

Генетика, селекція, біотехнологія

УДК 633.63:631.52
© 2014

М.В. Роїк,
академік НААН,
доктор сільсько-
господарських наук

Н.С. Ковальчук

О.А. Яцева

*Інститут біоенергетичних
культур і цукрових буряків*

АПОЗИГОТІЯ ЯК МЕТОД СТВОРЕННЯ ВИХІДНИХ МАТЕРІАЛІВ БУРЯКІВ ЦУКРОВИХ

Досліджено мінливість рівня плоідності геному та експресію ознак стерильності і роздільноквітковості в апозиготних поколіннях пилкостерильних ліній буряків цукрових упродовж 4-х циклів репродукції насіння. Розглянуто проблему взаємодії геномного статусу рослин буряків цукрових, одержаних методом апозиготії, і зміни морфологічних ознак.

Ключові слова: апозиготія, міксоплоїдія клітинних популяцій, роздільноквітковість, стерильність, буряки цукрові.

У вищих рослин структура геному є показником процесів, що відбуваються на молекулярному рівні організації генетичного матеріалу. Для покритонасінних рослин явище міксоплоїдії універсальне, у диплоїдних рослин гаметофіти гаплоїдні, меристеми диплоїдні, а диференціація тканин часто здійснюється завдяки соматичній поліплоїдизації (полісоматії) [1]. Дослідники еволюційних процесів покритонасінних рослин вважають, що цей процес відбувається значною мірою через зміну рівня плоідності геномів за допомогою поліплоїдизації і деполіплоїдизації [6]. Уперше дані про міксоплоїдію в представників роду *Beta* були представлені М.І. Сиротіною у 1932 р., для буряків цукрових *Beta vulgaris* — К.І. Харечко-Савицькою на початку 40-х років минулого століття [5].

Уперше апоміктичний розвиток зародків у матеріалів з цитоплазматичною чоловічою стерильністю (ЦЧС) спостерігали дослідники Інституту буряків цукрових у 80-х роках минулого століття [7]. Використання методу безпилкового режиму в пилкостерильних лініях свідчило про можливий зв'язок ЦЧС з апоміксисом. У дисертаційній роботі С.С. Юданової вперше розглядається зв'язок міксоплоїдії в популяції клітин апозиготних рослин і мінливості репродуктивних ознак [10]. Учені дослідили, що в умовах безпилкового режиму репродукції потомство

рослин буряків цукрових може бути представлено гаплоїдами і дигаплоїдами та міксоплоїдами [2].

Генетична природа нестабільності ознаки роздільноквітковості в популяціях буряків цукрових упродовж тривалого часу залишалася недослідженою, і лише відкриття багатьох рецесивних алелей «Мт» локусу дало змогу частково зрозуміти природу нестабільності цієї ознаки [10].

Найважливішою проблемою селекціонери вважають стабілізацію ліній з апозиготичним зав'язуванням насіння за основними господарсько-біологічними показниками. Російські дослідники з апозиготії буряків цукрових вважають, що стабілізацію за основними селекційно цінними ознаками може забезпечити звичайний добір за роздільноплідністю і стерильністю та застосування обробки насіння мутагеном 5-азатицидіном. Доведено, що використання мутагену передбачає деметилування алелей багатонасінності і збільшує вихід апозиготних насінних рослин із роздільноплідністю до 80%. Проте проблема стабілізації за ознаками роздільноквітковості і стерильності залишається невирішеною [3].

Уперше на основі широкомасштабного експерименту з використанням пилкостерильних ліній різного генетичного походження нами визначено динаміку геномної мінливості апозигот-

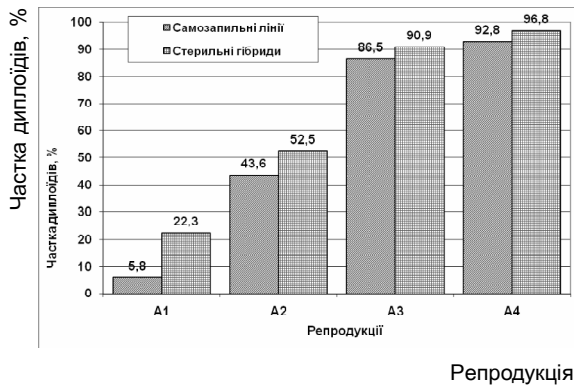


Рис. 1. Зміна плідності в апозиготних поколіннях різного генетичного походження, 2009–2012 рр.: ■ — самозапильні лінії; ■ — стерильні гібриди

них потомств буряків цукрових упродовж 4-х апозиготних репродукцій насіння.

Мета досліджень — вивчення зв'язку між стабілізацією рівня геному за плідністю і стабілізацією за селекційно цінними ознаками, роздільноплідністю та стерильністю в рослин, отриманих методом апозиготії.

Матеріали і методи досліджень. Для виконання експериментальних досліджень використано 150 селекційних пилкостерильних ліній на основі ЦЧС різного генетичного походження Ялтушківської дослідно-селекційної станції. Однобатьківський спосіб зав'язування насіння забезпечували безпилковим режимом в умовах селекційно-тепличного комплексу впродовж 2009–2012 рр. Для оцінки і доборів пилкостерильних рослин чс-о використовували класифікацію F.V. Оуена [9]. Насінні рослини оцінювали візуально за роздільноквітковістю на центральних пагонах [3]. Після оцінки та індивідуального добору селекційних матеріалів за роздільноквітковістю та стерильністю для репродукції залишали рослини повністю стерильні і роздільноквіткові.

Насіння, отримане методом апозиготичної репродукції, упродовж 2009–2012 рр. висівали в селекційно-тепличному комплексі за однорічним циклом. Дослідження геномного статусу рослин здійснювали з використанням цитофотометричних методик і аналізатора плідності «Partec» [4]. Для аналізу використовували суспензію клітин листків буряків цукрових. Гістограми аналізували за розподілом клітин щодо кількісного вмісту ядерної ДНК. Гаплоїдному рівню геному відповідав розподіл клітин на каналі (50, 100), диплоїдному — відповідно (100, 200). Аналізували міксоплоїдний стан геному за наявністю гаплоїдних, диплоїдних, тет-

раплоїдних і октоплоїдних клітин (50, 100, 200; 100, 200, 400).

Результати досліджень. За результатами цитофотометричних досліджень з використанням АП «Partec» було виявлено тенденцію щодо стабілізації за рівнем геному в пилкостерильних апозиготних матеріалів залежно від терміну репродукції A₁–A₄. За матеріалами, наведеними на рис. 1, мінливість кількості клітинних популяцій у стерильних ліній різного генетичного походження змінювалася по-різному. Так, у 2009 р. кількість рослин із диплоїдним набором хромосом у ліній, що походять від самозапильних ліній (I₃, I₅), становила всього 5,8%. Після аналізу рослин у наступному році кількість таких рослин помітно зросла до 43,6%. Аналіз рослин 3-ї апозиготної репродукції показав, що відсоток диплоїдних рослин перебував на рівні 86,5%, 4-ї — кількість диплоїдів зросла до 92,8%. У матеріалів, що походять від простих стерильних гібридів, спостерігали таку саму тенденцію, властиву матеріалам, що походять від інбредних ліній, але з дещо вищим відсотковим співвідношенням. Після 1-го аналізу рослин буряків цукрових у 2009 р. кількість диплоїдних рослин становила 22,3%. У наступні роки досліджень відсоток рослин з диплоїдним набором хромосом збільшувався: у 2010 р. їх було 52,5%, 2011 р. — 90,9, 2012 р. — 96,8% (рис. 1).

Установлено, що за використання методу безпилкового режиму та індивідуального добору і ліній чс-о типу, стабілізація за рівнем геному від міксоплоїдного до диплоїдного зумовлює підвищення відсотка роздільноплідності і стерильності у 4-му поколінні, але повної стабілізації за цими ознаками не було досягнуто.

Так, у селекційних матеріалів, що походять від самозапильних ліній, відсоток стерильності

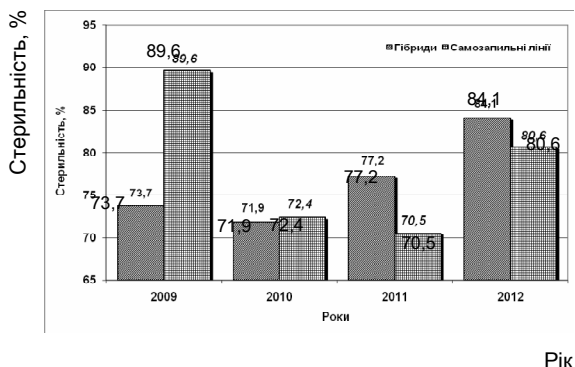


Рис. 2. Експресія ознаки стерильності в апозиготних потомств, 2009–2012 рр.: ■ — стерильні гібриди; ■ — самозапильні лінії

Мінливість показників роздільноквітковості та стерильності в диплоїдних рослин отриманих апозиготичним методом репродукції насіння А₄

Селекційний номер	Загальна кількість рослин, шт.	З них, %			
		роздільноквіткові	багатоквіткові	чс-о	фертильні
12-136ЧС	11	91,0	9,0	100,0	0
12-157ЧС	16	100	0	100,0	0
12-222ЧС	15	93,0	7,0	100,0	0
12-4652-12-12-2-4ЧС к.52	15	100	0	100	0
12-138ЧС	23	96,0	4,0	100,0	0
12-153ЧС	24	96,0	4,0	100,0	0

змінювався залежно від року досліджень і апозиготної репродукції. Після жорсткого бракування в 1-й апозиготній репродукції відсоток стерильних рослин становив 89,6%, упродовж 2- і 3-ї відсоток стерильності зменшувався і був 72,4% у 2010 р. та 70,5% — 2011 р. Після 4-ї апозиготної репродукції відсоток стерильних рослин у селекційних матеріалів, що походять від самозапильних ліній, зріс до 80,6%. Аналогічну тенденцію спостерігали і в матеріалів, що походять від простих стерильних гібридів F₁ (рис. 2).

Проте нами виявлено кілька генотипів, у яких стабілізація за стерильністю була на рівні 100%. Виявлено й окремі генотипи, в яких у 4-му апозиготному поколінні стабілізувалася роздільноквітковість до 91–100% (таблиця).

Стабілізація за рівнем геному значною мірою пов'язана також зі стабілізацією за стерильністю та роздільноквітковістю. Показники стерильності (чс-о) типу змінювалися в диплоїдного апозиготного потомства 4-ї репродукції з 92,0 до 100,0%, роздільноквітковості — з 88,0% до 100,0% (таблиця).

Висновки

За результатами досліджень встановлено, що добір за рівнем плідності рослин упродовж 4-х апозиготних поколінь дає змогу отримати стабільні лінії за плідністю. Загалом за ознаками роздільноквітковості і сте-

рильності після 4-ї апозиготної репродукції буряків цукрових повної стабілізації не досягнуто, за винятком кількох генотипів, у яких вдалося стабілізувати ці ознаки на 100%-му рівні.

Бібліографія

1. Берг Л.Р. Значение валентности ядра в жизни и эволюции вида (о некоторых механизмах обеспечивающих оптимальное число наборов хромосом)/Л.Р. Берг//Генетика и эволюция: Изб. труды. Новосибирск: Наука, 1993. — С. 96–122.
2. Малецкая Е.И. Экспрессия признака ЦМС в зиготических и апозиготических потомствах сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.)/Е.И. Малецкая, С.С. Юданова, С.И. Малецкий//Эпигенетика растений: сб. науч. тр. — Новосибирск, 2005. — С. 223–234.
3. Малецкий С.И. Наследование признака раздельно-сростноцветковости/[Ю.Н. Шавруков, С.Г. Вепрев и др.]/Одноростковость свеклы. Эмбриология, генетика, селекция. — Новосибирск: Наука Сибирское отделение, 1988. — С. 79–131.
4. Роїк М.В. Аналіз мінливості рівня плідності геному вихідних селекційних матеріалів цукрових буряків з використанням технологій аналізатора плідності «Partec»/М.В. Роїк, Н.С. Ковальчук, Л.В. Алексійчук. — К., 2006. — 39 с.
5. Харечко-Савицкая Е.И. Цитология и эмбриология сахарной свеклы/Е.И. Харечко-Савицкая//Свекловодство. — К.: Госсельхозиздат, 1940. — Т. 1. — С. 453–550.
6. Хохлов С.С. Апомиксис: классификация и распространение у покрытосеменных растений/С.С. Хохлов//Успехи современной генетики. — Т. 1. — М., 1967. — С. 43–105.
7. Ширяева Э.И. Методические указания по цитозембриологическим исследованиям в селекции сахарной свеклы/Э.И. Ширяева. — К., 1984. — 61 с.
8. Юданова С.С. Миксоплоидия клеточных популяций сахарной свеклы и ее связь с репродуктивными признаками: автореф. на соискание науч. степени канд. биол. наук/С.С. Юданова//СПб.: ГНЦ ВНИИР им. Вавилова, 2004. — 19 с.
9. Owen F. Cytoplasmically inherited male sterility in sugar beet/Owen F.//Agric. Res. — 1945. — V. 71(10). — P. 423–440.
10. Savitsky V.F. A genetic study of monogerm characters in beet. Proc. Amer. Soc./Sugar Beet Technol. — 1952. — № 7. — С. 331–338.

Надійшла 3.04.2014.