

УДК 631.523:633.264

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕЖРОДОВОГО ГИБРИДА ЖИТНЯКА ГРЕБЕНЧАТОГО (*AGROPYRON CRISTATUM* L.) С РАЙГРАСОМ ПАСТБИЩНЫМ (*LOLIUM PERENNE* L.)

И.П. КОНДРАЦКАЯ¹, А.Н. ЮХИМУК¹, В.А. СТОЛЕПЧЕНКО², О.В. ЧИЖИК¹, М.О. БЕЛЯЙ², П.П. ВАСЬКО², В.Н. РЕШЕТНИКОВ¹

¹Государственное научное учреждение «Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси»
220012 Беларусь, Минск, ул. Сурганова, 2в
e-mail: ikondratskaya@mail.ru

²Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по земледелию»
220160 Беларусь, Жодино, ул. Тимирязева, 1

Созданы фертильные межродовые гибриды житняка гребенчатого (*Agropyron cristatum* L.) с райграсом пастбищным (*Lolium perenne* L.). Проведено мультилокусное ДНК-маркирование житняка с использованием RAPD- и ISSR-прайм-меров, которое дало возможность дифференцировать все исследованные генотипы. Разработаны и составлены уникальные профили для каждого из них. На основании полученных мультилокусных RAPD/ISSR-спектров для исследованных образцов составлены генетические паспорта.

Ключевые слова: *Agropyron cristatum* L., *Lolium perenne* L., межродовые гибриды, про-постгамная несовместимость, RAPD-ПЦР и ISSR-ПЦР анализ, молекулярно-генетическая паспортизация.

В решении проблемы продовольственной безопасности первостепенная роль отводится дальнейшему развитию животноводства, успех которого зависит от создания качественно новой кормовой базы. Средняя продуктивность луговых угодий в хозяйствах Республики Беларусь составляет 2800—3200 кг/га кормовых единиц, на песчаных почвах — 1800—2000 кг/га. В южных областях республики почти ежегодно наблюдаются засухи, которые приводят к выгоранию пастбищных травостоев на супесчаных почвах Полесья. Негативные воздействия засушливых условий особенно выражены на легких по гранулометрическому составу почвах Гомельской, Брестской и части Могилевской областей. Среди многолетних злаковых трав житняк гребенчатый (*Agropyron cristatum* L.) отличается засухо- и морозоустойчивостью, одним из первых вступает в вегетацию. Райграс пастбищный (*Lolium perenne* L.) является высокоурожайным злаком высокого качества. В связи с этим была поставлена задача создать

новый сорт многолетнего злака, который будет формировать продуктивные раннеспелые травостой на почвах легкого гранулометрического состава с неустойчивым водным режимом в условиях Беларуси.

В рамках выполнения задания «Создать фертильные межродовые гибриды житняка (*Agropyron cristatum* L.) с райграсом пастбищным (*Lolium perenne* L.) и идентифицировать гены-источники высокой продуктивности для селекции житняка с использованием геномной и клеточной биотехнологии» сотрудники Государственной научно-технической программы «Агропромкомплекс 2020», Республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию» и Государственного научного учреждения «Центральный ботанический сад НАН Беларуси» впервые в Беларуси начали работы по созданию межродового гибрида житняка (*Agropyron cristatum* L.) с высокой продуктивностью.

На сельскохозяйственных угодьях Беларуси житняк гребенчатый пока не культивируется.

Согласно современным положениям международного союза селекционеров [1], а также международным правовым документам о защите авторских прав, главным признаком нового сорта являются постоянные морфологические или иные его отличия от уже существующих сортов и гибридов. Поэтому задачи, поставленные при выведении нового сорта, решаются различными методами в связи с новыми требованиями к сортам при создании высокопродуктивных, устойчивых к экстремальным условиям среды и вредителям, пластичных, зимостойких, долголетних и специализированных сортов многолетних злаковых трав. Наряду с традиционными методами широко используются селекционные методы создания сложногибридных популяций (поликросса), экспериментальной полиплоидии, химического мутагенеза и отдаленной гибридизации.

Для создания межродовых гибридов житняка (*Agropyron cristatum* L.) с райграсом пастбищным (*Lolium perenne* L.) авторами модифицированы методики геномной и клеточной биотехнологии селекции многолетних злаковых трав на основе дубликации генома и интрогрессивной гибридизации с использованием ДНК-маркирования с целью целенаправленного преобразования генома, расширения генофонда исходного материала и повышения эффективности селекции.

Методика

Объектами исследования были выбраны родительские формы: житняк гребенчатый сорт Петровский, житняк ширококолосый сорт Батыр, житняк Павловский 12, житняк дикорастущий, райграс пастбищный № 38, райграс пастбищный Гусяр, райграс пастбищный Гаспадар.

Селекция многолетних трав осуществлялась согласно методическим рекомендациям Всероссийского института кормов им. В.Р. Вильямса. Использовали методы селекции межродовой гибридизации, индивидуального и семейственно-группового отборов в естественных условиях [2, 3].

Во время культивирования изолированных зародышей из незрелой зерновки использовали простую минерально-сахарозную среду с витаминами и регуляторами роста, поскольку биологически активные вещества часто вызывают появление ненормальных форм с искаженными отдельными органами и каллюсообразованием. Зародыши выделяли из незрелой зерновки в стерильных условиях после обработки 70 %-м этанолом. Дорастивание зародышей проводили в стерильных условиях в термостатах INCUCELL при температуре 24 °С до появления проростков, после чего пробирки переставляли в световую культуральную комнату с режимом 16-часового фотопериода с освещенностью 8000 люкс и температурой 20—22 °С.

Препараты тотальной ДНК получали из семян трех сортов образцов: 8.8, 10.13 и 13.17. Для оптимизации процесса изоляции ДНК проводили в четырех повторностях для каждого сорта образца с использованием коммерческого набора реактивов Plant DNA Preparation Kit (Jena Bioscience, Германия) по прилагаемой методике с некоторыми модификациями. В трех биологических повторностях тотальную ДНК выделяли из одной зерновки. Такие повторности для каждого сорта образца маркировали цифровым кодом: *-1.1, *-1.2, *-1.3, где * — номер сорта образца; первая цифра после дефиса (*-1._) обозначает повторность, состоящую из одной зерновки; вторая цифра после дефиса (*-_.1 (2, 3)) — номер биологической повторности. Например, запись 8.8-1.1 маркирует первую повторность препарата ДНК, полученного из одной зерновки сорта образца 8.8. Одновременно формировали контрольную повторность, состоящую из трех зерновок (bulk sample). Ее маркировали цифровым кодом *-3.1.

Качественный анализ препаратов ДНК проводили по соотношению A_{260}/A_{280} и A_{260}/A_{230} , где A_{260} — экстинкция, обусловленная абсорбцией растворенной ДНК световых волн длиной 260 нм; A_{280} — экстинкция, обусловленная белками; A_{230} — экстинкция, обусловленная веществами фенольной природы. Высококачественными считались препараты ДНК с соотношениями $A_{260}/A_{280} \geq 1,6$ и $A_{260}/A_{230} \geq 1,4$.

Мультилокусное ДНК-маркирование проводили с использованием техники полимеразной цепной реакции (ПЦР). На основании литературных данных отобрали пул праймеров, которые были протестированы на предмет получения высокополиморфных воспроизводимых маркеров. Для маркирования сортов образцов житняка отобрали мультилокусные праймеры, маркирующие произвольные (RAPD-техника) и межмикросателлитные (ISSR-техника) участки ДНК [4—7].

ПЦР проводили в термоциклере SureCycler 8800 (Agilent) при следующих режимах:

для RAPD-ПЦР

95 °С — 3 мин } начальная денатурация

95 °С — 30 с

T_a — 30 с } 40 циклов

72 °С — 2 мин } финальная элонгация

4 °С — хранение

для *ISSR-ПЦР*

95 °С — 3 мин } начальная денатурация

95 °С — 30 с

T_a — 30 с } 30 циклов

72 °С — 1 мин

72 °С — 7 мин } финальная элонгация

4 °С — хранение,

T_a — температура отжига, при которой праймер комплементарно связывается с ДНК-матрицей. Обычно она на 2–3 °С ниже температуры плавления (T_m) праймера, которая, в свою очередь, зависит от его нуклеотидного состава.

Продукты амплификации при подборе праймеров разделяли посредством агарозного (1–2 %-го) гель-электрофореза и визуализировали на приборе VersaDoc (Bio-Rad), предварительно окрашивая 1 %-м раствором этидиум бромид. Продукты амплификации, получаемые при проведении ПЦР с отобранными праймерами, визуализировали на генетическом анализаторе Bioanalyzer-2100 (Agilent) с использованием DNA 7500 Series Kit.

Результаты и обсуждение

С целью создания межродовых гибридов было проведено восемь комбинаций скрещиваний в полевых условиях. Зародыши, изолированные на ранних стадиях развития из незрелого семени через 16 сут после оплодотворения, имеют малые размеры, поэтому их культивирование связано с определенными технологическими трудностями. Сложным является также подбор питательной среды, которая должна обеспечить развитие зародыша (рис. 1).

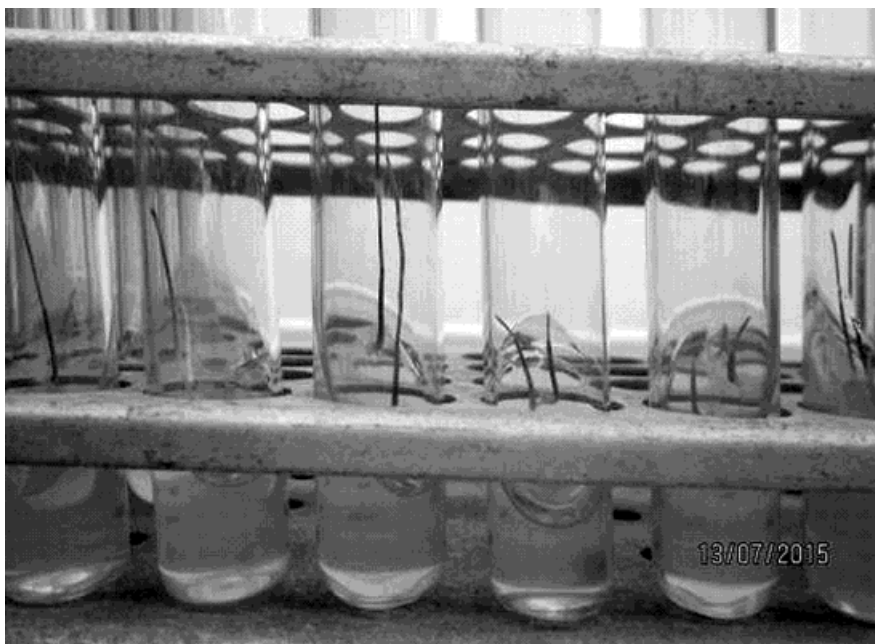


Рис. 1. Зародыши, высаженные на питательную среду

ТАБЛИЦА 1. Результативность создания межродовых гибридов житняка гребенчатого в полевых условиях

Комбинация	Высажено зародышей в среду МС, шт.	Высажено зародышей в среду Биона, шт.	Получено растений, шт.
6; 7; 6+; 8; 9; 10; 11; 12	289	168	126

В результате проведения биотехнологических работ была преодолена прогамная несовместимость, у межродовых гибридов житняка гребенчатого выделены зародыши и высажены на питательную среду, преодолена постгамная несовместимость и получены фертильные растения межродовых гибридов житняка. Результативность создания межродовых гибридов представлена в табл. 1.

В селекции на кормовое использование в процессе вегетации и при структурном анализе учитывали 36 количественных и качественных показателей, в том числе по основным признакам кормовой и семенной продуктивности. Фенологические наблюдения включают определение основных фаз развития многолетних злаковых трав. Проводили биохимические анализы селекционного материала, оценивали поражения и устойчивость образцов к болезням.

В вегетационный период в полевых условиях в апреле была проведена оценка перезимовки гибридных растений житняка, которая оказалась значительно более высокой по сравнению с перезимовкой райграса пастбищного. Растения житняка раньше райграсов начали вегетацию и к 30 апреля высота растений уже достигала 14–16 см (рис. 2). В неблагоприятных условиях вегетационного периода 2015 г. (холодная и поздняя весна) и 2018 г. (засушливые май и июнь) житняк имел значительные преимущества в формировании надземной



Рис. 2. Перезимовка растений в 2015 г.:

1–5 — житняк гребенчатый; 6, 7 — райграсс; 8 — коострец

массы при изучении в сенокосном режиме использования в первом укосе.

В результате комплексной оценки созданных форм межродовых гибридов житняка гребенчатого с райграсом пастбищным отобраны морфотипы с высокой продуктивностью, что позволило сформировать сортопопуляции житняка с содержанием сухого вещества выше $0,8 \text{ кг/м}^2$ за вегетацию. Проведение учетов нарастания надземной массы растений житняка в течение вегетации показало, что сортообразцом № 8 накоплено $3,53 \text{ кг/м}^2$ зеленой массы, сортообразцом № 10 — $3,55$, сортообразцом № 13 — $3,40 \text{ кг/м}^2$. В течение всего периода вегетации образовывались генеративные побеги с максимальным их количеством в первом укосе $380\text{—}420 \text{ шт/м}^2$ и снижением этого показателя в последующих укосах. Показатель облиственности в одновидовых посевах житняка увеличился у всех изученных сортообразцов от начала к концу вегетации.

Количественный анализ общих растворимых белков показал наибольшее их содержание в сортообразце № 13 во всех укосах (рис. 3).

Для проведения молекулярно-генетической паспортизации исследуемых генотипов были отобраны праймеры, обладающие достаточным полиморфизмом и имеющие воспроизводимую амплификационную активность. В общей сложности для генотипирования сортообразцов житняка гребенчатого было отобрано 4 RAPD-праймера и 7 ISSR-праймеров.

Все использованные в исследовании праймеры генерировали четкие воспроизводимые маркеры, набор которых для каждого изучаемого генотипа характеризовался уникальностью (рис. 4). После номера сортообразца через дефис указан номер биологической повторности; Ladder — маркер молекулярной массы.

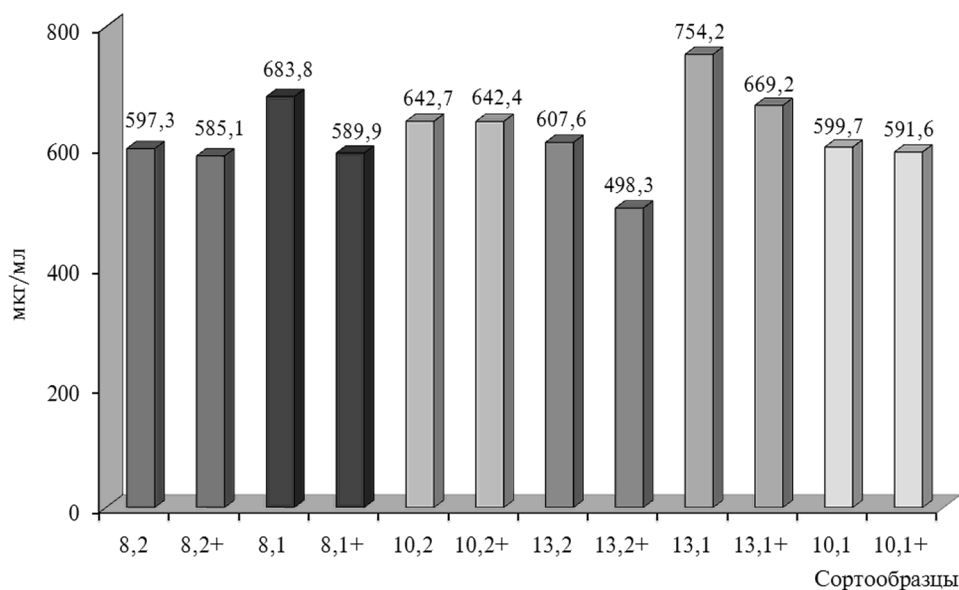
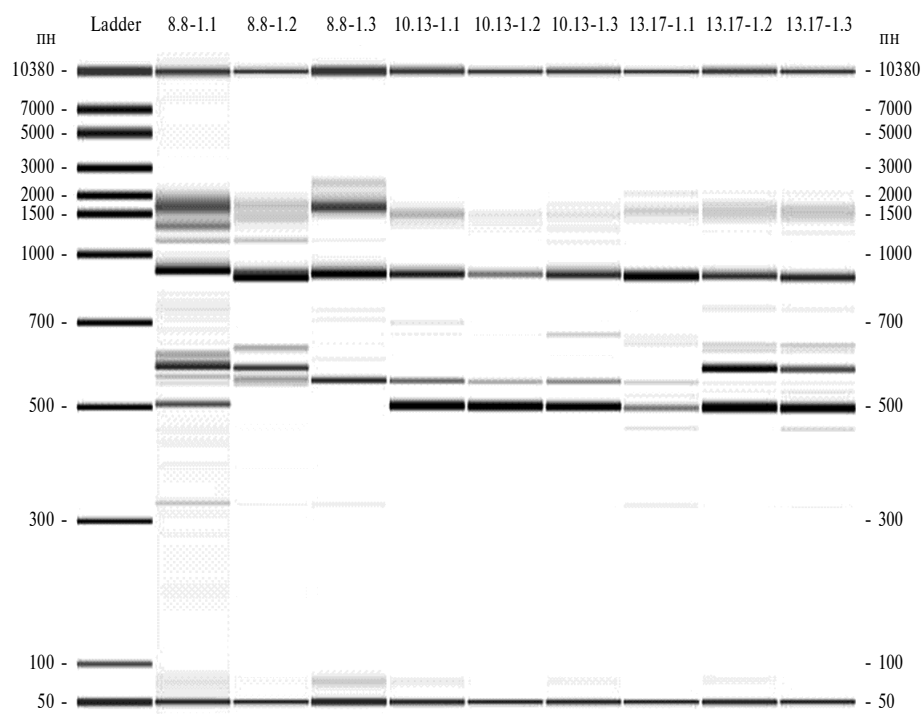
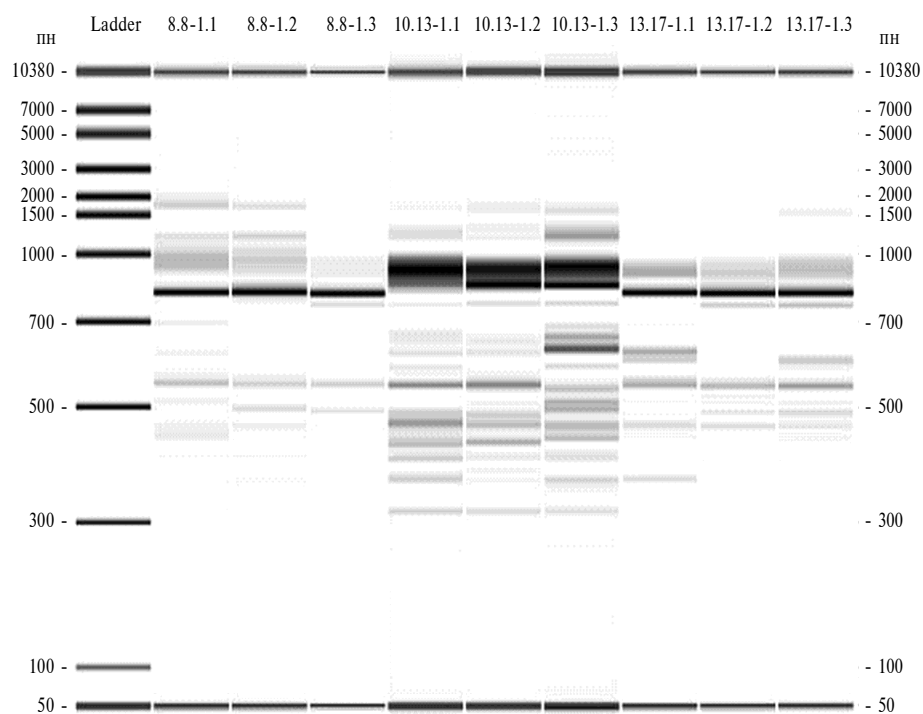


Рис. 3. Количественное содержание общего белка в сортообразцах житняка гребенчатого в двух укосах (+ — второй укос)



a



б

Рис. 4. Электрофоретическое разделение продуктов амплификации тотальной ДНК трех сортообразцов 8.8, 10.13 и 13.17 житняка гребенчатого с праймерами OPB-08 (*a*) и UBC-818 (*б*)

Для сортообразцов житняка гребенчатого максимальное количество локусов (ДНК-маркеров) — 19 было идентифицировано с помощью праймера UBC-827, минимальное — 7 — с использованием праймеров OPC-05 и UBC-836. Всего идентифицировано 157 локусов (ДНК-маркеров) — 52 для RAPD-ПЦР и 105 для ISSR-ПЦР. Для каждого праймера рассчитан показатель R_p , отражающий разрешающую способность праймера [8]. Максимальной разрешающей способностью обладал праймер UBC-817 (10,0), минимальной — праймер UBC-836 (2,0). Из всего пула маркеров 104 оказались полиморфными. По обеим ПЦР-техникам выявлен достаточный уровень полиморфизма у исследованных сортообразцов житняка — в среднем 66,24 %. Максимальным он был при использовании праймеров UBC-807 и UBC-808 (80,00 %), минимальным — при использовании праймера UBC-836 (табл. 2).

На основании 52 RAPD-маркеров и 105 ISSR-маркеров рассчитаны генетические дистанции и произведена кластеризация исследованных сортообразцов рода житняк (*Agropyron Gaertn.*) по методу UPGMA. По полученным данным сконструированы отдельные дендрограммы для каждой маркерной системы RAPD и ISSR (рис. 5, а, б), а также консенсусная (RAPD + ISSR) дендрограмма (рис. 5, в). Результаты RAPD и ISSR генотипирования выявили различную топологию изученных сортообразцов. Это можно объяснить тем, что эти маркерные системы амплифицируют различные участки ДНК. С помощью комплексного RAPD + ISSR анализа данных уточнены топология и генетические взаимосвязи исследованных сортообразцов. Узлы, имеющие достоверную топологию (более 50 %), обозначены соответствующим значением bootstrap-анализа (2000 реплик) в процентах.

ТАБЛИЦА 2. Уровни полиморфизма, выявляемые праймерами, использованными для молекулярно-генетической паспортизации сортообразцов житняка гребенчатого

Праймер	Количество маркеров	Количество полиморфных маркеров	Уровень полиморфизма, %
OPB-08	16	11	68,75
OPC-05	7	5	71,43
OPD-07	12	6	50,00
OPP-09	17	11	64,71
RAPD	52	33	62,00
UBC-807	10	8	80,00
UBC-808	15	12	80,00
UBC-812	15	7	53,33
UBC-817	21	15	71,43
UBC-818	18	12	66,67
UBC-827	19	14	73,68
UBC-836	7	3	42,86
ISSR	105	71	67,62
Всего	157	104	66,24

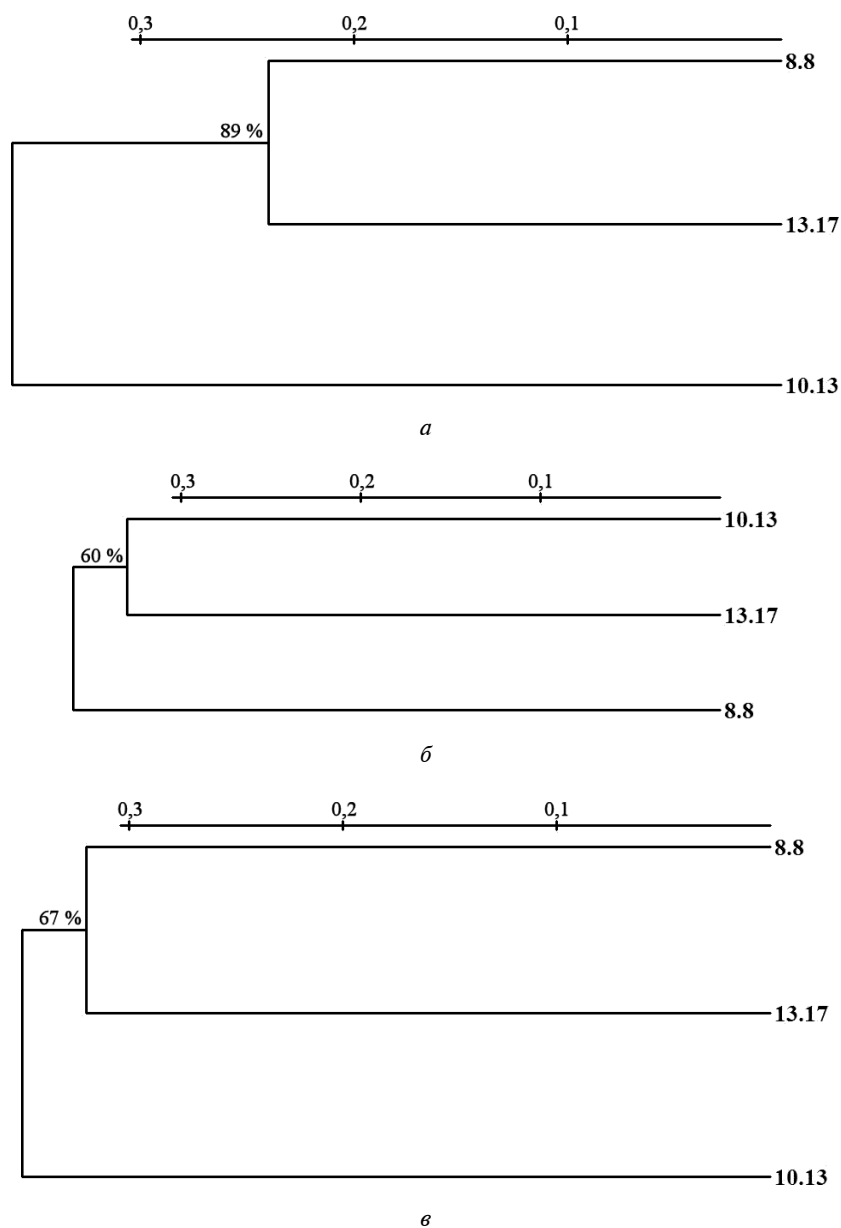


Рис. 5. Дендрограммы, отражающие степень генетического сходства между тремя сортообразцами рода житняк (*Agropyron* Gaertn.) на основе 52 маркеров (RAPD) (а), (ISSR) (б) и (RAPD + ISSR) (в)

На основании полученных мультилокусных RAPD/ISSR-спектров для исследованных образцов составлены генетические паспорта. В табл. 3 приведен генетический паспорт для сортообразца 13.7.

Таким образом, на основе межродовой гибридизации с использованием геномной и клеточной биотехнологий создан качественно новый исходный материал житняка гребенчатого, проведены его идентификация и оценка по хозяйственно-ценным признакам, выделены и включены в селекционный процесс перспективные морфотипы. Новый исходный материал обладает высокими зимостойкостью,

ТАБЛИЦА 3. Мультилокусный генетический паспорт сортообразца 13.17

Праймер	Маркер
RAPD	
ОРВ-08 (В08)	В08 ₃₃₀ , В08 ₄₆₅ , В08 ₅₀₅ , В08 ₅₃₅ , В08 ₅₆₅ , В08 ₅₉₀ , В08 ₆₄₀ , В08 ₇₆₀ , В08 ₉₁₀ , В08 ₁₁₆₅ , В08 ₁₂₇₅ , В08 ₁₅₁₅
ОРС-05 (С05)	С05 ₆₀₀ , С05 ₁₁₄₅ , С05 ₁₆₇₀
ОРД-07 (D07)	D07 ₅₁₅ , D07 ₅₆₀ , D07 ₆₀₅ , D07 ₆₈₀ , D07 ₈₃₀ , D07 ₉₅₅ , D07 ₁₂₂₅ , D07 ₁₅₄₅ , D07 ₁₈₄₀
ОРР-09 (Р09)	Р09 ₆₅₀ , Р09 ₆₈₅ , Р09 ₇₃₀ , Р09 ₇₅₅ , Р09 ₉₆₀ , Р09 ₁₁₃₅ , Р09 ₁₂₉₅ , Р09 ₁₄₉₀
ISSR	
УВС-807 (807)	807 ₃₄₀ , 807 ₃₇₀ , 807 ₄₇₅
УВС-808 (808)	808 ₃₇₅ , 808 ₄₈₅ , 808 ₅₅₅ , 808 ₆₅₀ , 808 ₈₈₀ , 808 ₉₁₀
УВС-812 (812)	812 ₃₂₅ , 812 ₄₀₅ , 812 ₄₆₅ , 812 ₄₉₅ , 812 ₅₂₅ , 812 ₅₅₅ , 812 ₆₁₀ , 812 ₆₃₀ , 812 ₆₆₀ , 812 ₇₂₀ , 812 ₈₅₅
УВС-817 (817)	817 ₄₀₅ , 817 ₅₁₅ , 817 ₅₆₅ , 817 ₅₉₅ , 817 ₆₃₅ , 817 ₆₆₀ , 817 ₇₀₀ , 817 ₈₁₅ , 817 ₈₅₅ , 817 ₁₀₈₀
УВС-818 (818)	818 ₃₇₅ , 818 ₄₇₀ , 818 ₄₉₅ , 818 ₅₁₀ , 818 ₅₂₅ , 818 ₅₅₅ , 818 ₆₁₀ , 818 ₆₃₅ , 818 ₇₆₅ , 818 ₈₃₀ , 818 ₉₂₅
УВС-827 (827)	827 ₃₀₅ , 827 ₃₉₀ , 827 ₄₀₅ , 827 ₄₂₀ , 827 ₅₃₅ , 827 ₅₅₅ , 827 ₅₈₀ , 827 ₆₄₀ , 827 ₇₄₅ , 827 ₇₈₅ , 827 ₈₂₀ , 827 ₈₇₅
УВС-836 (836)	836 ₃₁₅ , 836 ₃₃₀ , 836 ₃₇₀ , 836 ₄₀₅ , 836 ₄₇₀ , 836 ₅₃₀

засухоустойчивостью, долголетием, интенсивным формированием надземной массы в начале вегетации по сравнению с райграсом пастбищным. По урожайности сухого вещества зеленой массы за вегетацию он превосходит сорта Бурабай и Батыр (Казахстан). Включение новой культуры в селекционный процесс даст возможность создать сорта житняка, обеспечивающие формирование продуктивных раннеспелых травостоев на почвах легкого гранулометрического состава с неустойчивым водным режимом в условиях Республики Беларусь.

Проведенное мультилокусное ДНК-маркирование житняка с использованием RAPD- и ISSR-праймеров позволило дифференцировать все исследованные генотипы, разработать и составить уникальные профили для каждого из них. Впервые составлены генетические паспорта житняка гребенчатого.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Международный союз по охране новых сортов растений. Женева, 2015. 110 с.
2. Методические указания по селекции многолетних трав. Москва: ВНИИК, 1985. 188 с.
3. Смурьгин М.А., Новоселова А.С., Константинова А.М. Методические указания по селекции многолетних трав. Москва, 2006. 186 с.
4. Gadagnuolo R., Savova-Bianchi D., Felber F. Gene flow from wheat (*Triticum aestivum* L.) to jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica* Host.), as revealed by RAPD and microsatellite markers. *Theor. and Appl. Genet.* 2001. **103**. P. 1–8.
5. Carvalho A., Matos M., Lima-Brito J., Guedes-Pinto H., Benito C. DNA fingerprint of F₁ interspecific hybrids from the *Triticeae* tribe using ISSRs. *Euphytica*. 2005. **143**. P. 93–99.
6. Paākinskiene I., Griffiths C.M., Bettany A.J.E., Paplauskienė V., Humphreys M.W. Anchored simple-sequence repeats as primers to generate species specific DNA markers in *Lolium* and *Festuca* grasses. *Theor. and Appl. Genet.* 2000. **100**. P. 384–390.

7. Arghavani A., Asgharu A., Shokrpour M., Chmanabad M. Genetic diversity in ecotypes of two *Agropyron* species using RAPD markers. *Res. J. of Environmental Sci.* 2010. **4**, N 1. P. 50–56.
8. Prevost A., Wilkinson M.J. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theor. and Appl. Genet.* 1999. **98**. P. 107–112.

Получено 31.07.2018

REFERENCES

1. International union for the protection of new varieties of plants (2015). Geneva [in Russian].
2. Methodical instructions for the selection of perennial grasses (1985). Moscow [in Russian].
3. Smurygan, M.A., Novoselova, A.S. & Konstantinova, A.M. (2006). Methodical instructions on the selection of perennial grasses. Moscow [in Russian].
4. Guadaluolo, R., Savova-Bianchi, D. & Felber, F. (2001). Gene flow from wheat (*Triticum aestivum* L.) to jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica* Host.), as revealed by RAPD and microsatellite markers. *Theor. and Appl. Genet.*, 103, pp. 1-8.
5. Carvalho, A., Matos, M., Lima-Brito, J., Guedes-Pinto, H. & Benito, C. (2005). DNA fingerprint of F₁ interspecific hybrids from the Triticeae tribe using ISSRs. *Euphytica*, 143, pp. 93-99.
6. Paāakinskiene, I., Griffiths, C.M., Bettany, A.J.E., Paplauskiene, V. & Humphreus, M.W. (2000). Anchored simple-sequence repeats as primers to generate species specific DNA markers in *Lolium* and *Festuca* grasses. *Theor. and Appl. Genet.*, 199, pp. 384-390.
7. Arghavani, A., Asgharu, A., Shokrpour, M. & Chmanabad, M. (2010). Genetic diversity in ecotypes of two *Agropyron* species using RAPD markers. *Res. J. of Environmental Sci.*, 4, No. 1, pp. 50-56.
8. Prevost, A. & Wilkinson, M.J. (1999). A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theor. and Appl. Genet.*, 98, pp. 107-112.

Received 31.07.2018

ФІЗИОЛОГО-БІОХІМІЧНА І МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА МІЖРОДОВОГО ГІБРИДА ЖИТНЯКА ГРЕБІНЧАСТОГО (*AGROPYRON CRISTATUM* L.) ІЗ ПАЖИТНИЦЕЮ БАГАТОРІЧНОЮ (*LOLIUM PERENNE* L.)

І.П. Кондрацька¹, А.М. Юхимук¹, В.А. Столепченко², О.В. Чижик¹, М.О. Белій², П.П. Васько², В.М. Решетников¹

¹Державна наукова установа «Центральний ботанічний сад Національної академії наук Білорусі», Мінськ

²Республіканське унітарне підприємство «Науково-практичний центр Національної академії наук Білорусі по землеробству», Жодино

Створено фертильні міжродові гібриди житняка гребінчастого (*Agropyron cristatum* L.) із пажитницею багаторічною (*Lolium perenne* L.). Проведено мультилокусне ДНК-маркування житняка з використанням RAPD- і ISSR-праймерів, що дало змогу диференціювати всі досліджені генотипи. Розроблено і складено унікальні профілі для кожного з них. На основі отриманих мультилокусних RAPD/ISSR-спектрів для досліджених зразків складено генетичні паспорти.

Ключові слова: *Agropyron cristatum* L., *Lolium perenne* L., міжродові гібриди, про-постгамна несумісність, RAPD-ПЛР і ISSR-ПЛР аналіз, молекулярно-генетична паспортизація.

PHYSIOLOGICAL-BIOCHEMICAL AND MOLECULAR-GENETIC
CHARACTERISTICS OF INTERGENERIC HYBRID OF *AGROPYRON*
CRISTATUM L. WITH *LOLIUM PERENNE* L.

*I.P. Kondratskaya*¹, *A.N. Uzhimyk*¹, *V.A. Stolepchenko*², *O.V. Chizhik*¹, *M.O. Belyaj*²,
*P.P. Vasko*², *V.N. Reshetnikov*¹

¹Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus
2v Surganova St., Minsk, 220012, Belarus
e-mail: ikondratskaya@mail.ru

²Republican unitary enterprise «Research and Practical Center of National Academy of
Sciences of Belarus for Arable Farming»
1 Timiryazeva St., Zhodino, 222160, Belarus

Fertile intergeneric hybrids of *Agropyron cristatum* L. with *Lolium perenne* L. have been created and gene sources of high productivity have been identified. The multilocus DNA marking of Agarwood (*Agropyron cristatum* L.) using RAPD and ISSR primers allowed to differentiate all the investigated genotypes, to develop and compile unique profiles for each of them. The genetic passports for the samples studied have been compiled on the base of multilocus RAPD/ISSR spectra.

Key words: *Agropyron cristatum* L., *Lolium perenne* L., intergeneric hybrids, pro-postgamous compatibility, RAPD-PCR and ISSR-PCR analysis, molecular genetic certification.