

УДК: 582.683.2:635.913:635.92

ГІБРИДИЗАЦІЯ ЛУНАРІЇ У ШТУЧНИХ УМОВАХ ВИРОЩУВАННЯ

Бойка О.А., асистент, Колісник О. А., магістр, Лях В.О., д.б.н., проф.

*Запорізький національний університет, Україна, 69600, м. Запоріжжя, вул. Жуковського, 66
malaja24@gmail.com*

Наведено дані щодо ефективності гібридизації в роді *Lunaria* L. у штучних умовах. Проведено аналіз успішності формування гібридних плодів та насіння за умов схрещування зразків з різним типом розвитку. Виявлено, що внутривидова гібридизація у однорічного виду знаходиться на відносно високому рівні, форма з проміжним типом розвитку однаково добре схрещується з однорічним та багаторічним видами, а багаторічний вид виявив гіршу здатність до формування гібридного насіння. Схрещування за участі багаторічного виду походженням з Франції у якості материнських рослин не дали жодного стручка, в той час як при запиленні пиломком цих рослин однорічного зразка спостерігалось утворення гібридного насіння.

Ключові слова: Lunaria, гібридизація, міжвидові схрещування, штучні умови

ГИБРИДИЗАЦИЯ ЛУННИКА В ИСКУССТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ ВЫРАЩИВАНИЯ

Бойкая Е.А., ассистент, Колесник Е.А., студентка магистратуры, Лях В.А. д.б.н., проф.

Запорожский национальный университет, Украина, 69000, г. Запорожье, ул. Жуковского 66

Приведены данные об эффективности гибридизации в роде *Lunaria* L. в искусственных условиях. Проведен анализ успешности формирования гибридных плодов и семян при условии скрещивания образцов с разными типами развития. Установлено, что внутривидовая гибридизация у однолетнего вида находится на относительно высоком уровне, форма с промежуточным типом развития одинаково хорошо скрещивается с однолетним и многолетним видами, а многолетний вид показал худшую способность формировать гибридные семена. Скрещивания, в которые были вовлечены растения многолетнего вида происхождением из Франции в качестве материнского организма не дали ни единого стручка, в тоже время при опылении их пыльцой однолетнего образца наблюдалось образование гибридных семян.

Ключевые слова: Lunaria, гибридизация, межвидовые скрещивания, искусственные условия

HYBRIDIZATION OF HONESTY UNDER THE ARTIFICIAL GROWTH CONDITIONS

Boika O., assistant, Kolesnik O., MA-student, Lyakh V., doctor of biological sciences, prof.

Zaporizhzhya national university, Ukraine, 69600, Zaporizhzhya, Zhukovskogo Street, 66.

Honesty (*Lunaria* genus) is a perspective and useful plant. This genus belongs to *Brassicaceae* and consists of two species – *Lunaria annua* L. and *Lunaria rediviva* L. Both species grow in Ukraine. *Lunaria annua* L. is an annual (in some north regions biennial) cruciferous garden flower which produces characteristic silver, translucent seed silicula ('Silver Penny'). It is commonly found along roads, in semi-shady places. *Lunaria rediviva* is a perennial plant. Type of plant development is one of the significant differences between these species. There are also some morphological and physiological differences between *L.annua* L. and *L.rediviva* L.

However, honesty is not only valuable ornamental plant, but oilseed crop too. Recently the interest to this plant was increased due to finding a high level of nervonic acid in its oil. Nervonic acid is mono-unsaturated Omega-9 fatty acid. It was found in sphingolipids of white matter human brain. Nervonic acid takes part in biosynthesis of nerve cell myelin. It can be used in treatment of disorders involving demyelination – adrenoleuko-dystrophy, multiple sclerosis, premature birth. The products containing honesty oil are in clinical development.

The aim of this study was to evaluate the results of hybridization in *Lunaria* genus. The crossings were made between samples with different types of development – annual, perennial and intermediate type of plant development and between plants inside of each sample. Plants with intermediate type of development were derived from F₂ generation of interspecies hybrids in *L. annua* × *L. rediviva* cross combination. All crossings were reciprocal. Plants were growing in artificial indoor conditions.

After evaluation of results it was shown that in whole in *Lunaria* genus the crossings under artificial conditions were successful. For crossings the perennial plants from two different populations (France and Ukraine) were taken. The

obtained results were different and depended on from what population of the plants was used. Plants from France formed only the pods under self-pollination and when the pollen from this perennial plant was used for pollination of *Lunaria annua* (10% of successful crossings).

Lunaria rediviva formed the pods when pollen from annual (17% success) and intermediate (90% success) plants was used. These plants showed the good results after self-pollination as well.

It's interesting to note that *Lunaria annua* formed pods in all cross-combinations when it was used as a mother plant. Crossing with perennial plants from Ukraine gave 90% of success. All pods matured and gave the fertile seeds. Pollination by pollen from intermediate plants led to setting of 25% pods.

Plants with intermediate type of plant development set the pods in both crossings with annual and perennial plants. However, it is interesting to note that the crossing with perennial plant (90% pods) was more successful than with annual plants (40% pods). Plants with intermediate type of plant development inherited the cytoplasm from *Lunaria annua* but the percentage of successful crossings with this parental form was lower.

The number of pod set was higher than the number of pods with seeds. In some cases a part of setting pots was empty. So, we can see that success of crossing is evaluating not only as a percentage of pod set, but as a percentage of pods with seeds. In some cross-combinations the percentage of setting pods and the pods with seeds was the same. But in another cases they were not similar. The plants with intermediate type of development formed about 40% of pods after pollination with pollen of annual species, but only half of them was with the seeds. Annual plants also gave a lower percentage of pods with seeds comparing with number of forming pods in case of pollination by pollen of perennial plants from France and pollination by pollen of another annual plants.

Thus, we can say that for all samples the highest percentage of pod set was obtained after self-pollination. The crossings between annual, perennial (from Ukraine) and intermediate plants were successful as well but in less extent. The perennial sample from France failed to cross with the perennial sample from Ukraine and intermediate accession. Work with this crop and hybrids is in progress.

Key words: Lunaria, hybridization, interspecies crossings, artificial conditions

ВСТУП

Лунарія (*Lunaria L.*) – малодосліджена культура і лише нещодавно почала привертати увагу науковців. Ця рослина відома завдяки своєму декоративному значенню. Рослини лунарії можуть вирощуватися в групових посадках і міксбортерах [1]. Найчастіше рослина лунарія вирощується для зимових букетів. Якщо з сухого стручка зняти зовнішні пластинки, залишиться тонка перламутрова перегородка овальної форми. У такому вигляді лунарія слугує чудовою прикрасою сухих букетів. Прозорі «листочки» схожі на маленькі місяці або монетки. Звідси ще одна назва лунарії – «срібний рубль».

На території України зростають два види лунарії. Лунарія оживаюча росте зазвичай у лісах Закарпаття, Прикарпаття, Карпат. В Лісостепу та Степу зустрічається рідко. Лунарію однорічну культивують в садах, звідки вона поширилася в природу [2].

Лунарія – одна з перспективних сільськогосподарських культур. В даний час її широко використовують у різних галузях промисловості. Ця культура є медоносом. Продукти її переробки використовуються при виготовленні масел, фарб, лаків і т. ін. Вона широко використовується в медицині і фармакології. Однак найбільшу цінність представляє жирнокислотний склад олії лунарії. В неї у великій кількості входять ерукова і нервонова кислоти. Вміст нервонової кислоти в олії лунарії істотно більше середнього її вмісту в інших представників родини хрестоцвітих (*Brassicaceae*) [3, 4]. Нервонова кислота приймає участь у біосинтезі мієлінових оболонки нервових клітин та використовується у фармакології для виготовлення ліків від різноманітних хвороб серед яких розсіяний склероз та хвороба Альцгеймера. Тому є всі передумови для більш детального вивчення цієї культури та розширення її генетичної мінливості. Створення нових форм лунарії дозволить інтенсифікувати її використання в усіх галузях господарства.

Метою даної роботи було визначити ефективність гібридизації зразків лунарії з різним типом розвитку у штучних умовах.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Об'єктом досліджень були рослини лунарії однорічної з білим та бузковим забарвленням віночку з колекції Запорізького національного університету; рослини двох зразків лунарії оживаючої з колекції Запорізького національного університету та з одного з ботанічних садів Франції; рослина проміжного типу розвитку, отримана від попередніх міжвидових схрещувань в межах цього роду [5]. Однорічні рослини були висіяні та вирощені в умовах фітотрону з таким розрахунком, щоб час їх квітнення збігся з часом квітнення зразків з багаторічним та проміжним типом розвитку. Ці зразки було пересаджено з польових умов до горщиків з метою отримання їх цвітіння одночасно з цвітінням рослин з однорічним типом розвитку.

Рослини вирощувались у штучних умовах фітотрону при 16-годинному світловому дні. Проводилась гібридизація між рослинами з різним типом розвитку (однорічним, багаторічним та проміжним) у реципрокних комбінаціях, а також в межах одного типу розвитку. Частина квітів залишалась для самозапилення зразків. Етапи схрещування представлено на рисунках 1 та 2. При проведенні схрещувань здійснювалась кастрація материнських квіток з подальшим запиленням пилком іншої рослини [6, 7]. По кожній комбінації проводили по 10 – 12 схрещувань. Враховувалась кількість схрещувань, які призвели до утворення стручків та підраховувалась кількість стручків у яких розвинулось насіння. Отримані дані було оброблено статистично.



Рис. 1 – Кастрація бутону



Рис. 2 – Примусове запилення

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

В даній роботі проводилось схрещування рослин лунарії, що різняться за біологією свого розвитку. Частина зразків зацвітала та відмирала у перший рік життя (однорічний вид), інша частина зацвітала на другий рік (багаторічний вид), проміжна форма зацвітала в перший рік життя та залишалась на другий, коли відбувалось повторне цвітіння і після цього відмирала. Результати проведених схрещувань представлено у таблиці 1.

Як видно з таблиці, відсоток утворених стручків при схрещуванні однорічних рослин між собою був вищим, ніж відсоток достиглих стручків (67% стручків з насінням від загальної кількості утворених стручків). Таким чином, внутрішньовидова гібридизація у лунарії однорічної у штучних умовах знаходиться на достатньому рівні (40% вдалих схрещувань).

Рослини однорічного виду, що використовувалися в якості материнських, виявили здатність утворювати стручки в усіх комбінаціях схрещування з рослинами інших типів розвитку. Найвищим виявився відсоток утворених стручків при схрещуванні з багаторічною рослиною походженням з України (90%). Схрещування з рослиною проміжного типу розвитку виявило 25% вдалих схрещувань. А при запиленні пишком багаторічного виду з Франції було отримано 10% стручків.

Нами було залучено у схрещування зразки лунарії оживаючої з двох різних популяцій. Одна з рослин була вирощена з насіння привезеного з одного з ботанічних садів Франції, інша рослина – з насіння з колекції кафедри садово-паркового господарства та генетики рослин Запорізького національного університету. Слід зазначити, що морфологічно ці рослини різняться між собою (рис. 3 та 4). Зразок з України майже повністю відповідає морфологічним описам більшості визначників, тоді як зразок з Франції суттєво відрізнявся від відомих для даного виду характеристик. Забарвлення рослини світло-зелене на відміну

від темно-зеленого забарвлення багаторічних зразків з України. Квіти рослин походженням з Франції мають сильний добре виражений аромат. Форма та забарвлення квітки теж відрізняється від багаторічних зразків походженням з України. Так само відрізняється і форма стручків. Але насіння, які утворюються шляхом самозапилення рослин походженням з Франції морфологічно не відрізняються від насіння зразків походженням з України. Як видно з таблиці 1, проведені схрещування між цими двома зразками не були вдалимими. Утворення стручків майже не відбувалось, а стручки що утворилися, не сформували насіння.

Усі зразки з різним типом розвитку – однорічним, проміжним, а також багаторічним, як походженням з України, так і походженням з Франції добре утворювали стручки з насінням при самозапиленні у штучних умовах вирощування, що свідчить про фертильність усіх використаних зразків.

 Таблиця 1 – Ефективність гібридизації в роді *Lunaria* L.

Комбінація схрещування	Утворено стручків, %	З них стручків з насінням, %	Середня кількість насінин на стручок, шт
Однорічна × Однорічна	60 ± 16,3	67 ± 15,7	3,5
Багаторічна (У) × Багаторічна (Ф)	30 ± 15,3	0	0
Багаторічна (Ф) × Багаторічна (У)	0	0	0
Однорічна × Багаторічна (У)	90 ± 10,0	100	5
Багаторічна (У) × Однорічна	17 ± 12,5	100	4
Однорічна × Багаторічна (Ф)	30 ± 15,3	33 ± 15,7	3
Багаторічна (Ф) × Однорічна	0	0	0
Однорічна × Проміжна	25 ± 14,4	100	2
Проміжна × Однорічна	40 ± 16,3	50 ± 16,6	3
Проміжна × Багаторічна (У)	90 ± 10,0	100	3
Багаторічна (У) × Проміжна	90 ± 10,0	100	2
Проміжна × Багаторічна (Ф)	0	0	0
Багаторічна (Ф) × Проміжна	0	0	0

Примітка: (У) – зразок з України, (Ф) – зразок з Франції.

Дані наведені у таблиці 1 свідчать, що ефективність міжвидових схрещувань лунарії у штучних умовах загалом не висока та коливається в залежності від комбінацій схрещування. Багаторічна лунарія походженням з Франції взагалі не виявила вдалих схрещувань не залежно від того, яким пилком її запилювали. У той же час багаторічна рослина походженням з України утворила стручки як при запиленні пилком однорічного виду (17% вдалих схрещувань), так і при запиленні пилком рослини з проміжним типом розвитку (90% вдалих схрещувань).

Слід зазначити, що рослини багаторічного виду походженням з Франції при самозапиленні у штучних умовах утворюють життєздатне насіння. Таким чином, відсутність утворення стручків при міжвидових схрещуваннях та при схрещуванні з рослинами багаторічного виду походженням з України викликана не стерильністю рослин з Франції, а якимись іншими чинниками. Це може бути пов'язано з різною кількістю хромосом, адже в різних популяціях цього роду деякими авторами фіксувалась наявність рослин з набором хромосом трохи більшим, або трохи меншим ніж кількість хромосом у переважної більшості рослин цих видів [8 - 10].



Рис.3 – Квітки та стручки лунарії оживаючої (Франція)



Рис.4 – Квітки та стручки лунарії оживаючої (Україна)

Рослини з проміжним типом розвитку виявили непогану здатність до штучної гібридизації. Вдалими були схрещування як з однорічним видом, так і з багаторічним видом, що походить з України. При цьому ефективність гібридизації з багаторічним видом була на рівні 90%, тоді як ефективність схрещувань з однорічним видом лише 20-25% в залежності від напрямку схрещування. Ці види є вихідними (батьківськими) формами для рослин з проміжним типом розвитку. Такі рослини було виділено у другому поколінні міжвидових гібридів комбінації схрещування *L. annua* × *L. rediviva*. Особливо цікавим є той факт, що не зважаючи на материнський компонент проміжної форми більш вдалими є схрещування з багаторічним зразком походженням з України.

ВИСНОВКИ

1. Рослини лунарії в цілому виявили непогану здатність до гібридизації у штучних умовах як в межах виду, так і при міжвидових схрещуваннях.
2. Найкращу здатність до міжвидових схрещувань виявили однорічні рослини за умови використання їх у якості материнського організму. Вони утворили стручки з насінням з усіма зразками залученими у схрещування.
3. Проміжна форма, отримана з потомства міжвидових гібридів, виявила більш високу здатність до гібридизації з багаторічним видом, ніж з однорічним.
4. Багаторічний зразок походженням з Франції не виявив здатності до утворення гібридного насіння за умови використання його у якості материнського компоненту. При використанні його пилку лише в схрещуваннях з однорічним видом утворилось гібридне насіння, але відсоток вдалої гібридизації був дуже низьким (33% стручків з насінням від загальної кількості проведених схрещувань).
5. Усі рослини виявили гарну здатність до утворення насіння при самозапиленні.

ЛІТЕРАТУРА

1. Морозюк С.С. Трав'янисті рослини України: Навчальний посібник /С.С. Морозюк, В.В. Протопопова. – Тернопіль: Навчальна книга – Богдан, 2007. – 216 с.
2. Доброчаева Д. Н. Определитель высших растений Украины/ Д.Н. Доброчаева, М.И. Котов, Ю.Н. Прокудин. и др. – К.: Наукова думка, 1987.- 548 с.
3. Cook C. Effects of Feeding *Lunaria* Oil Rich in Nervonic and Erucic Acids on the Fatty Acid Compositions of Sphingomyelins from Erythrocytes, Liver, and Brain of the Quaking Mouse Mutant / Claire Cook, Joan Barnett, Keith Coupland, John Sargent // *Lipids*. – 1998. – V. 33, № 10. – P. 993-1000.
4. Yiming Guo et al. Increase in nervonic acid content in transformed yeast and transgenic plants by introduction of a *Lunaria annua* L *3-ketoacyl-CoA* synthase (KCS) gene / Yiming Guo, Elzbieta Mietkiewska, Tammy Francis, Vesne Kotavic, Jennifer M. Brost, Michael Gibbin, Dennis L. Berton, David C. Taylor // *Plant Molecular Biology*. – 2009. – № 69. – P. 565-580.
5. Бойкая Е.А. Гибридизация лунника и наследование типа его развития / Е.А. Бойкая // Інновації в сучасній селекції та генетиці сільськогосподарських культур: Тези доповідей Всеукраїнської наукової конференції молодих вчених (м. Одеса, 28-30 жовтня 2014 р.) / СГП-НЦНС; ред. кол: Соклов В.М. (відп. ред.), Литвиненко М.А., Лифенко С.П. [та ін.]; відп. за вип. Подуст Ю.І. – Одеса: Астропринт, 2014. – 108 с. ISBN 978-966-921-1.
6. Элиот. Ф. Селекция растений и цитогенетика /Ф. Элиот – М., 1961. – 165 с.
7. Соматическая гибридизация пасленовых. / В.А. Сидоров, Н. М. Пивень, Ю. Ю. Глеба, К.М. Сытник. – К.: Наук. думка, 1985. – 130 с.

8. Dvorak F. Chromosome Counts and Chromosome Morphology of Some Selected Species / Frantisek Dvorak, Bozena Dadakova // *Folia Geobotanica et Phytotaxonomica*. – 1984. – V. 19. – P. 41-70.

9. Krahulcova A. Selected Chromosome Counts of the Czechoslovak Flora III / Anna Krachulcova// *Folia Geobotanica et Phytotaxonomica*. – 1991. – V.26, № 3. – P. 369-377.

10. Числа хромосом цветковых растений флоры СССР: Семейства Aceraceae – Menyanthaceae/ Под ред. акад. А.Л. Тахтаджяна. – Ленинград: Наука, 1990. – 509 с.

REFERENCES

1. Moroziuk S.S. Travianysti roslyny Ukrainy: Navchalnyi posibnyk /S.S. Moroziuk, V.V. Protoporova. – Ternopil: Navchalna knyha – Bohdan, 2007. – 216 p.

2. Dobrochaeva D. N. Opredelitel vyisshih rasteniy Ukrainyi / D.N. Dobrochaeva, M.I. Kotov, Yu.N. Prokudin. I dr. – K.: Naukova dumka, 1987. – 548 p.

3. Cook C. Effects of Feeding *Lunaria* Oil Rich in Nervonic and Erucic Acids oh the Fatty Acid Compositions of Sphingomyelins from Erythrocytes, Liver, and Brain of the Quaking Mouse Mutant / Claire Cook, Joan Barnett, Keith Coupland, John Sargent // *Lipids*. – 1998. – V. 33, № 10. – P. 993-1000.

4. Yiming Guo at all. Increase in nervonic acid content in transformed yeast and transgenic plants by introduction of a *Lunaria annua* L *3-ketoacyl-CoA* synthase (KCS) gene / Yiming Guo, Elzbieta Mietkiewska, Tammy Francis, Vesne Kotavic, Jennifer M. Brost, Michael Gibbin, Dennis L. Berton, David C. Taylor // *Plant Molecular Biology*. – 2009. – № 69. – P. 565-580.

5. Boykaya E.A. Hybrydyzatsyya lunnyka y nasledovanye tyra eho razvytyya / E.A. Boykaya // Innovatsiyi v suchasniy selektsiyi ta henetytsi sil's'kohospodars'kykh kul'tur: Tezy dopovidey Vseukrayins'koyi naukovoyi konferentsiyi molodykh vchenykh (m. Odesa, 28-30 zhovtnya 2014 r.) / SHI-NTsNS; red. kol: Soklov V.M. (vidp. red.), Lytvynenko M.A., Lyfenko S.P. [ta in.]; vidp. zavyp. Podust'Y u.I. – Odesa: Astroprint, 2014. – 108 p.

6. Eliot. F. Seleksiya rasteniy I tsitogenetika /F. Eliot – M., 1961. – 165 p.

7. Somaticheskaya gibridizatsiya paslenovyih. / V.A. Sidorov, N. M. Piven, Yu. Yu. Gleba, K.M. Syitnik. – K.: Nauk. dumka, 1985. – 130 s.

8. Dvorak F. Chromosome Counts and Chromosome Morphology of Some Selected Species / Frantisek Dvorak, Bozena Dadakova // *Folia Geobotanica et Phytotaxonomica*. – 1984. – V. 19. – P. 41-70.

9. Krahulcova A. Selected Chromosome Counts of the Czechoslovak Flora III / Anna Krachulcova// *Folia Geobotanica et Phytotaxonomica*. – 1991. – V.26, № 3. – P. 369-377.

10. Chisla hromosom tsvetkovyih rasteniy floryi SSSR: Semeystva Aceraceae – Menyanthaceae/ Pod red. akad. A.L. Tahtadzhiana. – Leningrad: Nauka, 1990. – 509 p.

Рецензенти: Ведмедева О.В., к. б. н., зав. лабораторії генетичних ресурсів, селекції в/о та кондитерського соняшника Інституту олійних культур НААНУ;
Войтович О.М., к.б.н., доцент кафедри садово-паркового господарства та генетики рослин ЗНУ.