

Генетика, селекція, біотехнологія

УДК 633.63:631.52

© 2015

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

Н.С. Ковальчук

В.Ф. Лисенко

*Інститут біоенергетичних
культур і цукрових буряків
НААН*

Н.М. Хіміч

*Ялтушківська дослідно-
селекційна станція Інституту
біоенергетичних культур
і цукрових буряків НААН*

АПОЗИГОТІЯ ЯК НОВИЙ МЕТОД ЗБАГАЧЕННЯ ГЕНОФОНДУ ЦУКРОВИХ БУРЯКІВ

Мета. Визначити методичні передумови збагачення вітчизняного генофонду цукрових буряків принципово новим вихідним матеріалом з апозиготичним способом репродукції насіння на основі генетичної моделі, що забезпечує диференціацію потомств багатонасінних гібридних рослин з цитоплазматичною чоловічою стерильністю (ЦЧС), зокрема і за типом апозиготії. **Методи.** Використано метод розмноження стерильних матеріалів в умовах безпилкового режиму для одержання нових роздільноплідних генотипів цукрових буряків. **Результати.** Розроблено генетичну модель диференціації генеративного та соматичного ембріогенезу за апозиготії з використанням генетичних селективних маркерів. Визначено мінливість апозиготичного потомства багатонасінних гібридних рослин за фенотиповими ознаками ядерних генів роздільноплідності та ЦЧС. **Висновок.** Виділено гомозиготні пилкостерильні лінії першої апозиготичної репродукції та досліджено за плоідністю з використанням цитофотометричних методик АП «Partec».

Ключові слова: апозиготія, ембріогенез, буряки цукрові, однонасінність, стерильність, плоідність, генотип, фенотип.

Аналіз останніх досліджень. Важливим компонентом гібридної селекції на сучасному етапі розвитку буряківництва є пилкостерильні форми. Використання явища цитоплазматичної чоловічої стерильності (ЦЧС) дає змогу отримати практично 100%-ве гібридне насіння. В Україні, як і в зарубіжній селекції, для розмноження пилкостерильних ліній із ЦЧС за Оуеном (1945) використовують закріплювачі стерильності (лінії О-типу, Nxxzz) [1, 2]. Однак цей метод досить трудомісткий, і потребує багато часу для створення та стабілізації нового пилкостерильного вихідного матеріалу.

Сучасний розвиток селекційно-генетичних програм дедалі більше потребує пошуку нових нетрадиційних методів і підходів, що дають змогу виявити всі потенційні можливості рослинного організму і водночас у короткий термін отримати новий вихідний матеріал [3].

С.І. Малецький, К.І. Малецька (1994) вперше застосували метод безпилкового режиму для розмноження пилкостерильних ліній без використання закріплювачів стерильності [5]. Для розширення генофонду пилкостерильних ліній запропоновано багатонасінні гібридні рослини на основі ЦЧС і апозиготичний

1. Аналіз клітинних популяцій за плоідністю на цукрових буряках 1-го року вегетації (селекційний матеріал I апозіготичної репродукції — A₁), 2013 р. (P±mp)

Кількість проаналізованих рослин, усього	Структура клітинних популяцій за плоідністю*, %			
	x	2x	x–2x–4x	2x–4x–8x
425	4,5±1,0	37,9±2,4	49,4±2,4	8,2±1,3

* Плоідність визначали за гістограмами ядерної ДНК на АП «Partec».

спосіб репродукції насіння.

Серед проблемних питань використання методу апозіготії в селекції насамперед є нестійкість певних ознак (роздільноплоідності, стерильності, плоідності) в апозіготичних потомств і низька продуктивність насінників [9].

Ембріологічні дослідження свідчать про одночасний розвиток зародків із соматичних клітин нуцелусу та інтегументів (соматичний ембріогенез) і генеративних клітин зародкового мішка (генеративний ембріогенез). Генетична різноманітність апозіготичного насіння визначається поліембріонією у роздільноквіткових плодів, що спонукає до утворення 2- і 3-росткових сходів [7]. В основі цього явища — генеративний та соматичний ембріогенез, який часто відбувається в одному плоді (поліембріонія). У цьому разі зародок може розвиватися як із соматичних клітин нуцелусу та інтегументів, так і з генеративних клітин зародкового мішка [4].

Статтю присвячено дослідженню нового методу одержання апозіготичних пилко-стерильних ліній з використанням гібридних рослин F₁ із ЦЧС зарубіжної та вітчизняної селекції.

Мета досліджень — збагачення вітчизняного генофонду принципово новим вихідним матеріалом з апозіготичним способом репродукції насіння на основі генетичної моделі, що забезпечує диференціацію потомств, зокрема і за типом апозіготії.

Матеріали та методи досліджень. Матеріал для дослідження — експериментальні селекційні номери I апозіготичної репродукції: Lp/M, Vt/M, Bn/M, Fr/M, Sv/M, As/M, Kr/M, Ta/M, одержані на основі диплоїдних гібридів F₁. Насіння передане нам С.І. Малецьким (Інститут цитології і генетики Сибірського відділення РАН).

Дослідження проводили на Ялтушківській дослідно-селекційній станції (ЯДСС) ІБКЦБ НААН у польових умовах (1-й рік вегетації цукрових буряків) та у групових ізоляторах (2-й рік вегетації) впродовж 2013–2014 рр.

Одержане насіння I апозіготичної репродукції (A₁) у кількості 37 номерів було висіяне у 2013 р. у розсаднику розмноження ЯДСС. Ці селекційні матеріали також вивчали за плоідністю з використанням цитофотометричного методу аналізатора плоідності «Partec» у лабораторії цитогенетики ІБКЦБ НААН [8].

2. Мінливість насінників цукрових буряків I апозіготичної репродукції (A₁), одержаних на основі комерційних гібридів F₁ з ЦЧС, 2014 р. (P±mp)

Походження селекційних номерів	Кількість рослин, усього	Із них за фенотипами ЦЧС, %		Із них за фенотипами ростковості, %	
		стерильні (чс-0 типу)	стерильні (чс-1 типу, чс-2 типу)	РК	БК
Lp/M	1055	43,4±1,5	56,6±1,5	16,5±1,1	83,5±1,1
Vt/M	613	38,9±2,0	61,1±2,0	20,6±1,6	79,4±1,6
Bn/M	646	41,5±1,9	58,6±1,9	16,0±1,4	84,0±1,4
Fr/M	157	38,9±3,9	61,2±3,9	15,3±2,9	84,7±2,9
Sv/M	1749	18,9±0,9	81,1±0,9	23,9±1,0	76,1±1,0
As/M	509	46,5±2,2	53,5±2,2	17,3±1,7	82,7±1,7
Kr/M	648	28,1±1,8	71,9±1,8	16,4±1,5	83,6±1,5
Ta/M	106	41,5±4,8	58,5±4,8	18,9±3,8	81,1±3,8
Середній показник		37,2	62,8	18,1	81,9

Примітка. РК — роздільноквіткові; БК — багатоквіткові.

3. Модель диференціації апозиготичного потомства багатонасінних гібридних рослин з ЦЧС за рецесивними алелями m^-m^- однонасінності за генеративного ембріогенезу нерегулярного типу

Апозиготія (безпилковий режим)	
Фенотип вихідної гібридної рослини: багатоплідна, стерильна — чс-0 тип, чс-1 тип	Генотип вихідної гібридної рослини: Mm xxzz, Mm Xxzz, Mm xxZz
Фенотип A ₁ : за плідністю — роздільноплідна, багатоплідна; за стерильністю — чс-0 тип, чс-1 тип, чс-2 тип	Генотипи A ₁ за типом апозиготії: соматичний ембріогенез — Mm xxzz, Mm Xxzz, Mm xxZz; генеративний ембріогенез нерегулярного типу (2x — дигаплоїдний генотип) — mm xxzz, mm XXzz, mm xxZZ, MMxxzz, MM XXzz, MM xxZZ; генеративний ембріогенез нерегулярного типу (x — гаплоїдний генотип) — m xz, m Xz, m xZ, M xz, M Xz, M xZ

Аналіз за ознаками стерильності у 2014 р. проводили за класифікацією Оуена, враховуючи фенотипові ознаки ядерних генів ЦЧС (чс-0 тип, чс-1 тип та чс-2 тип) [10].

Вибракування багатоквіткових рослин проводили за методикою С.І. Малецького [6].

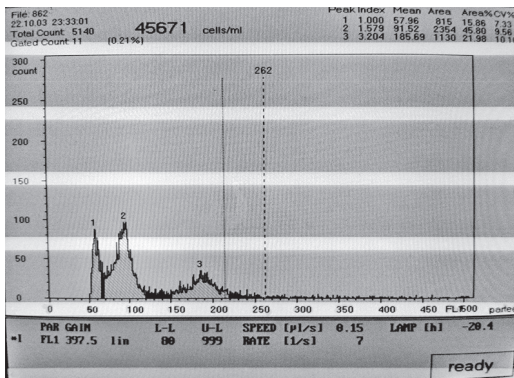
Результати експериментальних досліджень. За результатами дослідження структури клітинних популяцій селекційних матеріалів I апозиготичної репродукції з використанням аналізатора плідності «Partec», виявлено основні характеристики мінливості плідності (табл. 1).

Із проаналізованих 425-ти рослин міксоплідних з високим відсотком гаплоїдних клітин — 49,4%, гаплоїдних — 4,5%. Це свідчить про те, що ці рослини сформувалися завдяки генеративному ембріогенезу із редукованих гаплоїдних гамет. Диплоїдних рослин — 37,9%. Насінні рослини I апоміктичної репродукції вивчали за ознаками стерильності

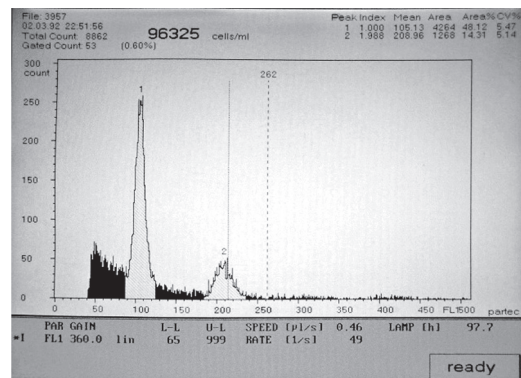
і роздільноплідності (табл. 2).

Згідно з даними табл. 2, у насінників першої апоміктичної репродукції від багатонасінних гібридних рослин показники роздільноплідності змінювалися від 15,3 до 23,9%, залежно від походження селекційних матеріалів. Насінники чс-0 типу становили від 18,9% у селекційного номера Sv/M до 46,5% у номера As/M. Мінливість за типами стерильності (чс-0, чс-1 і чс-2 типів) пояснюється характером добору донорних рослин (чс-0 і чс-1 типів) і наявністю двох типів апозиготії (апоміксису): генеративного та соматичного ембріогенезу.

За результатами проведених експериментальних досліджень можна провести диференціацію апозиготичних потомств I репродукції за типом апозиготії (генеративний, соматичний ембріогенез). Диференціація за типом апозиготії та виділення гомозиготних роздільноплідних пилкостерильних ліній досягається на основі



а



б

Гістограми ядерних ДНК популяцій клітин листків ЧС форм цукрових буряків першої апозиготичної репродукції, визначених на АП «Partec»: а — міксоплідний рівень геному за інтенсивністю флуоресценції 57,96 од.; 91,52 од. та 185,69 од.; б — диплоїдний рівень геному за інтенсивністю флуоресценції 105,13 та 208,96 од.

генетичної моделі (табл. 3).

На основі генетичної моделі серед апозіготичних потомств A_1 можна виділити такі форми цукрових буряків:

- пилкостерильні роздільноплідні біотипи (*Beta vulgaris* Sxxxz mm) з диплоїдним (2x), гаплоїдним (x) і мікспоїдним (x, 2x, 4x) станом клітинних популяцій (рисунок);
- багатонасінні пилкостерильні лінії (*Beta vulgaris* Sxxxz MM) із гаплоїдним (x) і мікспоїдним (x, 2x, 4x) станом клітинних популяцій;
- багатонасінні пилкостерильні лінії: Mm xxzz, Mm Xxzz, Mm xxZz ідентифікуємо за

стабільним рівнем геному 2x.

У результаті експериментальних досліджень проведено добір роздільноплідних пилкостерильних ліній за поєднання явища апозіготії та ЦЧС на основі багатонасінних гібридних рослин. Згідно з генетичною моделлю принципово новий роздільноплідний селекційний матеріал міг сформуватися лише на основі розвитку зародків із клітин зародкового мішка як рецесивні гомозиготи за маркерними ознаками роздільноплідності і стерильності: m xz (гаплоїдний генотип), mm xxzz (дигаплоїдний генотип).

Висновки

Використано багатонасінні гібридні рослини на основі ЦЧС та метод апозіготичної репродукції насіння для створення нових вихідних матеріалів і збагачення генофонду материнських компонентів вітчизняних гібридів цукрових буряків. На

основі генетичної моделі експерименту та дослідження мінливості фенотипових ознак ядерних генів роздільноплідності і стерильності виділено гомозиготні роздільноплідні пилкостерильні лінії за генеративним ембріогенезом нерегулярного типу.

Бібліографія

1. Балков И.Я. Селекция сахарной свеклы на гетерозис/И.Я. Балков. — М.: Россельмаш, 1978. — 178 с.
2. Богомолов М.А. Использование апомиктических МС линий при создании гибридов сахарной свеклы/ М.А. Богомолов//Сахарная свекла. — 2012. — № 9. — С. 27–30.
3. Богомолов М.А. Особенности использования апомиксиса у сахарной свеклы при создании нового исходного материала/М.А. Богомолов//Там же. — 2008. — № 5. — С. 18–20.
4. Жужжалова Т.П. Генетическая разнокачественность семян и методы ее преодоления/ Т.П. Жужжалова, О.А. Подвигина//Там же. — 2011. — № 7. — С. 14–17.
5. Малецкий С.И. Наследование признака ЦМС в апозіготических потомствах сахарной свеклы/ С.И. Малецкий, Е.И. Малецкая, С.С. Юданова// Энциклопедия рода *Beta*. Биология, генетика и селекция свеклы. — Новосибирск: Сова, 2010. — С. 205–216.
6. *Одноростковость* свеклы (эмбриология, генетика, селекция)/С.И. Малецкий, Ю.Н. Шавруков, С.Г. Вепрев и др. — Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1988. — С. 168.
7. *Репродуктивная биология сахарной свеклы*/ Т.П. Жужжалова, В.В. Знаменская, О.А. Подвигина, Г.И. Ярмолук. — Воронеж, 2006. — С. 232.
8. Роїк М.В. Аналіз мінливості рівня плідності геному вихідних селекційних матеріалів цукрових буряків з використанням технологій аналізатора плідності «Partes»/М.В. Роїк, Н.С. Ковальчук, Л.В. Алексійчук. — К., 2006. — С. 39.
9. Яцева О.А. Якість насіння цукрових буряків, отриманого шляхом апозіготії/О.А. Яцева: зб. наук, праць ІЦБ УААН. — К.: Аграр. наука, 2011. — С. 101–107.
10. Owen F.V. Cytoplasmically inherited male sterility in sugar beet/F.V. Owen//Agric. Res. — 1945. — V. 71 (10). — P. 423–440.

Надійшла 12.06.2015.