

КОНДРАТЕНКО С.І.

Інститут овочівництва і баштанництва УААН

Україна, 62478, п/в Селекційне, Харківської обл., вул. Інститутська, 1

E-mail: ovoch-iob &online.ua

РОЗРОБКА ЕЛЕМЕНТІВ МЕТОДИКИ ІНДУКЦІЇ НЕРЕГУЛЯРНОГО АПОМІКСИСУ У КАПУСТИ ГОЛОВЧАСТОЇ

Нерегулярний апоміксис – природне явище, що полягає в розвитку зародка з яйцеклітини або іншої клітини зародкового мішку за відсутності запилення. Такий тип апоміксису називається партеногенезом або апогамією і зустрічається в природі з досить низькою частотою прояву (10^{-6}) [1-3]. Останнім часом дослідниками здійснюються спроби для індукції нерегулярного апоміксису у найважливіших сільськогосподарських рослин. На жаль, у більшості з них майже цілком відсутня здатність до апогамії. Відомі випадки одержання апогамного насіння у м'якої пшениці, гречки і кукурудзи [4]. На капусті головчастій метод індукції нерегулярного апоміксису застосовувався різними дослідниками, при цьому позитивних результатів вдалося досягнути в разі використання екзогенної обробки незапліднених зав'язей фітогормонами, або їх синтетичними аналогами для стимуляції мітотичного поділу і подвоєння числа хромосом у яйцеклітин під час їх партеногенетичного розвитку [4, 5]. Цими ж авторами було показано, що на фенотипічний прояв партеногенезу в значній мірі має вплив генотип рослини, фаза розвитку зародкового мішку, фітогормональний статус регуляторів росту, вагові співвідношення регуляторів в апоміктичному агенті та норми витрати агенту на одну незапліднену яйцеклітину.

Матеріали і методи

Для розробки елементів методики індукції нерегулярного апоміксису першочергового були випробувані експериментальні підходи, запропоновані в літературних джерелах [4-6]. Зокрема, використовувалася загальноприйнята для капусти білоголової процедура кастрації нативних бутонів [7] з послідуною їх обробкою модифікованими варіантами апоміктичного агенту, в основі якого була обов'язкова присутність водної суміші регуляторів – гібереліну (ГК₃) та цитокініну (БАП) у різних вагових співвідношеннях у відповідності до рекомендацій, наданих в роботах [4-6]. Для кастрації використовувалися бутони із повністю сформованою квіткою за 2-3 доби до її розкриття. Перед їх обробкою апоміктичним агентом приймочки і стовпчики обробляли 96% водним розчином етилового спирту для усунення імовірного попадання на їх поверхню фертильного пилку. Потім за допомогою мікропіпетки на стовпчики наносили 10-30 мкл апоміктичного агенту. Оброблені, таким чином, репродуктивні гілки із кастрованими бутонами ізолювали від решти гілок маточників капусти пергаментними ізоляторами на 4 доби. Після зняття ізоляторів проводили фенологічні спостереження за ростом стручків і насінневих зародків до повного завершення репродуктивної фази росту маточників капусти. Як об'єкти досліджень було використано рослини капусти білоголової сортів Лазурна, Ліка, Білосніжка, Яна, Харківська зимова (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) та капусти червоноголової сорту Палета (*Brassica capitata* Litzg. var. *rubra*) селекції Інституту овочівництва і баштанництва УААН. Дослідження проводилися протягом 2006-2007 рр.

Результати і обговорення

У 2006 році були проведені дослідження, які передбачали обробку кастрованих бутонів водною сумішшю регуляторів росту (гібереліну (ГК₃) та цитокініну (БАП)), згідно роботи [4]. Такий спосіб обробки стимулював у всіх досліджених сортових генотипів капусти виключно партекарпічний ріст стручків без розвитку насінневих зародків. В

експериментальній роботі 2007 року використовувалися наступні модифікації компонентного складу апоміктичного агенту (АА) та способи обробки кастрованих бутонів. Зокрема, було проведено 4 варіанти обробки:

1) АА №1 (водна суміш гіберелової кислоти і цитокінінового регулятора БАП (ГК₃ + БАП));

2) АА №2 (водна суміш гіберелової кислоти, цитокінінового регулятора та препарату Марс-ЕІ (ГК₃ + БАП + Марс-ЕІ));

3) композиція АА №1 з додатковим одночасним нанесенням на приймочку чужорідного пилку несумісних з капустою головчастою видів рослин родини хрестоквітних;

4) композиція АА №2 з додатковим одночасним нанесенням на приймочку чужорідного пилку несумісних з капустою головчастою видів рослин родини хрестоквітних.

Препарат Марс-ЕІ є регулятором не фітогормональної дії, який випробувався у досліді, як біологічно-активна речовина, яка забезпечувала кращу закріпленість та збереженість, внаслідок випаровування, водної суміші регуляторів росту на кастрованих бутонах.

За результатами проведених досліджень були виділені, як найбільш результативні для подальшої роботи, 3-й і 4-й варіанти обробки, при застосуванні яких нами був виявлений ефект короткочасного росту апоміктичних зародків у стручках на репродуктивних пагонах усіх задіяних в експерименті сортових генотипів капусти. При цьому, після емпіричного перебору були виявлені види рослин родини *Brassicaceae* – редька дика (*Raphanus raphanistrum* L.) та редька сорту Трояндова (підвид китайської редьки Лоба (*Convar lobo Sazon*) виду *Raphanus sativus* L.), пилки яких забезпечували вищевказаний приріст. Як приклад, на рис. 1 відображено стовпчикові діаграми довжини зародків генотипів капусти головчастої, які були задіяні у 1-му і 3-му варіантах досліду по індукції нерегульованого апоміксису. На рис. 2 відображено фотографії сформованих стручків з недорозвинутими зародками, які було одержано у 2-му і 4-му варіантах обробки.

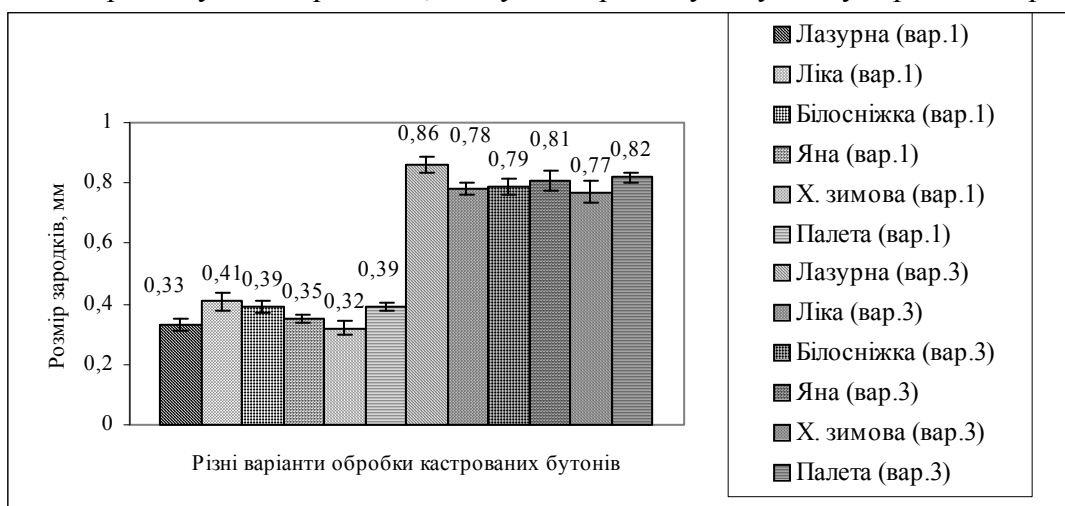


Рис. 1. Результати біометричного обміру (в світловому полі бінокюляра) довжини 10 рандомізовано відібраних апоміктичних зародків капусти головчастої різних сортових генотипів, проведені наприкінці періоду визрівання маточників капусти головчастої.

Загалом, якщо обробку проводили тільки АА №1 або АА №2 (1-й і 2-й варіанти), то при цьому спостерігався виключно партенокарпічний ріст стручків. Таким чином, для оптимізації росту апоміктичних зародків у наступних дослідженнях планується розширити пошукові роботи по екзогенній стимуляції цього процесу. Зокрема, для цієї мети будуть використані можливості біотехнологічних методів по дорощуванню *in vitro* рослинних об'єктів на штучних живильних середовищах з вмістом

фітогормональних регуляторів і ін. біологічно-активних компонентів. Визначення факторів індукції нерегулярного апоміксису та росту апоміктичних зародків капусти головчастої також проводитиметься за допомогою цитологічних та молекулярно-генетичних методів (пошук системи ДНК маркерів для ідентифікації генетичного явища диплоїдної гомозиготизації).



Рис. 2. Тимчасова стимуляція росту апоміктичних зародків у 4-му варіанті та її відсутність у 2-му варіанті досліду по індукції нерегульованого апоміксису (рослини репродуктивної фази розвитку сорту капусти червоноголової Палета):

1. 4-й варіант обробки (використання АА №2 і пилку редьки дикої);
2. 2-й варіант обробки (використання АА №2).

Висновки

Проведено пошукові дослідження по визначенню факторів, що визначають індукцію росту незапліднених зародків капусти головчастої 6 сортових генотипів капусти головчастої. Встановлено експериментальну можливість тимчасового росту апоміктичних насінневих зародків капусти головчастої за рахунок синергічної дії водної суміші регуляторів росту та запилення приймочок кастрованих бутонів чужорідним пилом несумісних видів рослин родини *Brassicaceae* – редьки дикої (*Raphanus raphanistrum* L.) та редьки сорту Трояндова (підвид китайської редьки Лоба (*Convar lobo Sazon*) виду *Raphanus sativus* L.).

Література

1. *Нукифоров Ю.Л., Шевченко С.В.* Цитологический анализ развития пыльцевых зерен некоторых цветковых растений (в связи с проблемой гаплоидии) // Апомиксис и цитозембриология растений – 1979, Вып.4. – С. 85-86.
2. *Yudin B. F. and Sokolov V. A.* Towards regular apomixis in maize, achieved by experiment // Genetic Manipulation in Plants – 1989, V.5. – P. 36-40.
3. *Кашин А. С.* Гаметофитный апомиксис: анализ причин и последствий реализации у цветковых :На примере популяций некоторых видов Asteraceae // Дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.05. – Саратов, 2004. – 390 с.
4. *Способ* получения гомозиготных диплоидов сельскохозяйственных культур: Патент. Российская Федерация. А01Н 1/04, А 01Н 43/40, 61/00 / В.Г. Курбатов – № 2035134; Заявл. 23.01.91; Опубл. 20.05.95, Бюл. № 14.
5. *Eenink A.H.* Matromorphy in *Brassica oleracea* L. III. The influence of temperature, delayed prickle pollination and growth regulation on the number of matromorphic seeds formed // Euphytica – 1974. – V. 23. – P. 711-718.
6. *Eenink A.H.* Matromorphy in *Brassica oleracea* L. IV. Formation of homozygous and heterozygous diploid products of gametogenesis and qualitative genetical research on matromorphic plants // Euphytica – 1974. – V. 23. – P. 719-724.
7. *Жук О.Я., Чернищенко Т.В., Ярчук Н.І., Хареба В.В., Яковенко К.І.* Методика селекції овочевих рослин родини капустяних (*Brassicaceae* (Burnett)) // Сучасні методи селекції овочевих і баштанних культур. – Харків: Вид-во Інституту овочівництва і баштанництва УААН, 2001. – С. 189-205.

Резюме

Проведено пошукові дослідження по визначенню факторів, які індукують ріст незапліднених зародків 6 сортових генотипів капусти головної. Встановлено експериментальну можливість тимчасового росту апоміктичних насінневих зародків капусти за рахунок синергічної дії водної суміші регуляторів та запилення оброблених бутонів чужорідним пилом несумісних видів рослин родини *Brassicaceae* – редьки дикої (*Raphanus raphanistrum* L.) та китайської редьки Лоба ((*Convar lobo Sazon*) виду *Raphanus sativus* L.).

Проведены поисковые опыты по определению факторов, индуцирующих рост неоплодотворенных зародышей 6 сортовых генотипов капусты белокочанной. Установлена экспериментальная возможность временного роста апомиктических семенных зародышей капусты в результате синергического действия водной смеси регуляторов и опыления обработанных бутонов пыльцой несовместимых видов растений семейства *Brassicaceae* – редьки дикої (*Raphanus raphanistrum* L.) и китайской редьки Лоба ((*Convar lobo Sazon*) вида *Raphanus sativus* L.).

Are carried out research experiences as to determining of inductive factors of the growth of matromorphic seeds of 6 varieties cabbage genotypes. Is established the experimental possibility of the temporary growth of matromorphic seeds of cabbage as a result of double influence on the treated buds of the aqueous mixture of regulators and pollination by means a pollen of the incompatible types of the plants *Brassicaceae* family – *Raphanus raphanistrum* L. and *Convar lobo Sazon* of type *Raphanus sativus* L.

**КОНОВАЛОВ В.С., КОПЫЛОВА Е.В., КОВАЛЕНКО Г.С, БИРЮКОВА. О.Д.,
СТАРОДУБ Л.Ф., ШЕЛЕВ А.В.**

Институт разведения и генетики животных УААН,

Украина. Научно-методический центр УААН .e-mail: konovalov_vs@ukr.net

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ СКРЫТОЙ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ МЕТОДАМИ ЦИТО-ФЕНО-ДНК- МАРКЕРНОГО МОНИТОРИНГА

Развитие мирового скотоводства характеризуется не только селекционными достижениями, но проблемами, связанными с ростом нестабильности генома домашних животных. Нестабильностью обусловленной интенсивными породообразовательными процессами, экологическими и иммиграционными причинами. Основываясь на законе Украины "О племенном деле в животноводстве" и требованиях "Положения о порядке проведения генетической экспертизы происхождения и аномалий племенных животных"

Сотрудники отдела генетики института разведения и генетики УААН - проводят мониторинговую оценку тенденций накопления на пороге 21 столетия негативной (летальные и полуметалельные мутации) и позитивной (ассоциированной с хозяйственно-полезными признаками генов) скрытой генетической изменчивости- изменчивости формируемой в генофонде пород крупного рогатого скота, свиней и лошадей и других видов домашних животных Украины.

Для решения поставленной задачи используется комплексное применение современных методов просеивающей цито-фено-ДНК-маркерной диагностики. Результаты скрининговых исследований обрабатываются различными методами статистического анализа.

Цито-маркеры

На основании выборочных мониторинговых исследований 2000-2007г.г. получены следующие результаты: 1) сравнительный цитогенетический контроль по