъюгации за счет аутосинтеза хромосом родительских видов и включения в гамету полных геномов обоих родителей. Мейоциты с нерегулярным мейозом у амфидиплоидов составляют не более 10-13%. Амфидиплоиды формируют семяпочки с нормальными 8-ядерными зародышевыми мешками, способные к оплодотворению. Впервые получено гибридное потомство  $F_2$ , синтезированы новые полиплоидные формы от скрещивания с исходными родительскими видами и с индуцированными автотетраплоидами (табл.1).

Генетическая система амфидиплоидных форм лаванды характеризуется высокой устойчивостью и воспроизводится семенным

путем. Как показали исследования, это можно объяснить тем, что развиваются только зиготы, образовавшиеся в результате слияния 48-хромосомных гамет с полными геномами родительских видов, что ограничивает рекомбинацию генетического материала. С целью получения амфидиплоидных форм в роде *Lavandula* L. нами использовано два способа: первый – удвоение числа хромосом в клетках соматической ткани стерильных межвидовых гибридов, второй – предварительное удвоение числа хромосом у скрещиваемых видов с последующей гибридизацией на тетраплоидном уровне.

#### Получение аллотриплоидов и их использование

Синтез признаков разных видов может быть достигнут добавлением к диплоидному набору хромосом одного вида гаплоидного набора другого вида при получении аллотриплоидных форм (табл. 4). Так, добавление одного 24-хромосомного гаплоидного набора *L. latifolia* к диплоидному 48-хромосомному набору *L. angustifolia* позволило сочетать в аллотриплоиде типа лаванды узколистной ( $2n=3x=72$ , геномный состав AAL) высокую зимостойкость с большим урожаем соцветий и более крупными цветками (табл. 5), присущих *L. angustifolia* с высоким содержанием эфирного масла, свойственных *L. latifolia*. Аллотриплоид типа *L. latifolia* ( $2n=3x=72$ , геномный состав ALL) характеризуется высоким гетерозисом по урожаю и содержанию эфирного масла, более поздним цветением (на 20-30 дней в сравнении с *L. angustifolia*), что представляет интерес для использования его в селекционной работе. Изучение плодовитости аллотриплоидов показало, что они обладают очень низкой фертильностью. При формировании мужских жизнеспособных гамет у аллотриплоида происходит либо полная элиминация гаплоидного генома вида, участвующего в его создании (образуются 24-хромосомные гаметы), либо включение в гамету полных геномов обоих видов (образуются 48-хромосомные гаметы). При создании межвидовых гибридов с участием форм дикорастущего вида *L. latifolia* включение ее полных геномов в генотип гибридов вносит, наряду с положительными признаками (гетерозис по содержанию масла, урожаю), ряд отрицательных качеств, из которых главное – высокая степень стерильности отдаленных гибридов. В связи с этим особо актуальной проблемой является разработка селекционных схем, позволяющих ослабить силу наследственной передачи нежелательных признаков (цинеол, камфора) *L. latifolia*. Этого можно достигнуть минимальным перенесением генетического материала дикого вида культурным формам *L. angustifolia*.

Наши исследования показали, что у гибридов лаванды уменьшение генетического материала *L. latifolia* до отдельных локусов (участков) хромосом может быть осуществлено использованием в селекционном процессе аллотриплоидов в качестве отцовских форм, в генотипе которых *L. latifolia* представлена унивалентным геномом.

Таблица 4

**Характеристика полиплоидов лаванды и их исходных видов по морфологическим признакам**

| Признак,<br>единица<br>измерения  | Вид, гибрид                     |                                   |                       |                                 |  |                            |
|-----------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|-----------------------|---------------------------------|--|----------------------------|
|                                   | лаванда<br>узколистная,<br>(AA) | лаванда<br>широколистная,<br>(LL) | аллогаллоиды,<br>(AL) | аллотриплоиды,<br>(AAL) и (ALL) | амфидиплоиды,<br>C <sub>0</sub> (ALAL) | аллотетраплоиды,<br>(AALL) |
| высота<br>растения, см            | 49,5±0,7                        | 85,5±0,9                          | 79,8±1,0              | 85,7±1,1                        | 63,4±0,8                               | 68,5±0,6                   |
| диаметр<br>растения, см           | 77±1                            | 79±2                              | 101±2                 | 111±2                           | 84±1                                   | 95±1                       |
| число<br>соцветий, шт.            | 289±12                          | 256±18                            | 359±23                | 403±35                          | 239±27                                 | 319±15                     |
| длина листа,<br>мм                | 39,1±0,1                        | 64,0±0,6                          | 62,0±0,6              | 72,6±0,8                        | 65,8±0,6                               | 69,0±0,5                   |
| ширина листа,<br>мм               | 4,9±0,1                         | 11,0±0,2                          | 8,9±0,4               | 10,6±0,7                        | 13,9±0,8                               | 10,2±0,4                   |
| площадь листа,<br>см <sup>2</sup> | 1,9±0,4                         | 4,98±0,6                          | 5,4±0,4               | 5,6±0,5                         | 5,9±0,6                                | 5,6±0,6                    |
| длина<br>цветоноса, см            | 14,1±0,6                        | 75,3±0,8                          | 43,0±0,9              | 49,1±0,9                        | 38,0±0,9                               | 39,5±1,0                   |
| длина<br>соцветия, см             | 4,0±0,3                         | 5,5±0,4                           | 7,1±0,4               | 6,1±0,5                         | 4,8±0,3                                | 5,3±0,4                    |
| число мутовок<br>в соцветии, шт.  | 5,5±0,1                         | 12,1±0,6                          | 9,4±0,6               | 8,5±0,4                         | 8,2±0,2                                | 8,6±0,4                    |
| число цветков в<br>мутовке, шт.   | 14,4±0,2                        | 16,1±0,3                          | 26,2±0,6              | 22,2±0,8                        | 20,1±0,6                               | 22,4±0,4                   |
| число цветков в<br>соцветии, шт.  | 69±0,1                          | 108±1                             | 183±1                 | 181±2                           | 115±1                                  | 165±2                      |
| масса 100<br>соцветий, 131 г      | 73±2                            | 70±2                              | 142±4                 | 191±4                           | 167±3                                  | 181±4                      |
| масса цветков<br>100 соцветий, г  | 66±2                            | 60±2                              | 128±4                 | 171±5                           | 131±3                                  | 154±4                      |

при  $P < 0,05$ ;  $P < 0,01$

Установлено, что в потомстве аллотриплоида, полученного от скрещивания *L. angustifolia* (4x) x *L. latifolia* (2x), AAL,  $2n=72$ , наблюдается выщепление диплоидных семян ( $2n=48$ ), обладающих основным комплексом признаков *L. angustifolia* и лишь отдельными признаками *L. latifolia*. Слияние подобных гамет с гаметами амфидиплоида дает аллотриплоидные семена, которые воспроизводят тип *L. angustifolia*,

однако им свойственны отдельные признаки *L. latifolia* – увеличенное число эфирно-масличных железок в межреберьях чашечки (табл. 5), повышенное число цветков в мутовках и соцветий на концах побегов, а также большее количество цветоносов на растении, что обуславливает больший урожай цветочной массы и увеличивает продуктивность растения лаванды.

Таблица 5

**Характеристика аллополиплоидов и исходных видов по признакам продуктивности**

| Наименование                          | Масса, мг |         |          | Содержание масла в цветках, % на сырую массу | Количество масла в 1 цветке, мг | Число железок на 1 цветок, мг | Количество масла в 1000 железок |
|---------------------------------------|-----------|---------|----------|--|---------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
|                                       | цветка    | чашечки | венчика  |  |                                 |                               |                                 |
| лаванда узколистная (AA)              | 11,2±0,9  | 4,8±0,1 | 6,3±0,1  | 5,4±0,2                                      | 0,28                            | 680±13                        | 0,43                            |
| лаванда широколиственная(LL)          | 8,7±0,1   | 4,2±0,1 | 4,5±0,1  | 8,1±0,2                                      | 0,39                            | 1197±19                       | 0,31                            |
| аллогаплоиды (AL)                     | 9,1±0,1   | 4,0±0,1 | 5,1±0,1  | 8,1±0,2                                      | 0,33                            | 853±18                        | 0,34                            |
| сесквидиплоиды (AAL)                  | 13,6±1,3  | 5,8±0,1 | 7,8±0,1  | 13,1±0,2                                     | 0,62                            | 960±15                        | 0,67                            |
| сесквидиплоиды (ALL)                  | 14,1±1,7  | 6,2±0,9 | 7,8±0,1  | 12,7±0,2                                     | 0,61                            | 978±14                        | 0,63                            |
| амфидиплоиды C <sub>0</sub> (ALAL)    | 17,0±0,23 | 7,1±1,0 | 10,3±0,2 | 11,5±0,3                                     | 0,66                            | 883±17                        | 0,79                            |
| аллотетраплоиды F <sub>2</sub> (AALL) | 15,7±0,2  | 6,7±0,1 | 8,9±0,2  | 12,1±0,3                                     | 0,62                            | 897±18                        | 0,70                            |
| аллотетраплоиды (ALLL)                | 13,6±0,1  | 5,8±0,1 | 7,8±0,1  | 9,1±0,2                                      | 0,54                            | 932±15                        | 0,55                            |

У аллотриплоидных растений наблюдаются новые признаки – образование соцветий типа щитка, зонтиков и кисте-зонтиков (вместо монохазии и дихазии), а также сложных соцветий типа колоса и метелки со спиральным расположением пучков (вместо супротивного – мутовок). Такие формы соцветия произошли от срастания более мелких и сближенных между собой парциальных соцветий. Естественный характер рекомбинации позволил выделить среди аллотриплоидов формы с повышенным содержанием эфирного масла и сложных эфиров в нем, с более высокой продуктивностью и снижением синтеза в 5 раз цинеола и

камфоры, что намного превышает эффективность межвидовой гибридизации на диплоидном уровне в пределах рода *Lavandula* L. [14, 15]. Таким образом, аллотриплоидная форма явилась тем промежуточным звеном, с помощью которого оказалось возможным осуществить перенесение признаков вида *L. latifolia* в комплекс признаков *L. angustifolia*. Нами предлагается следующая схема создания полиплоидных рекомбинантных форм. Первый этап – создание аллотриплоидной формы, второй этап – скрещивание аллотриплоидов с диплоидом и тетраплоидом лаванды узколистной и отбором в их потомстве семян с нужным сочетанием признаков *L. angustifolia* и *L. latifolia*. Создание аллотриплоидов может быть осуществлено либо путем валентного скрещивания тетраплоида *L. angustifolia* и диплоида *L. latifolia* и наоборот, либо с использованием нередуцированных гамет ( $n=48$ ), а также путем скрещивания индуцированного аллогаплоида с диплоидом *L. angustifolia*. Установлено, что хромосомные наборы видов, выбранных для скрещивания, должны обладать частичной гомологией, т.к. только в этом случае мы можем рассчитывать на рекомбинацию генетического материала за счет образования тривалентных хромосомных ассоциаций в мейозе аллотриплоида и, следовательно, на появление в его потомстве растений с хозяйственно полезными признаками *L. latifolia*. С этой целью произвели возвратные скрещивания амфидиплоидных форм с автотетраплоидными растениями лаванды узколистной и лаванды широколистной (табл. 1).

Влияние соотношения и числа геномов на проявление признаков у аллополиплоидов показано на примере изменчивости соцветия лаванды (рис. 1). Итак, морфологические особенности аллополиплоидных гибридов определяются в полной мере соотношением числа хромосом *L. angustifolia* и *L. latifolia* у них и общим числом хромосом.

#### Неполные амфидиплоиды и их значение

В результате исследований показана эффективность метода насыщающих скрещиваний амфидиплоидных форм. С целью усиления признаков лаванды узколистной у аллотетраплоидного гибрида осуществили скрещивание его с автотетраплоидной формой *L. angustifolia* 4х. Такой геномный состав (AAAL) обуславливает большое число нарушений в мейозе: отставание и расщепление унивалентов, а в А-I – выброс за пределы веретена хромосом, расщепление веретена в М-II, микроядра в Т-I и Т-II, полиады из 5-II микроспор. Метафаза первого деления имеет следующий состав: 42,6II+8,31+1,1III+0,2I7. Однако мы наблюдаем образование небольшого числа правильных тетрад (около 2%) и 48-хромосомных микроспор, которые составляют 0,4%. Анализ микроспорогенеза позволил нам установить закономерность развития микроспор и выявить связь между числом хромосом в гамете и развитием числа борозд на пыльцевом зерне ( $r = 0,8$ )

|                |       |     |        |        |        |       |
|----------------|-------|-----|--------|--------|--------|-------|
| число хромосом | 6-12; | 18; | 21-27; | 26-36; | 42-54; | 84-86 |
| число борозд   | 2-3   | 4-5 | 6      | 7      | 8      | 16.   |

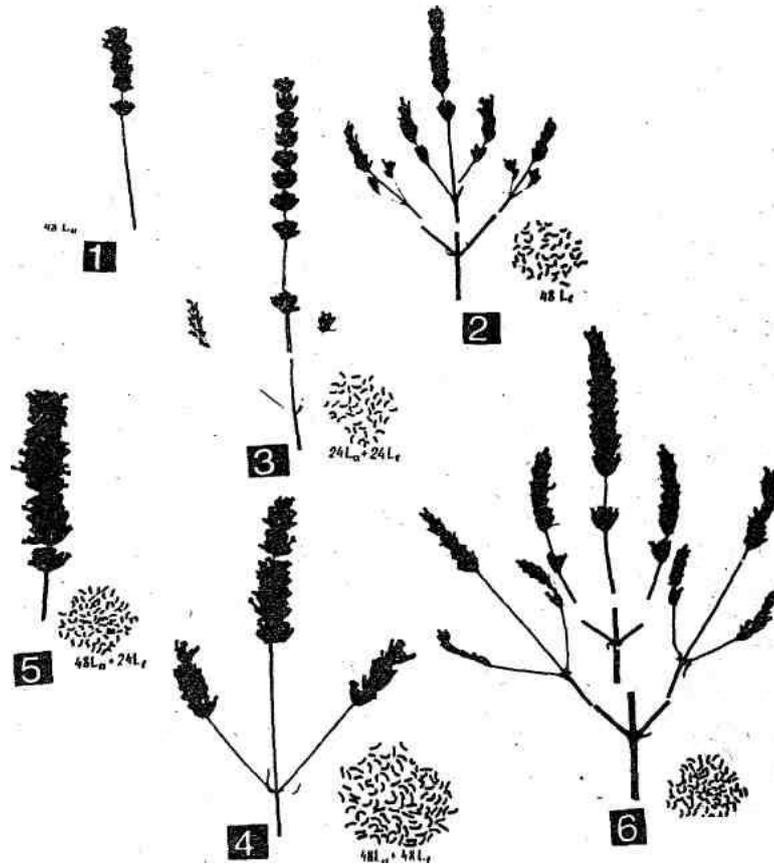
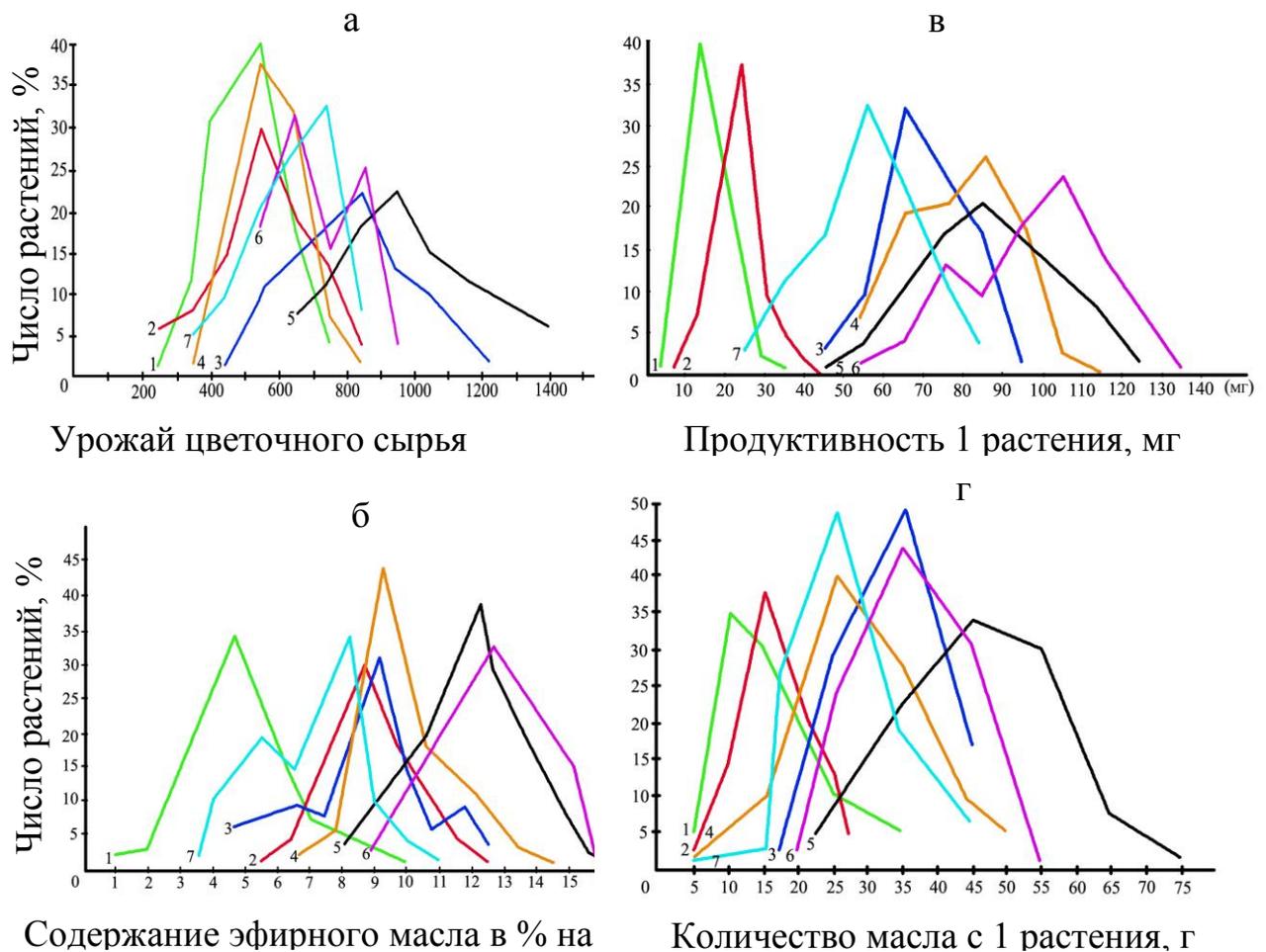


Рис. 1. Соцветия и хромосомные наборы *L. angustifolia*, *L. latifolia* и их гибридов:

1– *L. angustifolia*; 2 – *L. latifolia*; 3 – стерильный гибрид F<sub>1</sub>; 4 – фертильный гибрид (амфидиплоид); 5 – аллотриплоид типа лаванды узколистной; 6 – аллотриплоид типа лаванды широколистной.

На основании полученных данных, нами разработан способ отбора полиплоидов по числу борозд в пыльце для рода *Lavandula* L. По морфологическим признакам аллотетраплоиды (AAAL) представляют собой растения промежуточного типа, обнаруживая большее или меньшее сходство с *L. angustifolia*. Они обладают пониженным содержанием эфирного масла (рис. 2) и более высоким содержанием сложных эфиров в нем по сравнению с амфидиплоидами. Высокая продуктивность, зимостойкость, улучшенное качество эфирного масла, гетерозисный тип развития делают синтетически созданные формы очень ценным исходным материалом в селекции.



**Рис. 2. Изменчивость хозяйственно ценных признаков у исходных видов лаванды и их гибридов (1 – *L. angustifolia*; 2 – *L. latifolia*; 3 – амфигаплоиды F<sub>1</sub>, 4 – амфидиплоиды C<sub>1</sub>, 5 – аллотриплоиды F<sub>1</sub>, 6 – аллотетраплоиды F<sub>2</sub>, 7 – неполные амфидиплоиды.**

Впервые осуществлено повторное скрещивание этих форм с индуцированными автотетраплоидами *L. angustifolia* (AAAL × AAAA) для еще большего усиления химических признаков (компонентного состава эфирного масла) последней и получены семена.

С этого этапа должна начаться замена отдельных хромосом вида *L. latifolia* хромосомами *L. angustifolia*, в результате чего мы предполагаем получить высокопродуктивные сеянцы с химическими признаками лаванды узколистной. Хорошая скрещиваемость алло- и автополиплоидных форм позволяет получать гибридные формы лаванды с различным соотношением геномов исходных видов, что дает возможность ослабить или усилить комплекс признаков того или иного компонента скрещивания. На примере ряда разнохромосомных форм одной

комбинации скрещивания *L. angustifolia* × *L. latifolia*, а именно: (AL, 2n=48); (AALL, 2n=96); (AAL, 2n=72); (AAAL, 2n=96) со следующим соотношением чисел геномов исходных видов 1:1, 1:2, 1:3, 2:2 показано, что по мере увеличения числа геномов *L. angustifolia* увеличивается степень проявления признаков этого вида как количественных (рис. 2), так и качественных. В этих же скрещиваниях, но для усиления признаков *L. latifolia* необходимо произвести численное преобладание ее хромосом в генотипе гибридов (ALL, 2n=72; ALLL, 2n=96).

Комплексное использование методов межвидовой гибридизации и полиплоидии позволило создать и рекомендовать формы, перспективные для селекционной работы с *L. angustifolia* и *L. latifolia*. Амфидиплоид А-2 (2n=96) обладает высоким содержанием эфирного масла (14,6%), отличается большим числом цветков в сравнении с лавандой узколистной. Аллотетраплоид А-8 (2n=96) отличается высокой урожайностью, хорошим биохимическим составом эфирного масла (урожайность соцветий – 136,0 ц/га, содержание линалилацетата 39,9%). Аллотриплоид №11.82 (AAL, 2n=72) ценен тем, что дает в потомстве мейотические аллотетраплоиды с интересным сочетанием хозяйственно ценных признаков исходных видов [14,15].

### **Закономерности изменчивости содержания и состава эфирного масла у лавандина и перспективы его регулирования.**

Разработанные нами принципы подбора родительских пар по содержанию и компонентному составу эфирного масла обеспечивают максимальный выход высокопродуктивных гибридов с высоким уровнем содержания линалоола и линалилацетата. Это позволяет в широких масштабах привлекать в межвидовые скрещивания с диплоидными видами индуцированные авто- и аллополиплоиды, среди которых созданы генотипы, обладающие высоким биосинтезом эфирного масла, высоким содержанием линалоола, устойчивостью к высоким и низким температурам и поздним сроком технической зрелости.

Анализ перспективных комбинаций межвидовых скрещиваний на диплоидном и полиплоидном уровнях выявил, что изученные биохимические признаки: эфиромасличность и содержание линалоола, линалилацетата, борнеола и камфары имеют высокую степень наследуемости ( $H^2 = 0,67-0,82$ ), что указывает на высокую эффективность отбора по этим признакам в  $F_1$ . Корреляционный анализ показал отсутствие прямой или обратной коррелятивной связи между содержанием эфирного масла и его основными компонентами у гибридов  $F_1$  ( $r=0,08-0,21$ ), что свидетельствует о независимом наследовании этих признаков и возможности получения генотипов, сочетающих высокую эфиромасличность с высоким содержанием ценных компонентов.

Установлено, что признаки имеют различную генетическую детерминацию, в связи с чем проявляют различный характер наследования в  $F_1$ . Признаки содержания эфирного масла и его компонентов: линалоол, линалилацетат, борнеол, камфара и цинеол в потомстве  $F_1$  имеют непрерывную изменчивость и наследуются по промежуточному типу, поскольку имеют полигенную природу (рис. 3).

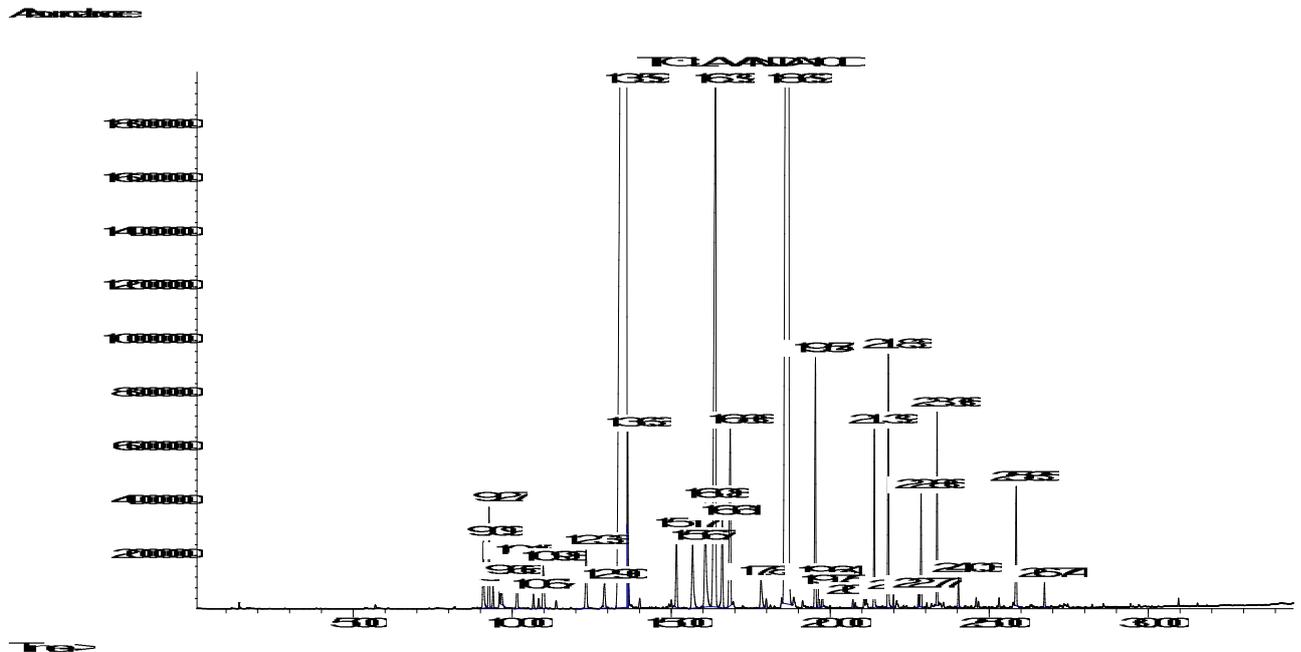


Рис. 3. Хроматограмма эфирного масла лавандина №1186

|           |         |                     |           |         |                      |
|-----------|---------|---------------------|-----------|---------|----------------------|
| 1. 9.09   | 0,495%  | 1-октен-3-ол        | 17. 16.85 | 1,558%  | $\alpha$ -терпинеол  |
| 2. 9.27   | 0,628%  | октанон-3           | 18. 17.82 | 0,299%  | нерол                |
| 3. 9.40   | 0,129%  | мирцен              | 19. 18.69 | 28,733% | линалилацетат        |
| 4. 9.66   | 0,146%  | октанол-3           | 20. 19.53 | 1,549%  | лавандулилацетат     |
| 5. 10.15  | 0,317%  | гексилацетат        | 21. 19.64 | 0,171%  | борнилацетат         |
| 6. 10.66  | 0,095%  | пара-цимен          | 22. 19.75 | 0,105%  | тимол                |
| 7. 10.97  | 0,411%  | 1,8-цинеол          | 23. 20.71 | 0,045%  | гексилтиглат         |
| 8. 12.32  | 0,489%  | транс-линалоолоксид | 24. 21.38 | 0,987%  | нерилацетат          |
| 9. 12.90  | 0,246%  | цис-линалоолоксид   | 25. 21.83 | 1,433%  | геранилацетат        |
| 10. 13.59 | 48,853% | линалоол            | 26. 21.98 | 0,068%  |                      |
| 11. 13.63 | 0,878%  | 1-октен-3-ол ацетат | 27. 22.77 | 0,066%  |                      |
| 12. 15.16 | 0,547%  | камфора             | 28. 22.85 | 0,613%  | $\beta$ -кариофиллен |
| 13. 15.67 | 0,687%  | лавандулол          | 29. 23.36 | 0,956%  | $\beta$ -фарнезен    |
| 14. 16.07 | 1,173%  | борнеол             | 30. 24.03 | 0,158%  |                      |
| 15. 16.39 | 6,634%  | терпинен-4-ол       | 31. 25.84 | 0,705%  | кариофилленоксид     |
| 16. 16.60 | 0,694%  | пара-цимен-8-ол     | 32. 26.74 | 0,134%  | $\alpha$ -кадинол    |

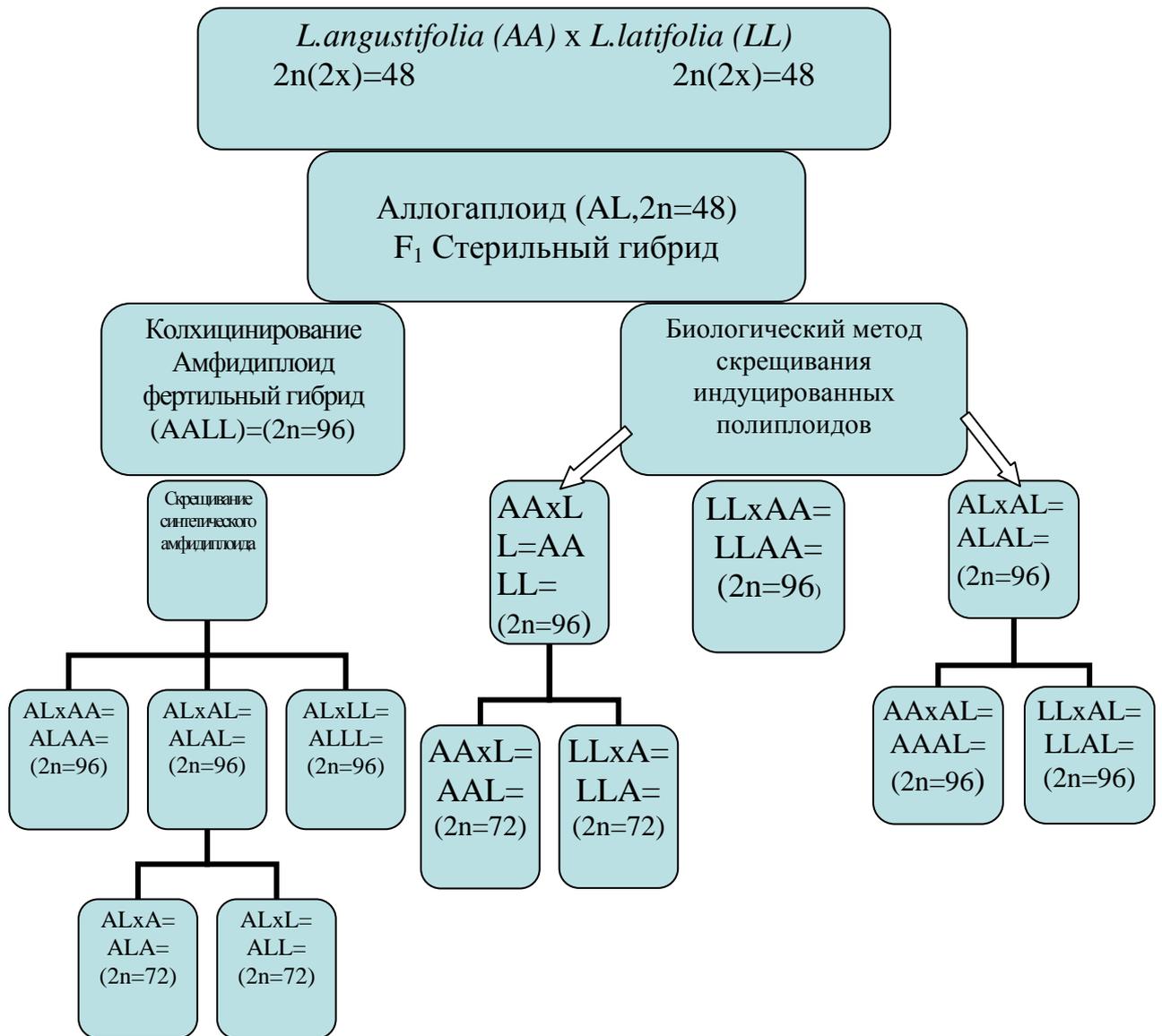
Выраженность этих признаков в сильной степени зависит от их уровня у родительских форм, что указывает на аддитивный характер действия генов. Установлено, что в потомстве  $F_1$  межвидовых гибридов

возможно выделение до 15% особей с повышенными показателями линалоола и линалилацетата и пониженными – цинеола, борнеола и камфары.

Для создания высокопродуктивных гибридов с повышенными показателями компонентного состава перспективно использование высокомасличных форм *L. latifolia* К9, К1 и К2, полученных от самоопыления, а также полиплоидов *L. angustifolia* Т34, К30 (37) и амфидиплоидов 11.87, 11.82. Признак «число мутовок в соцветии» на основании наших данных, имеет моногенную природу и доминирует в потомстве  $F_1$  при межвидовых скрещиваниях с высоким числом мутовок родительских форм.

На рис. 4 представлена обобщенная схема создания исходного материала для селекции лаванды с использованием комплекса генетических методов: полиплоидии, межвидовой гибридизации, инбридинга, включая возможные комбинации межвидовых скрещиваний, обеспечивающие получение исходного материала в указанных направлениях.

При сочетании межвидовой гибридизации и полиплоидии с привлечением в скрещиваниях высокоурожайных форм, содержащих большое количество соцветий на растении с высоким числом мутовок (10 шт.) и цветков в мутовке (30 шт.) уже в первом гибридном поколении удалось реализовать высокий эффект гетерозиса по урожаю цветочного сырья. Впервые в СССР удалось создать константные высоколиналоольные (до 73,1%) гибриды с одним геномом *L. angustifolia* и двумя – *L. latifolia*. Лучшие из них – №11.11 и №12.8 - позволяют получать до 256–312 кг эфирного масла с гектара, что на 180-195% превышает показатели районированного лавандина сорта Темп. Программа создания межвидовых гибридов, сочетающих высокую урожайность и масличность с заданными компонентами эфирного масла, включает в качестве родителей диплоидные и индуцированные полиплоидные формы двух видов лаванды – *L. angustifolia* и *L. latifolia*. Создание впервые в мировой практике фертильного амфидиплоида А5 и вовлечение его в скрещивания обеспечивает в гибридном потомстве  $F_1$  проявления значительного гетерозисного эффекта по продуктивности, а особенность генетической структуры по генам, контролирующим синтез основных компонентов эфирного масла (гомозиготность по доминантному аллелю - линалоол, и двойная доза гена), позволяют получать гибридное потомство с достаточным количеством (до 30%) высоколиналоольных генотипов при скрещивании с линалоольной формой *L. latifolia* К9.



**Рис. 4. Схема создания нового исходного материала для селекции лаванды методами полиплоидии и межвидовой гибридизации**

Высокий уровень масличности в гибридном потомстве (в среднем до 11%), верхний предел – 16%) обеспечивается генотипом высокомасличной (до 13%) отцовской формы A11.82. Материнская форма *L. angustifolia* K21.02, обладающая высокой продуктивностью и высоким качеством эфирного масла, обусловленное наличием у нее доминантных генов, контролирующих синтез линалилацетата, нерола и гераниола, обеспечивают высокое качество эфирного масла гибридного потомства F<sub>1</sub>. При скрещивании высокомасличной и высокоурожайной по цветочному сырью, обладающей повышенным содержанием линалилацетата, тетраплоидной формы *L. angustifolia* T30.37 с высокомасличной и засухоустойчивой амфидиплоидной линией (sI; или s2 Амф. 11.87) возможно получение гибридного потомства F<sub>1</sub>, которое, наряду с высокой

масличностью, обладает повышенной засухоустойчивостью и высоким содержанием линалилацетата (более 70%). Разработана также схема создания гетерозисных высокопродуктивных гибридов с тремя геномами *L. latifolia*, пригодных для использования в медицине и фармацевтической промышленности. Таким образом, сочетание в одном генотипе лаванды нескольких хозяйственно ценных признаков (высокое содержание линалилацетата, линалоола и низкое – цинеола и камфары, высокая масличность, повышенная засухо- и морозоустойчивость) возможно путем подбора исходных родительских форм как на диплоидном уровне, так и путем специального их получения колхицинированием. Синтетически созданные родители должны обладать комплексом доминантных генов, обеспечивающих формирование перечисленных признаков. На полиплоидном уровне необходимо проводить семенное размножение уникальных амфидиплоидных генотипов в связи с константностью хозяйственно ценных признаков у них.

### Выводы

Анализ различных методов показал, что основным направлением в создании высокопродуктивных сортов лаванды должна стать межвидовая гибридизация с использованием диплоидных и индуцированных полиплоидных форм.

На основании генетических исследований предложены схемы скрещивания родительских пар для выведения высокопродуктивных сортов (гибридов) лаванды с комплексом утилитарных признаков.

Установлен генотип видов и форм лаванды, используемых в селекционно-генетических исследованиях (*L. angustifolia* и *L. latifolia*) по генам, контролирующим синтез основных компонентов эфирного масла (линалоол, линалилацетат, камфора, борнеол, цинеол).

Изучены закономерности структурных элементов продуктивности у лаванды. Составлена математическая модель продуктивности, показывающая взаимосвязь ее элементов. Выявлен эффект гетерозиса по продуктивности у аллотриплоидов, объединяющих геномы двух различных видов лаванды – *L. angustifolia* и *L. latifolia*.

Доказана перспективность использования в селекции лаванды комплекса генетических методов – межвидовой гибридизации, полиплоидии, инбридинга – для улучшения утилитарных признаков исходного материала. Это позволило дифференцированно подойти к решению задач промышленного производства, а также наметить пути для дальнейшего совершенствования используемых методов селекции лаванды.

**Список литературы**

1. Афифи А., Эйзен С. Статистический анализ: Подход с использованием ЭВМ. – М.: Мир, 1982. – 488 с.
2. Буюкли М. Лаванда и ее культура в СССР. – Кишинев: Картя Молдавеняскэ, 1969. – 326 с.
3. Демьянов Н.Д., Нилов В.И., Вильямс В.В. Эфирные масла, их состав и анализ. – М.-Л., 1933. – С. 55.
4. Доспехов В.А. Методика полевого опыта. – М.: Колос, 1985. – 424с.
5. Иванов Н.Н. Методы биохимии и физиологии. – М.- Л., 1946. –268 с.
6. Карпеченко Г.Д. Теория отдаленной гибридизации // М.-Л.: Сельхозгиз ОГИЗ, 1935, 65 с.
7. Лиела И.Я. Методологический комплекс для экологического изучения биологических систем // Общая биология. – 1980. – 41, №3. – С. 363-371.
8. Лиела И.Я. Моделирование и прогнозирование в ботанике // Учен. Зап. Латв. Ун-та. – 1971. – Т. 153. – С. 36-40.
9. Машанов В.И. Итоги селекции лавандина // Тр. Никит. ботан. сада. – Ялта, 1987. – Т. 103. – С. 7-31.
10. Нестеренко П.А. Лаванда и лавандины // Тр. Никит. ботан. сада. – Ялта, 1939. – Т. 18, Вып. 2. – С. 76.
11. Нестеренко П.А. Селекция лавандинов // Тр. Гос. Никит. Ботан. сада. – 1947. – Т. 24, Вып. 2. – С. 8.
12. Нестеренко П.А., Книшевецкая Т.И. О методах селекции эфиромасличных культур // Определение содержания масла *Lavandula vera* DC. по железкам // Соц. растениеводство. – 1934. – № 12. – С. 37-46
13. Нилов В.И. Биохимия лаванды // Биохимия культурных растений. – М.- Л., 1938. – Т.6. – С. 5–30.
14. Работягов В.Д. Преодоление стерильности у лавандинов (*L. angustifolia* Mill. и *L. latifolia* Medic.) // Цитология и генетика. –1975. – Т. 9, №5. – С. 443-446.
15. Работягов В.Д. Проблема синтеза лавандина // Тр. Никит, ботан. сада. – 1983. – Т. 91. – С. 92-101.
16. Работягов В.Д. Способ отбора высокопродуктивных форм лаванды. – А.с. №1421279 на изобр., выд. 8 мая 1988.
17. Работягов В.Д. Экспериментальная полиплоидия у лаванды настоящей: Автореф дисс... канд. биол. наук: спец. 03.00.05. «Ботаника». – Донецк, 1972. – 22 с.
18. Работягов В.Д., Акимов Ю.А. Наследование содержания и состава эфирного масла у тетра- и сесквидиплоидов лаванды // Генетика. – 1990. –Т. 6. –С. 283-291.

19. Работягов В.Д., Акимов Ю.А. Наследование содержания и состава эфирного масла при межвидовой гибридизации лаванды // Генетика. – 1986. – Т. 22, № 6. – С. 1163-1172.
20. Резникова С.А., Бугаенко Л.А. Методические рекомендации по подбору родительских пар при межвидовых скрещиваниях у мяты. – М., 1985. – 22 с.
21. Романенко Л.Г. Характеристика коллекционных клонов лаванды по урожаю соцветий в онтогенезе // Селекция и семеноводство. – 1981. – Вып. 47. – С. 30–33.
22. Романенко Л.Г., Буюкли С.М. Лабильность способов опыления у лаванды настоящей // Селекция, технология возделывания и переработки эфирносонов. – Симферополь, 1980. – Т. 13. – С. 19–22.
23. Савченко В.К. Ассоциированный отбор и его роль в эволюции и селекции // Общая биология. – 1980. – Т. 41, №3. – С. 405-417.
24. Чувашина Н.П. Отдаленная гибридизация и экспериментальная полиплоидия в роде *Ribes*: автореф. дис. д-ра биол наук. спец: 03.00.05 - ботаника – М.: ГБС АН СССР, 1973. – 38 с.
25. Шоферистова Е.Г., Работягов В.Д., Машанов В.И. Органогенез и биология цветения лаванды и лавандина // Ботан. журнал. – 1977. – Т. 62. – С. 1479-1491.
26. Abrial C. et Gettefosse R.M. Lavandins La parfumerie moderne. – 1937, V. 31, № 4. – P. 133-139.
27. Devetak Z. Selekcija lavande i lavandina // Rodovi Pojoprivrednoge Fakulteti Universiteta u Srajevi. – 1971/1972. – V. 20/21. – №22/23. – P. 165.
28. Maia E. Contribution a l'amelioration de letal sanitaire du Lavandin clone ABRIAL // Ann. Phytopathol. – 1973. – V.5, №2. – P. 115-124.
29. Maia N. Beck A., Marais et al. La selection du lavandin // Riv. Italians. – 1981. V. 63, N 3. – P. 163-167.
30. Martin C., Zola A. Etude sur le nouvelles varietes de Lavandin // Rivista Italiana. – 1975. – V. 55, № 5. – P. 291-298.
31. Paris R., Dilleman G. Le probleme du Lavandin et les lois de l'hybridation La France ses Parfums. – 1950. – № 13. – P. 14-21.
32. Rabotyagov V.D. Overcoming sterility in Lavandins (*L. angustifolia* × *L. latifolia*) Cytology and genetics. – 1975.– 9(5). – P. 57-60.
33. Vinot M., Bouscary A. Etudes sur la Lavande. VI. Les hybrides // Recherches. – 1971. – Vol. 18. – P. 29–44.
34. Vinot M., Bouscary A. Etudes sur la Lavande. V // Population et selections Recherches. – 1969. – Vol. 17. – P. 55–74.