

М.О. КОРНЄВА, М.В. ВЛАСЮК

Інститут цукрових буряків УААН

ІНБРИДИНГ І ЯКІСТЬ ПИЛКУ ЗАПИЛЮВАЧІВ ЦУКРОВИХ БУРЯКІВ РІЗНОГО СТУПЕНЯ ГЕТЕРОЗИГОТНОСТІ

На основі вивчення матеріалів різного ступеня селекційної проробки вперше визначено, що інбридинг впродовж чотирьох послідовних поколінь виявляє негативну дію на кількість і якість пилку, ступінь вираженості яких залежить від генотипу і рівня його гетерозиготності. Гомозиготний стан генів, що контролюють процеси мікроспорогенезу, внаслідок появи аномалій збільшує варіабельність пилку за розмірами, призводить до збільшення частки мілких пилкових зерен. З поглибленням інбридингу кількість стерильного пилку зростає, а фертильного - знижується, досягаючи критичного рівня в І₄. У гетерозиготних матеріалів (популяцій, синтетиків, продуктів добору), покращених за господарсько-цінними ознаками, морфофізіологічні показники пилку без добору суттєво не змінювалися.

Вступ. При селекційній роботі із запилювачами - компонентами гібридів на стерильній основі важливо врахувати показники не лише продуктивності і комбінаційної цінності, а й репродуктивну здатність, від якої залежить ефективність перезапилення, запліднення і, в кінцевому результаті, врожайність і якість гібридного насіння. Запилення відіграє певну роль при формуванні різноманіття генотипів у популяції, робить ефективним відбір [1], позитивно корелює зі ступенем зав'язування плодів і схожістю насіння [2], а величина пилкових зерен партнерів схрещування впливає на якість гібридизації [3] і вибірковість запліднення [4]. За період цвітіння на приймочку попадає не менше 300-400 пилкових зерен [5]. Цукрові буряки є анемофільною культурою, тому при розмноженні і при гібридизації кількість і якість пилку набуває великого значення [6,7]. Наявність великої кількості пилку створює конкуренцію гамет, що є свідченням того, що добір же проходить як на рівні фенотипу, генотипу, зиготи, так і в гаплоїдній формі [8].

Матеріали і методика досліджень. Для вивчення кількості і якості пилку запилювачів різного ступеня гетерозиготності львівської, верхняцької і лоподільської генплазми за один-два дні перед цвітінням на типових ділянках першого або другого порядку відбирали зрілі бутони і поміщали їх у пакети з фільтрувального паперу. У лабораторії із бутонів відділяли пиляки, кількість яких за методом Савченка [9] визначали кількість пилкових зерен. Діаметр

пилкових зерен вимірювали за допомогою лінійки окуляр-мікрометра з використанням рекомендацій З.П. Паушевої [10]. Ціна поділки 2,9 мкм. Фертильність пилку визначали за допомогою забарвлення метиленовою синькою. Перевагою цього методу, крім простоти і інформативності, є те, що показники фертильності пилку при збереженні його протягом 3-5 днів у холодильнику або при кімнатній температурі не змінюються, в той час як втрата поживних речовин і вологи призводить до різкого зниження життєздатності аж до повної інактивації, що безумовно утруднює характеристику матеріалів.

Результати **досліджень** та їх **обговорення**. Пилкоутворювальна здатність є важливою характеристикою, оскільки створювані на основі багатонасінних популяцій лінії слугують запилювачами до форм із цитоплазматичною чоловічою стерильністю (ЦЧС). Дані ряду авторів [11-15] указували на суттєве варіювання за кількістю пилкових зерен у популяції різного походження, а також у біотипів у межах популяцій. При порівнянні популяцій В1002 (верхняцька генплазма) і ЛР14759 (львівська генплазма) виявилось, що вони суттєво відрізнялися за кількістю пилку в одному пиляку, а також за пилковою продуктивністю [11]. Популяція В1002 мала високі показники: 6,46 тис. шт. (пиляк; 1,30 млн. шт./10,0 см, а популяція ЛР14759-відносно низькі: 4,06 тис. шт.) пиляк і 0,88 млн. шт./10 см. Оцінка за пилковою продуктивністю є більш точною, оскільки крім кількості пилкових зерен цей показник включає і ступінь квітковості матеріалу, і щільність розміщення суцвіть на пагоні, але не враховує габітус насінників у гетерогенних за своїм складом популяцій. Для лінійних матеріалів така характеристика буде більш точною і використовується при виборі способів запилення і співвідношення компонентів для виробництва гібридного насіння.

При створенні ліній методом інбридингу з популяцій верхняцької генплазми вже в потомстві I₁ кількість пилку знизилася до 42,0 ... 87,5% порівняно з контролем. У лінії II з популяцій львівської генплазми вона склала 74,2 ... 79,0% від контролю. Ці дані добре узгоджені з даними Прохорової Л.Н. [16] і Перетятко Н.А. [17] про негативний вплив інбридингу, особливо однократного самозапилення. У наступних поколіннях ця тенденція зберігалась, хоча і меншою мірою.

При характеристиці ліній-запилювачів вивчали також морфофізіологічні показники пилку (величину пилкових зерен, фертильність-стерильність). Відомо, що рослини цукрових буряків різних форм і ліній варіюють між собою за величиною пилкових зерен [18, 19], що відображає неправильності (аномалії), обумовлені порушенням процесу мейозу. Браковкою перед цвітінням насінників з невіривняними (дрібними, дефективними і т.п.) пилковими зернами можна значно поліпшити селекційний матеріал.

Як показали дослідження, інбридинг впливає на морфофізіологічні показники пилку. Варіювання діаметра пилкових зерен та їх частки у лінії різного ступеня інбредності видно із рис.1

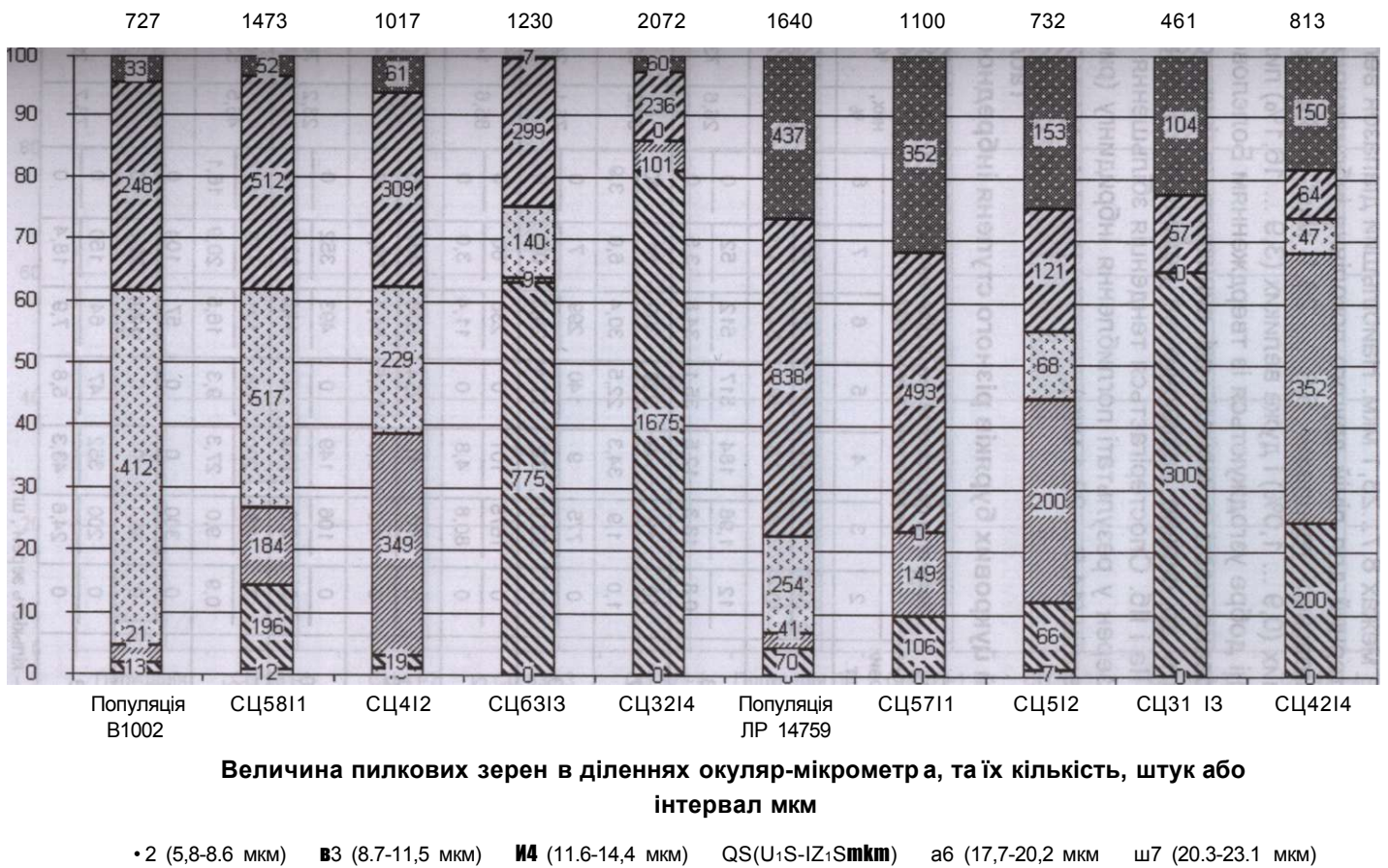


Рисунок 1. Структура пилкових зерен за розмірами у ліній цукрових буряків різного ступеня інбредності, %

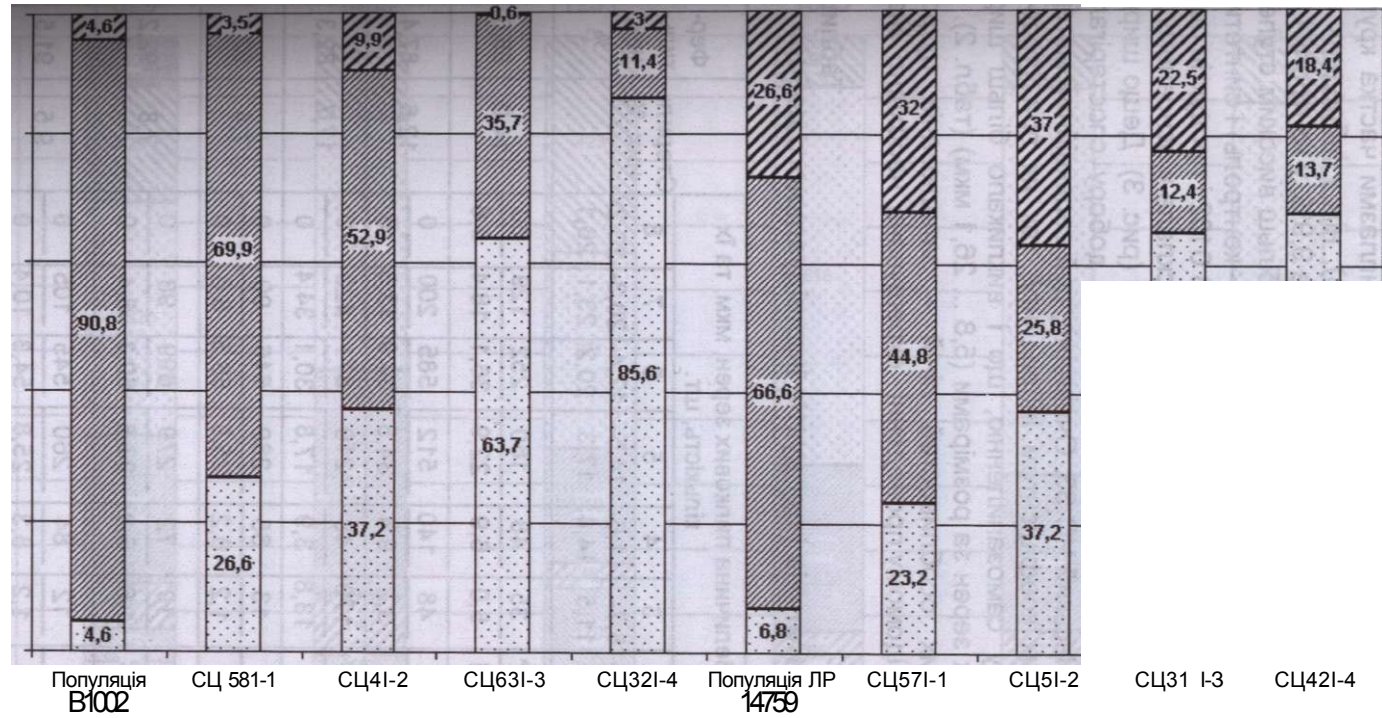
Як видно із рис.1, діаметр пилкових зерен у рослин популяцій (контроль) коливався в межах 8,7...23,1 мкм. Найбільший діапазон величини пилкових зерен характерний для ліній другого покоління інбридингу як для верхняцької, так і львовської генплазм: 5,8 ... 26,1 мкм. Інбридинг в І₂ спричинив появу дрібних (0,9 ... 1,0%) і дуже великих (3,9 ... 16,1%) пилкових зерен (табл. 1). Ці дані добре узгоджуються із твердженням Болєлової З.О. [20] про те, що неправильності в мейозі, які виникають в інцухтованих потомствах, призводять до сильно варіюючих за величиною і розвитком пилкових зерен типу Іа і Іб. Спостерігається тенденція збільшення частки карликових пилкових зерен у результаті поглиблення інбридингу (рис.2) за рахунок зниження середніх (14,5 ... 23,1 мкм).

Таблиця 1

Якість пилку ліній цукрових буряків різного ступеня інбредності

Походження ліній і покоління інбридингу	Кількість проаналізованих пилкових зерен, шт.	Величина пилкових зерен, в діленнях окуляр - мікромметра, та їх кількість, шт.							Сте- Ферти риль- льюих, них, %			
		13	21	412	248	33						
В1002-популяція (контроль)	727	1,8	2,8	56,7	34,1	4,6				4,6	95,4	2,1
		12	1,96	184	517	512	52					
СЦ 58 І ₁	1473	0,8	13,3	12,5	35,1	34,8	3,5			26,6	73,4	4,4
		10	19	349	229	309	61	40				
СЦ 4 І ₂	1017	1,0	1,9	34,3	22,5	30,4	6,0	3,9		37,2	62,8	4,8
		775		140	299					75,1	24,9	4,3
СЦ63	1230	63,0	0,7	11,4	24,3	0,6						
		1675	101		236	60				85,6	14,4	3,5
СЦ 32 К	2072	80,8	4,8		11,4	3,0						
		70	41	254	838	437				6,8	93,2	2,5
ЛР14759 - популяція (контроль)	1640	4,3	2,5	15,5	51,1	26,6						
		106	149		493	352				23,2	76,8	4,2
СЦ 57 І ₁	1100	9,6	13,6		44,8	32,0						
		66	200	68	121	153	117			46,5	53,5	4,9
СЦ5І ₂	732	0,9	9,0	27,3	9,3	16,5	20,9	16,1				
		300			57	104				65,1	34,9	4,7
СЦ31 І ₃	461	65,1			12,4	22,5						
		200	352	47	64	150				73,7	26,3	4,4
СЦ 42 І ₄	813	24,6	43,3	5,8	7,9	18,4						

Примітка. * В чисельнику - кількість зерен , шт.,
в знаменнику - частка пилкових зерен, %



Величина пилових зерен в діленнях окуляр-мікрометра, та їх кількість, штук або інтервал мкм

• 2 (5,8-8,6 мкм) в3 (8,7-11,5 мкм) 04 (11,6-14,4 мкм) о5 (14,5-17,3 мкм) aB (17,7-20,2 мкм) m1 (20,3-23,1 мкм)

Рисунок 2. Частка мілких, середніх і крупних пилових зерен у самоzapилених ліній цукрових буряків, %

Як видно із рис. 2, частка пилкових зерен середньої величини знижувалась. У самозапилених ліній львівської генплазми частка крупних зерен була вищою (18,4 - 37,0%, у контролі 26,6%), ніж у інбредних ліній верхняцької генплазми, у яких вона не перевищувала 9,9%, у контролі 4,6 %

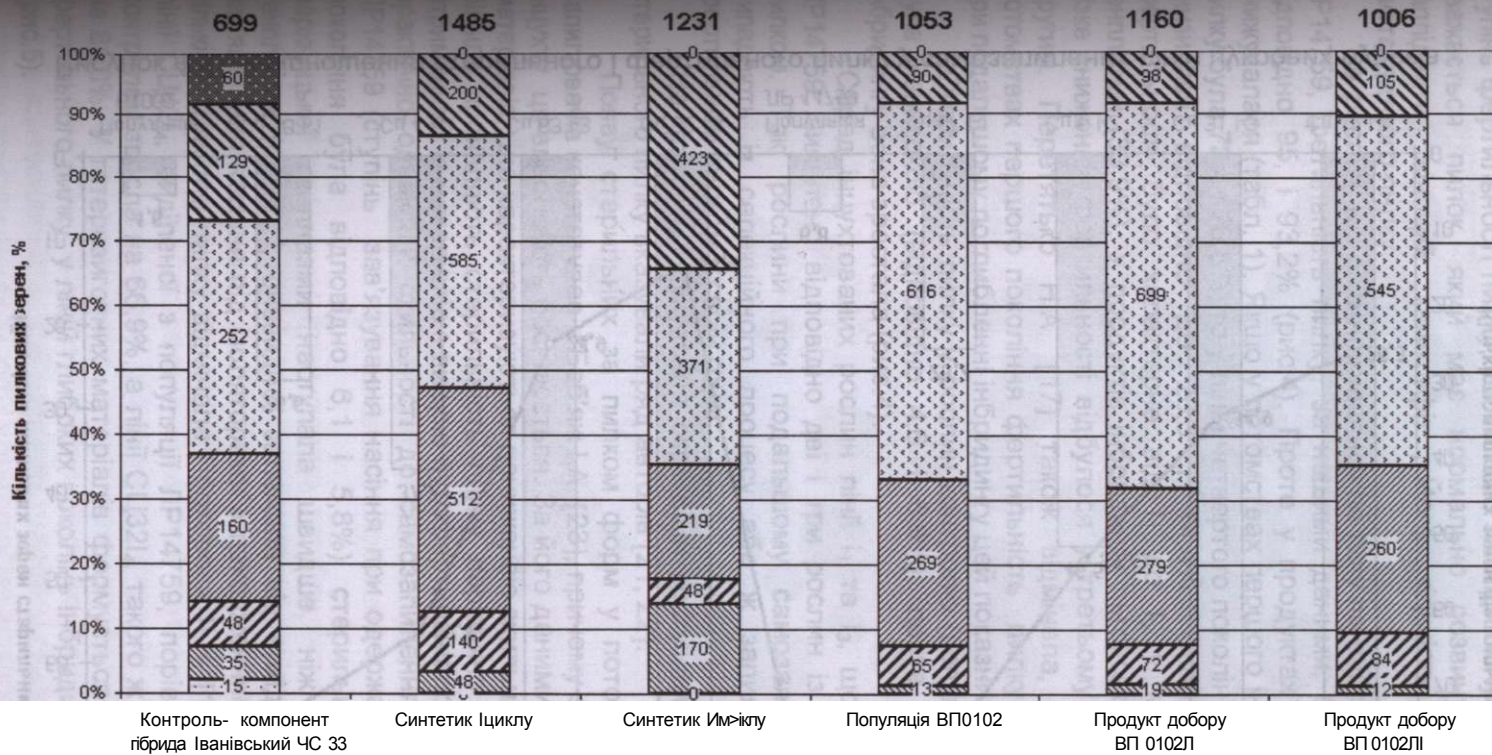
У селекційних матеріалів цукрових буряків з більш високим ступенем гетерозиготності (компонент гібрида Іванівський ЧС - контроль) і синтетиків І ІІ циклів рекурентного добору, а також у популяції В 0102 і продуктів однодвократного доборів з неї величина пилкових зерен складала в основному 23-27 мкм і мала майже рівні частки у своєму діапазоні (рис. 3). Дещо ширшим діапазон варіювання до проведення рекурентного добору спостерігали у запилювача гібрида Іванівський ЧС 33. Очевидно, цей селекційний матеріал характеризується певним коефіцієнтом інбридингу, так як при створенні піддавався примусовому самозапиленню, що і викликало більш широкую диференціацію пилкових зерен за розмірами (5,8 ... 26,1 мкм) (табл. 2). При вивченні репродуктивних особливостей ліній - запилювачів цукрових буряків, а також при свідомому проведенні схрещувань необхідно знати

Таблиця 2

Якість пилку у синтетиків і продуктів індивідуального добору

Селекційний матеріал	Кількість проаналізованих пилкових зерен, шт.	Величина пилкових зерен, мкм, та їх кількість, шт.							Стерильних, %	Фертильних, %	S %
		2 5,8- 8,6	3 8,7- 11,5	4 11,6- 14,4	5 14,5- 17,3	6 17,4- 20,2	7 20,3- 23,1	8 23,2- 26,1			
Контроль: компонент гібрида	699	15*	35	48	160	252	129	60	14,0	86,0	3,4
		2,1	5,0	6,9	22,9	36,1	18,4	8,6			
Синтетик І циклу	1485	0	48	140	512	585	200	0	12,6	87,4	3,3
		0	3,2	9,4	34,5	34,9	13,5	0			
Синтетик ІІ циклу	1231	0	170	48	219	371	423	0	17,7	82,3	3,8
		0	13,8	3,9	17,8	30,1	34,4	0			
Популяція ВП0102	1053	0	13	65	269	616	90	0	7,4	92,6	2,6
		0	1,2	6,2	25,5	58,5	8,6	0			
Продукт добору ВП 0102/1	1160	0	19	72	279	699	98	0	7,8	92,2	2,7
		0	1,6	6,2	23,5	60,3	8,4	0			
Продукт добору ВП 0102/11	1006	0	12	84	260	545	105	0	9,5	91,5	2,9
		0	1,2	8,3	25,8	54,3	10,4	0			

Примітка. * В чисельнику - кількість зерен , шт.,
в знаменнику - частка пилкових зерен, %



Величина пилкових зерен в діленнях окуляр-мікрометра, та їх кількість, штук або інтервал мкм

• 2 (5,8-8,6 мкм) H3 (8,7-11,5 мкм) a4 (11,6-14,4 мкм) I5 (14,5-17,3 мкм) пб (17,7-20,2 мкм) S7 (20,3-23,1 мкм) E58 (23,2-26,1 мкм)

Рисунок 3. Структура пилкових зерен за розмірами у синтетиків і продуктів індивідуального добору

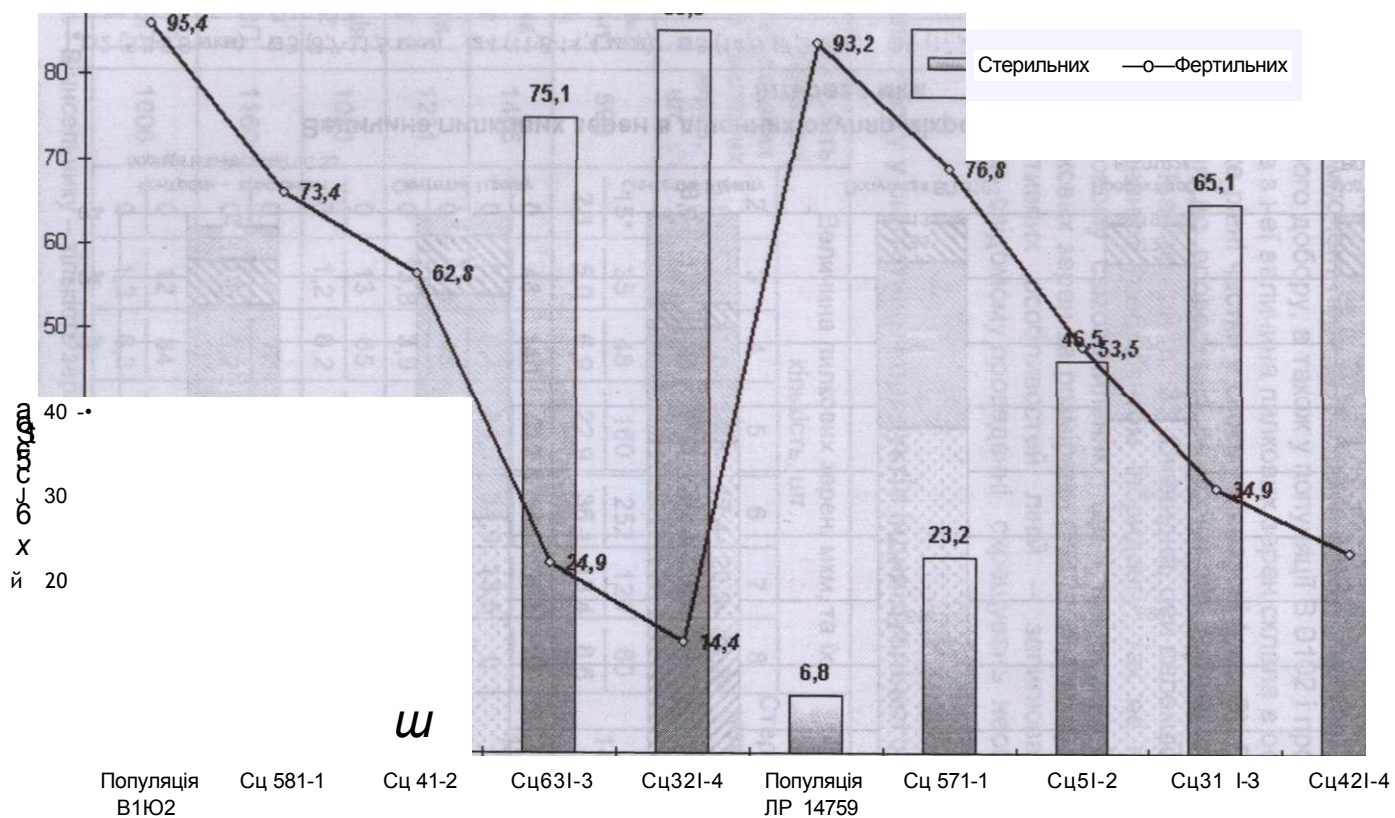


Рисунок 4. Співвідношення стерильного і фертильного пилку у самоzapилених ліній цукрових буряків

ступінь фертильності пилку, тобто його запліднюючу здатність. Фертильним вважається пилкок, який має нормально розвинуті спермії і здатний запліднити жіночий гаметофіт. Його кількість переважає кількість життєздатного пилку.

У рослин, що розмножувались по типу панміктичних популяцій В1002, ЛР14759, фертильність пилку, за нашими даними, була високою і склала відповідно 95, і 93,2% (рис.4). Проте у продуктах інбридингу вона різко знижувалася (табл. 1). Якщо у потомствах першого інбридингу фертильність пилку була 73,4 і 76,8%, то у лінії четвертого покоління самозапилення вона знизилася відповідно до 26,3 і 14,4%. Особливо різке зниження фертильності було характерне від І₂ до І₃ у матеріалів верхняцької генплазми (33,9%). У продуктів інбридингу львовської генплазми найбільш різке зниження фертильності відбулося у третьому поколінні порівняно з другим. Перетятко Н.А. [17] також відмічала, що у самозапилених потомствах першого покоління фертильність пилку була 78,7 - 86,0%, а при подальшому поглибленні інбридингу цей показник знизився до 38,0%.

Стерильність пилку у рослин контролю (популяцій В1002 і ЛР14759) була невисокою (відповідно 4,6 і 6,8%), проте з кожним поколінням інбридингу вона зростала (рис.4).

Серед інцухтованих рослин лінії h та І₃, що походять із популяції ЛР14759, виявлено відповідно дві і три рослини із повністю стерильним пилком. Такі рослини при подальшому самозапиленні елімінуються і випадають із селекційного процесу або ж запилюються рослинами з фертильним пилком у своїй групі.

На факти продукування окремими рослинами інцухт-лінії повністю стерильного пилку вказували ряд авторів [21, 22].

Появу стерильних за пилком форм у потомствах самозапилених запилювачів констатував і Баб'яж І.А. [23], причому зі збільшенням поколінь інцухту ця властивість посилюється. За його даними, продукти, отриманні з матеріалів, що характеризуються пониженою схильністю до самозапилення, більше проявляють стерильність пилку порівняно з продуктами інцухту, отриманими із матеріалів з вищою аутофертильністю. У наших дослідах при практично однаковій схильності до самозапилення у популяції В1002 і ЛР14759 (ступінь зав'язування насіння при одержанні першого інбредного покоління була відповідно 6,1 і 5,8%) стерильність пилку у рослин верхняцької генплазми наступала швидше, ніж у рослин львовської генплазми (рис.4) і, очевидно, залежала від вихідного генотипу. Зв'язок зав'язування насіння під ізоляторами з походженням матеріалу, а також із кількістю і якістю пилку відмічала Прохорова Л.Н. [16]. Стерильність пилку лінії СЦ42І4, виділеної з популяції ЛР14759, порівняно з гетерозиготним контролем зросла на 66,9%, а лінії СЦ32Ц, такого ж покоління інбридингу - на 81,0%. У гетерозиготних матеріалів формується переважаюча кількість фертильного пилку, у лінії глибоких поколінь інбридингу його значно менше (рис.5).

A

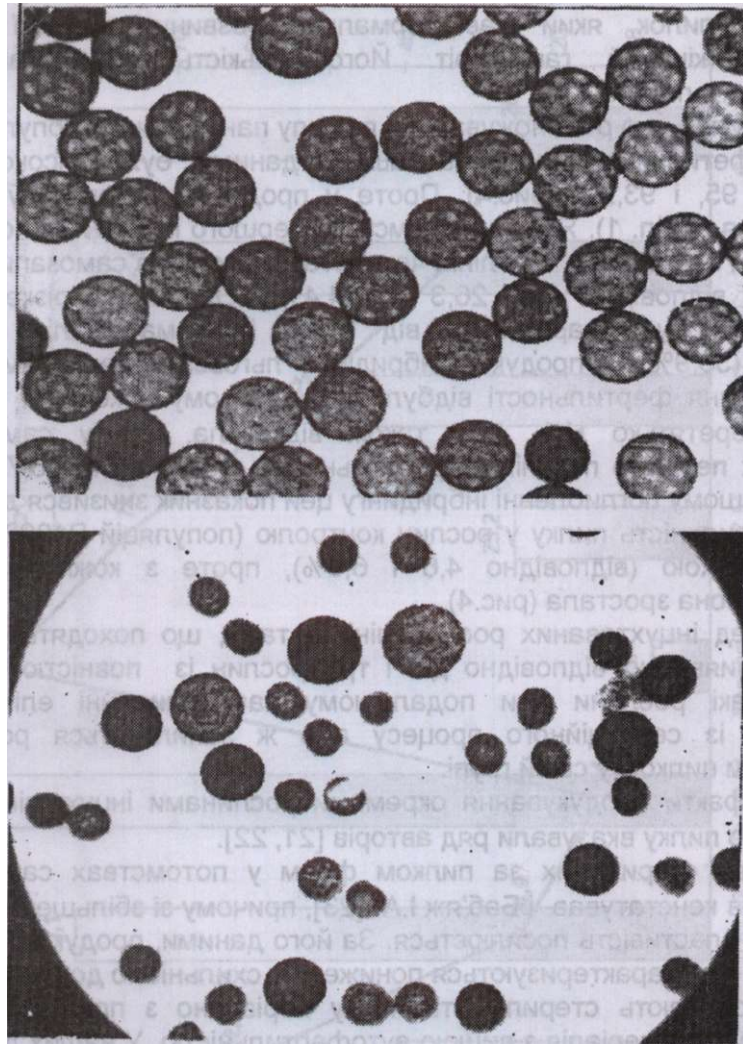


Рисунок 5. Якість пилку рослин популяції ЛР14759 (А) і лінії СЛ42Ц львівської генплазми (Б)

Очевидно, причиною набуття стерильності пилку при інбридингу є внутрішньоядерні і внутрішньоплазматичні перебудови [22], що виникають внаслідок гомозиготизації генів. Аномалії, за даними авторів [21], виявляються у всіх самозапилених ліній незалежно від сорту і ступеня інцухту. Їх частота і характер негативно впливають на якість насіння і, очевидно, залежить від походження вихідного матеріалу. У гетерозиготних матеріалів і продуктів їх добору фертильність пилку, хоч і має тенденцію до зниження у зв'язку з повільною гомозиготизацією генів, що спостерігається при доборі за господарсько-цінними ознаками, все ж залишається високою (рис.6). Нормалізації процесів ембріогенезу і формування насіння сприяє

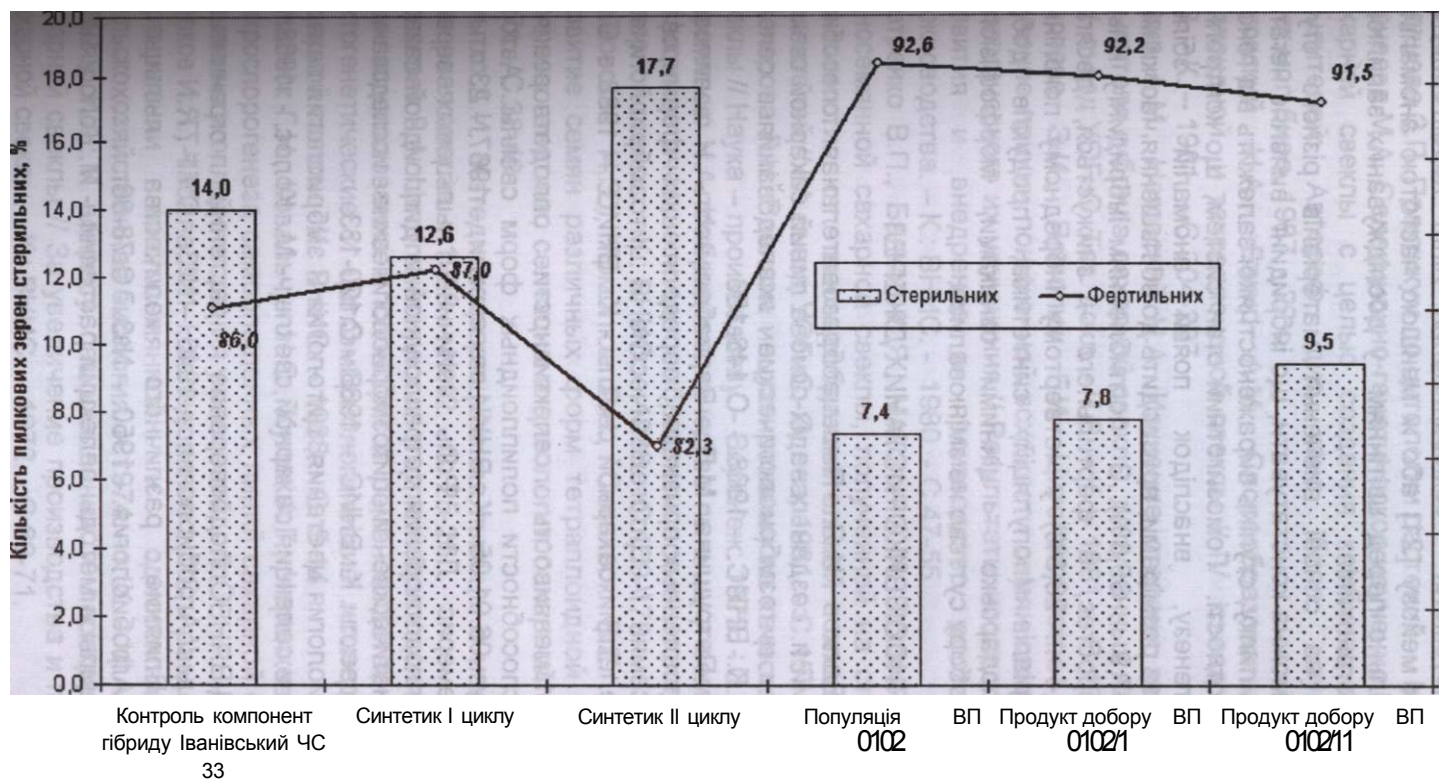


Рисунок 6. Співвідношення фертильного і стерильного пилку синтетиків і продуктів індивідуального добору

відновлення рівня гетерозиготності, яке відбувається при гібридизації гомозиготних ліній-запилювачів з ЧС формами [24]. Зважаючи на те, що окремі рослини у потомстві самозапилених ліній характеризуються правильним перебігом мейозу [21] або ж меншою частотою аномалій при мікроспорогенезі, доцільно перед цвітінням у досліджуваних запилювачів провести добір кращих генотипів.

Таким чином, на основі вивчення матеріалів різного ступеня селекційної проробки можна констатувати, що інбридинг виявляє негативну дію на кількість і якість пилку, ступінь вираженості якої залежить від генотипу і рівня його гетерозиготності. Гомозиготний стан систем, що контролюють процеси мікроспорогенезу, внаслідок появи аномалій збільшує варіабельність пилку за розмірами, призводить до збільшення частки мілких пилкових зерен (до 67,9 ... 85,6%). З поглибленням інбридингу кількість стерильного пилку зростає, а фертильного - знижується, досягаючи критичного рівня (14,4 ... 26,3%) у четвертому інбредному поколінні. У гетерозиготних матеріалів (популяцій, синтетиків, продуктів добору), покращених за господарсько - цінними ознаками, морфофізіологічні показники пилку без добору суттєво не змінювалися.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Корнеева М.А., Балков И.Я. Пыльцеобразовательная способность исходных популяций и созданных на их основе линий сахарной свеклы // Цитогенетические и цитозэмбриологические исследования в селекции сахарной свеклы. - К.: ВНИС. - 1988. - С.148-156.
2. Слюсаренко З.С., Петрушина М.П., Вариабельность и взаимосвязь генетически обусловленных признаков, определяющих формирование жизнеспособных семян // Цитогенетические и цитозэмбриологические исследования в селекции сахарной свеклы,- К.: ВНИС. - 1988. - С. 156-165.
3. Шевцов И.А. Изменчивость селективности оплодотворения и комбинационной способности полиплоидных форм свеклы: Автореф. дис...канд. с.-х. наук: 06.01.05 - К.: ВНИИ сах.свеклы. - 1967. - 23 с.
4. Бережко С.Т., Чемерис J1.H. Роль величины пыльцевых зерен в избирательности оплодотворения тетраплоидной и диплоидной сахарной свеклы // Цитогенетические и цитозэмбриологические исследования в селекции сахарной свеклы. К.: ВНИС. -1988. - С. 120-133.
5. Зайковская Н.Э. Биология цветения, цитология и эмбриология сахарной свеклы // Биология и селекция сахарной свеклы. -М.: Колос. - 1968. - С. 137-206.
6. Тер-Аванесян Д.В. Оплодотворение растений ограниченным количеством пыльцы //Агробиология. - 1946. - №3. - С.71-77.
7. Лобанов Г.А. Влияние различного количества пыльцы на оплодотворения //Агробиология. - 1950. - №3. - С.78-86.
8. Бороевич С. Принципы и методы селекции растений. - М..Колос, 1984. - 343 с.

9. Савченко Н.И. Пыльцеобразовательная способность андроцея и производство гибридных семян с/х культур. - К.: Наукова думка, 1980. - 157 с.
10. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. - М.: 1970. - 180 с.
11. Корнеева М.А. Селекционно-генетическое изучение исходных популяций сахарной свеклы с целью создания комбинационно-ценных линий-опылителей: Автореф. дис... канд. биол. наук: 03.00.15/ - К: Инст. мол. биол., 1987. - 22 с.
12. Неговский Н.А., Бакир А.М. Спорообразовательная способность диплоидной и тетраплоидной свеклы // IV съезд УОГиС. Тез. докл. - Ч.3. - К. - 1981. - С.204-207
13. Бакир А.М., Неговский Н.А. Изучение степени завязывания семян у опылителя гибрида сахарной свеклы, полученных на стерильной основе / IV съезд УОГиС. Тез. докл. - Ч.3. - К. - 1981. - С.126 - 128
14. Ширяева Э.И., Ярмолюк Г.И. Цитологическое и гистохимическое изучение причин пониженной всхожести семян сахарной свеклы и пути биологического их улучшения.// Результаты исследований, перспективы развития и внедрение в производство достижений в области свекловодства. - К.: ВНИС. - 1980. - С.47-55
15. Петренко В.П., Балков И.Я., Макогон А.М. Всхожесть семян гибридов односемянной сахарной свеклы, полученной на стерильной основе, в зависимости от пыльцеобразовательной способности линий - опылителей // IV съезд УОГиС.-Одеса, 1981. - С.157 - 158
16. Прохорова Л.Н. Влияние инцухтирования на качество пыльцы сахарной свеклы // Наука - производству. - Воронеж: 1973. - С.7-11
17. Перетятко Н.А. Инбридинг, качество пыльцы и семян сахарной свеклы // Цитогенетические и цитозембриологические исследования в селекции сахарной свеклы. - К.: ВНИС. - 1988. - С. 169-173
18. Зайковская Н.Э., Ярмолюк Г.Н., Семенюк В.Е. Микроспорогенез и развитие семян различных форм тетраплоидной сахарной свеклы // Вопросы генетики, селекции и цитологии сахарной свеклы. К.: ВНИС. - 1971. - С.38-49
19. Снытко А.И. Методика проращивания пыльцы в искусственной среде // Сахарная свекла. - 1983. - №12. - С. 25-26.
20. Болелова З.А. Цитогенетические и цитозембриологические исследования и их использование в селекции и семеноводстве сахарной свеклы // Цитогенетические и цитозембриологические исследования в селекции сахарной свеклы.- К.: ВНИС. -1988. - С. 5-14
21. Ярмолюк Г.Н., Ковальчук Н.С., Кулик А.Г., Червякова В.В. Особенности микроспорогенеза самоопыленных линий сахарной свеклы // Проблемы опыления и оплодотворения у растений. - Jl.: ВНР. - 1986. - С.83-86.
22. Балков И.Я., Чабала Л.И. Наследование ЦМС и раздельноплодности при скрещивании многосемянной и односемянной свеклы // Сельскохозяйственная биология. - 1974. - т.IX. - VI. - С. 28-34.
23. Бабьяк И.А. К вопросу самоопыления и перекрестного опыления у сахарной свеклы // За увеличение производства и повышение качества сахарной свеклы. - К.: ВНИС. - 1972. - С 69-71.

24. Болелова З.А., Павленко Влияние генотипа и условий выращивания на селективность оплодотворения и жизнеспособность семян сахарной свеклы // Проблемы опыления и оплодотворения у растений. - Л. - 1986. -С. 107-111.

Аннотация

УДК 633.63:631.52:575.125

Инбридинг и качество пыльцы опылителей сахарной свеклы разной степени гетерозиготности

М.А. Корнеева, М.В. Власюк

На основании изученных материалов разной степени селекционной проработки доказано, что инбридинг в течение четырех последовательных поколений оказывает отрицательное влияние на количество и качество пыльцы, степень выраженности которых зависит от генотипа и уровня его гетерозиготности генов, контролирующих процессы микроспорогенеза, в результате появления аномалий увеличивает вариабельность пыльцы по размерам, увеличивает долю мелких пыльцевых зерен. При углублении инбридинга увеличивается количество стерильной пыльцы, а фертильной - уменьшается, достигая критического уровня в I₄. У гетерозиготных материалов, улучшенных по хозяйственно - ценным признакам, морфофизиологические показатели пыльцы без отбора существенно не изменились.

Annotation

UDC 633.63:631.52:575.125

Inbreeding and pollen quality of pollinators of sugar beet of different level of heterozygosis

M. Korneyeva, M. Vlasiuk

Studies on materials of different levels of the breeding process have shown that inbreeding produces negative effects on pollen quantity and quality, the degree of expressing these effects depends on genotype and its heterozygosity level. Homozygous state of genes, responsible for the processes of microsporogenesis, increases level of pollen variation, due to the appearance of anomalies, results in the increase of the fraction of small pollen grains. With advancement of inbreeding, the amount of sterile pollen increases and that of fertile pollen diminishes, achieving the critical level in I₄. In heterozygous materials (populations, synthetics, products of selection) with perfected agronomic characters, morphophysiological features of pollen have not significantly changed without selection.