

inherited by the type of quantitative traits. The available data are different and contradictory. The goal was to trace the inheritance of fruit ripening period in the first and second generation of hybrid peach. The question is of practical and theoretical importance. **Methods.** Hybridization and selection study performed by the program and the methods of selection and study of varieties of fruit, berry and nut crops, developed Michurinsk (1974, 1980). Assessment of 20 crossing combinations hybrid families held in the southern steppe agro-climatic zone of Ukraine. **Results.** The analysis of the offspring (first and second F₁ F₂ generations) on the term of fruit ripening revealed four types of hybrid seedlings segregating normal, skewed, bimodal and erratic. **Conclusions.** This segregating of the peach hybrid progenies on deadline the fruit ripening period proves confirms not only polygenic, but oligogene control of this trait.
Key words: *Persica vulgaris* m., hybrid progenies F₁ and F₂, inheritance of time of ripening.

МАЛЕЦКАЯ Е.И., ЮДАНОВА С.С.

Институт цитологии и генетики СО РАН

Россия, 630090, Новосибирск, пр. Лаврентьева, 10, e mail: e_mal@bionet.nsc.ru

ЦИТОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МИКСОПЛОИДИИ КЛЕТОЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ В АПОЗИГОТИЧЕСКИХ ПОТОМСТВАХ ГАПЛОИДНЫХ РАСТЕНИЙ САХАРНОЙ СВЁКЛЫ

Растения сахарной свеклы формируют гермафродитные цветки, что позволяет им репродуцировать семена путем перекрестного оплодотворения и самооплодотворения. Перекрестное оплодотворение относится к зиготическому (двуродительскому) способу семенной репродукции. Самооплодотворение – это однородительский, но зиготический тип репродукции семян. Показано, что в популяциях свеклы встречаются растения, способные завязывать семена партеногенетически, т.е. без участия пыльцы [1–4]. Это однородительский тип репродукции семян (апозиготия или агамоспермия). В совокупности гамоспермия и агамоспермия образуют единую систему репродукции и не всегда бывает очевидным, каким путем будут получены семена у сахарной свеклы в ходе конкретного наблюдения. Склонность растений свеклы к различным способам семенной репродукции может рассматривать в качестве внутрипопуляционного полиморфизма репродукционных признаков сахарной свёклы.

Как показали наши многолетние наблюдения, большая часть семян при однородительской репродукции свеклы диплоидны, а в семенном потомстве наблюдается расщепление по маркерным признакам [4, 5]. Из этого можно заключить, что диплоидные семена возникают из зародышевых клеток, прошедших мейотическое деление. Действительно, гаметы с нередуцированным числом хромосом возникают спонтанно у большого числа растительных объектов, и этот феномен связан с эпигеномной изменчивостью [6, 7]. Эпигеномная изменчивость гамет связана с аналогичной изменчивостью в соматической

ткани. Полиплоидные клетки возникают из диплоидных путем эндомитоза, а последующая редукция числа хромосом в мейозе приводит к появлению диплоидных гамет. Синонимом эпигеномной изменчивости является термин миксоплоидия, когда в клеточной популяции наряду с доминирующей фракцией клеток встречаются клетки с меньшим или большим числом хромосом. Особенно широко распространено это явление оказалось в семействе *Chenopodiaceae*. Е.И. Харечко-Савицкой [8] были проведены детальные исследования этого явления у свеклы. Наиболее часто встречалось беспорядочное чередование отдельных клеток или небольших участков ткани с различным кариотипом. Иногда это явление затрагивало непосредственно точку роста молодого побега. При отсаживании такого побега развивалось полиплоидное растение [8].

Гаплоидия – один из эффективных способов решения селекционно-генетических задач по созданию форм с устойчивым наследованием полезных признаков у сахарной свёклы (раздельноцветковость, стерильность, урожайность и т.д.). Одной из главных методических задач при создании исходного материала для селекции является получение гаплоидных потомств в достаточном объеме. Семена с гаплоидным (одинарным) набором хромосом могут возникать спонтанно у растений, репродуцируемых зиготическим (двуродительским) способами, но их частота возникновения очень низка ($10^{-4} - 10^{-6}$). Использование же однородительского размножения позволяет получить достаточно высокий уровень выхода гаплоидных семян [9, 10].

Цель настоящей работы: провести цитологический анализ клеточных меристем сахарной свёклы у выделенных гаплоидных растений,

Материалы и методы

В качестве материала для исследования взяты семена коммерческого мс-гибрида «Лентурон». Гибридные пыльцестерильные растения выращивали на изолированном участке в беспыльцовом режиме (Новосибирск, 2010–2011 гг.). Для исключения попадания пыльцы в размножения проводятся следующие мероприятия: 1) на изолированном участке выращиваются только мс-растения ($ms\ 0$ и $ms\ 1$)¹; 2) все полужерильные растения ($ms\ 2$)¹ удаляются до распускания первого цветка; 3) идентификацию растений по фенотипу пыльцы проводится ежедневно в течение всего срока цветения, так как некоторые растения характеризуются мозаичным фенотипом. Такие растения также удаляются с участка размножения. Таким способом получают поколение A_1 . В следующем году в таком же режиме репродуцируются семена растений A_1 с целью получения потомства A_2 . В беспыльцовом режиме репродукции становится возможной развитие эмбрионов без оплодотворения (апозиготия). Потомства, получаемые при беспыльцовом (апозиготическом) режиме семенной репродукции, являются дигаплоидами.

Отбор гаплоидов проводили в поколении A_1 по морфобиологическим признакам при проращивании семян [12–14].

Всего просмотрено 300 проростков у гибрида «Лентурон» и доля гаплоидных проростков

¹ фенотипы стерильных растений определяли по классификации Оуэна [11]

Результаты и обсуждения

Цитологическая картина (число хромосом в ядрах клеток) имеет решающее значение для характеристики растений. В исследуемом материале встречаются клетки с различным числом хромосом. В поколении A_1 , в котором проводился отбор гаплоидов, более 40 % клеточной популяции имело гаплоидный набор хромосом, 22,7 % клеток было диплоидными (табл. 1, п/п 1). Кроме того встречались полиплоидные клетки и отклонения, когда клетки содержали число хромосом не кратное 9 ($x = 9$). Отобранные гаплоиды после семенной репродукции показали схожий результат (поколение A_2): доля

а также оценить уровень миксоплоидности клеточных популяций исследуемых растений.

составила 11,48 %. В дальнейшем гаплоидные проростки высаживали в отдельные горшочки и выращивали при +25 °С и влажности 60 % в течение двух месяцев в камере с искусственным климатом «Биотрон-4» (пр-во ГНУ СибФТИ СО РАСХН). Затем рассаду высаживали в поле для выращивания корней. От полученных растений были получены семенные потомства (поколение A_2). Цитологический контроль осуществлялся путём подсчета числа хромосом и оценки миксоплоидности клеточных популяций с помощью косвенного метода определения плоидности – число хлоропластов в замыкающих клетках устьиц [15]. В процессе развития растений у свеклы наблюдается геномная нестабильность, что приводит к миксоплоидности клеточных популяций. За счёт этого может происходить естественная диплоидизация гаплоидов и образование удвоенных гаплоидов.

Для окраски хромосом в точках роста молодых листочков и корешках материал обрабатывали 8-оксихинолином, затем фиксировали и окрашивали лакто-пропионовым орсеином [16]. Подсчет числа хлоропластов в замыкающих клетках устьиц – косвенный метод определения миксоплоидности клеточных популяций. Его проводили на листьях среднего размера, подсчитывали хлоропласты в 50 клетках каждого растения. Для окраски хлоропластов использовали азотнокислое серебро ($AgNO_3$).

гаплоидных клеток составила 37 %, однако полиплоидных клеток в эксперименте не наблюдалось, а доля диплоидных клеток не превысила 4 % (табл. 1, п/п 2). Такое разнообразие (табл. 1, рис.) свидетельствует, что в онтогенезе гаплоидов свеклы имеет место геномная нестабильность. Наблюдая такую изменчивость однозначно нельзя утверждать, что исследуемое растение является гаплоидным, ди-, три- или тетраплоидным, так как на препарате одного и того же растения присутствуют клетки с разным числом хромосом в ядрах (от 6 до 36 шт. и более).

Таблица 1. Изучение клеточной популяции по числу хромосом в апозиготических поколениях A_1 и A_2

п/п	поколение	Кол-во клеток с число хромосом, шт. (%)						Всего клеток
		< 9	9	10-17	18	27	36 и >	
1	A_1	5 (1,9)	105 (40,4)	65 (25,0)	59 (22,7)	22 (8,5)	4 (1,5)	260
2	A_2	4 (3,3)	46(37,4)	68 (55,3)	5 (4,0)	0	0	123

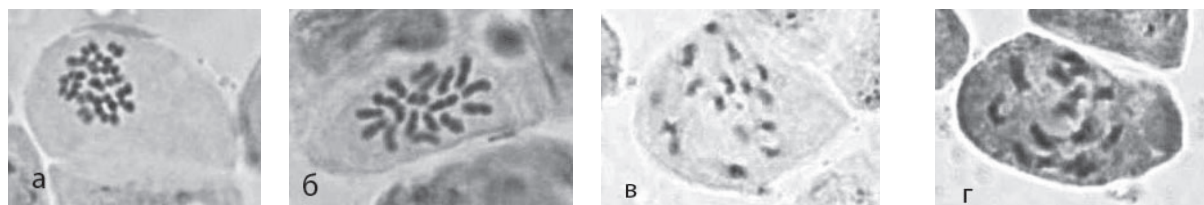


Рис. Фото клеток с различным числом хромосом: а – 36 хромосом; б – 18 хромосом; в – 16 хромосом; г- 13 хромосом

В таблице 2 приведены данные исследования растений по числу хлоропластов в замыкающих клетках устьиц. Эта методика является косвенным методом определения пloidности. С её помощью можно интегрально оценить клеточную популяцию растения. В поколении A_1 число хлоропластов в замыкающих клетках устьиц в среднем составило 14,6 хлоропластов на клетку, а диапазон изменчивости – 12-19 шт. на клетку. В поколении A_2 число хлоропластов было в среднем 13,0 шт., диапазон изменчивости

составил 8-18 шт. на клетку. Кроме того растения поколения A_2 показали высокий размах изменчивости в клеточной популяции ($\sigma^2 = 2,5$) в отличие от исходного поколения (A_1). Данные по числу хлоропластов в замыкающих клетках устьиц и числу хромосом в меристематических клетках свидетельствуют о нестабильности клеточных популяций растений, полученных при однородительском размножении. Наличие диплоидных клеток у гаплоидных растений свидетельствует о возможности спонтанной диплоидизации.

Таблица 2. Изучение клеточной популяции по числу хлоропластов в замыкающих клетках устьиц в апозиготических поколениях A_1 и A_2

Поколения	Распределение числа хлоропластов			Всего растений
	всего клеток	М	σ^2	
A_1	250	14,6± 0,76	1,54	5
A_2	300	13,0± 0,21	2,3	6

В процессе развития растений и при апозиготическом размножении у свеклы наблюдается геномная нестабильность, что приводит к миксопloidности клеточных популяций меристем. За счёт самоудвоения числа хромосом может происходить естественная диплоидизация гаплоидов и образование удвоенных гаплоидов. Мнение большинства исследователей по цитогенетике сводится к тому, что, гаплоидный уровень является одним из крайних состояний существования растительных организмов, а диплоидный уровень является наиболее сбалансированным. Между тем гаплоидные клетки имеют некоторые преимущества в клеточной попу-

ляции, у них более короткий митотический цикл, и успех получения диплоидных гомозигот (дигаплоидов) в значительной степени будет зависеть от доли диплоидных клеток в миксопloidной ткани гаплоидов [17].

Из-за нарушений деления, эндополипloidии, полиении возникает миксопloidность клеточных популяций, и гаплоидные клетки могут быть легко вытеснены диплоидными и теоретически возврат к диплоидной форме является процессом достаточно легко осуществимым. Диплоидизация может происходить также и вследствие многоядерности клеток, частного случая миксопloidии [18].

Выводы

1) Показано, что доля гаплоидных проростков в семенных партиях у гибрида Лентурон составила 11,4 %. 2) в клеточных популяциях наблюдается вариабельность как по числу внутриклеточных органелл (хлоропластов), так и по числу хромосом в клеточных популяциях вер-

хушечной меристемы. 3) миксоплоидность клеточных популяций свидетельствует о том, что именно за счет этого процесса может происходить спонтанная диплоидизация гаплоидных растений.

Работа выполнена при поддержке грантов: Интеграционного гранта №3 Президиумов СО РАН и НАН Белоруссии, а также грантов РФФИ: 12-04-90000-Бел-а, 13-04-00012-а и 13-04-90403-укр_ф_а.

Литература

1. Фаворский Н.В. Материалы по биологии и эмбриологии сахарной свеклы // Тр. науч. тр. института селекции. – Киев, – 1928. Вып. 2. – С. 1–18.
2. Ширяева Э.И., Ярмолук Г.И., Кулик А.Г., Червякова В.В. Апомиксис у самоопыленных линий сахарной свеклы и использование его в селекции // Цитология и генетика. – 1989. – Т. 11. – С. 32–48.
3. Сеилова Л.Б. Апомиксис у сахарной свеклы и его использование в практической селекции. // Автореферат дис. д-ра биол. наук. – Алматы. – 1996. – 44 с.
4. Малецкий С.И., Малецкая Е.И. Самофертильность и агамоспермия у сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) // Генетика. – 1996. – Т. 32, №12. – С. 1643–1650.
5. Левитес Е.В., Овечкина О.Н., Малецкий С.И. Авто- и эписегрегация по признакам окраски в агамоспермных потомствах сахарной свеклы // Генетика, 1999. Т. 35, №8. – С. 1086–1092.
6. Frenkel R. Uber das Auftreten von unreduzieren Gameten bei Angiospermen // Arch.Zucht.Forsch. – 1975. – Vol. 5. – P. 201–208.
7. Малецкий С.И., Колодяжная Я.С. Генетическая изменчивость в популяциях соматических клеток и ее влияние на репродуктивные признаки у покрытосеменных растений // Успехи современной генетики. – 1999. – Vol. 119, №2. – С.128–143.
8. Харечко-Савицкая Е.И. Цитология и эмбриология сахарной свеклы // Свекловодство. – К.: «Госсельхозиздат», 1940 – Т. 2. – С. 453–550.
9. Малецкая Е.И., Малецкий С.И. Апозиготический способ репродукции семян и гаплоидия у сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) // Сборник научных трудов: «Факторы экспериментальной эволюции организмов». – К.: «ЛОГОС» – 2006. – Т. 3. – С. 274–279.
10. Maletskaya E.I., Yudanova S.S., Maletskii S.I. Haploids in apozygotic seed progenies of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) // Sugar Tech. – 2009. – Vol. 11 (1). – P. 61–65.
11. Owen F.V. Cytoplasmically inherited male sterility in sugar beets // Journ. Agric. Res. – 1945. – Vol. 71 (10). – P. 423–440.
12. Карпеченко Г.Д. Экспериментальная полиплоидия и гаплоидия / Вавилов Н.И. (ред.) Теоретические основы селекции растений. – М., Л.: «Сельхозгиз», 1935. – Т. 1. – С. 397–432.
13. Тырнов В.С. Гаплоидия у растений. Научное и прикладное значение / М.: Наука – 1998. – 54 с.
14. Малецкая Е.И. Получение гаплоидных растений у сахарной свеклы // Сб. науч. тр.: «Реализация идей Вавилова на современном этапе развития генетики, селекции и семеноводства сельскохозяйственных культур». – Новосибирск, 2007. – С. 205–211.
15. Savitsky H. Effectiveness of selection for tetraploids plants in C0 generation on the basis of the number of chloroplasts in stomata // Amer. Soc. Sugar Beet Technol. – 1966. Vol. 13, №8. – P. 655–661.
16. Preeeda N., Yanagi T., Sone K., Taketa S., Okuda N. Chromosome observation method at metaphase and prometaphase stages in diploid and octoploid strawberries // Scintia horticulturae. – 2007. – Vol. 114. – P. 133–137.
17. Хохлов С.С., Гришина Е.В., Тырнов В.С. и др. Гаплоидия у покрытосеменных растений. – Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 1974. – Ч. II. – 180 с.
18. Юданова С.С. Миксоплоидия клеточных популяций сахарной свеклы и ее связь с репродуктивными признаками // Дис. канд. биол. наук. – Новосибирск. – 2004. – 126 с.

MALETSKAYA E.I., YUDANOVA S.S.

*Institute of Cytology and Genetics Siberian Branch of Russian Academy of Science
Russia, 630090, Novosibirsk, av. Lavrenteva, 10, e-mail: e_mal@bionet.nsc.ru*

CYTOLOGICAL ANALYSIS OF MIXOPLIIDY OF CELL POPULATIONS IN APOZYGOTIC OFFSPRINGS OF HAPLID PLANTS IN SUGAR BEETS

The *goal* of the paper was a cytological analysis of cells populations in the haploids plants of sugar beets.

Methods. A primary selection of haploids seedlings from apozygotic seed samplings was made by the morphological characters. Then the haploid state of plant was controlled by cytological methods. **Results.** It was examined a chloroplast number distribution in stomata guard cells and chromosome number distribution in cell nuclei of meristem. A broad variability of chloroplast number in cell populations was occurred. Number of chromosome in cell nuclei varied from 6 to 54 per cell. The share of diploid cells makes up 22.7 % in A_1 generation and accounts for only 4 % in A_1 generation. **Conclusion.** 1) It was shown that a share of haploid seedlings in seed sets of hybrid Lenturon make up 11.4 %. 2) Both a variability of chloroplast numbers and chromosomes numbers in apical meristems was observed in cell population. 3) The mixoploidy of cell populations indicates that spontaneous diploidization can be occur in of haploid plants.

Key words: cytological analysis, cells populations, haploids plants, mixoploidy, sugar beets.

МАМАЛИГА В.С.¹, КОНДРАТЕНКО М.І.², БУГАЙОВ В.Д.², ЯНЧУК В.І.¹

¹ Вінницький національний аграрний університет

² Інститут кормів та СГ Поділля НААН

Україна, 21008, м. Вінниця, вул. Сонячна, 3, e-mail: stepanovich1@yandex.ru

АНАЛІЗ УСПАДКУВАННЯ ДЕЯКИХ КІЛЬКІСНИХ ОЗНАК ГОРОХУ ПОСІВНОГО

Основним методом селекції гороху залишається гібридизація і спрямований систематичний добір перспективних форм з гібридного матеріалу. Успіх селекційної роботи при використанні даного методу визначається багатьма чинниками, одним з найважливіших серед них, за М.І.Вавиловим, є правильний підбір батьківських пар для схрещування [1]. За даними багатьох дослідників, однією з вихідних форм при гібридизації має бути зразок, що вже проявив добру екологічну пристосованість в ареалі можливого вирощування майбутнього сорту. В найбільш повній мірі цій умові відповідають зареєстровані та рекомендовані для вирощування в даній зоні сорти, які також мають мінімальну кількість негативних ознак.

В основі селекційної оцінки сортозразків, які планується використати в гібридизації, знаходиться інформація про характер успадкування господарсько-цінних ознак у них. Отримати таку інформацію можна шляхом схрещування відповідних сортозразків з іншими сортозразками

Матеріали і методи

Для дослідження були взяті 5 рекомендованих до вирощування в зоні Лісостепу України сортів гороху різних морфотипів – Харківський еталонний (напівбезлисточковий, напівкарликовий, неосипаємий), Світязь (листочковий, неосипаємий), Ефектний (напівбезлисточковий, осипаємий), Харді (напівбезлисточковий, осипаємий), Вінець (листочковий, неосипаємий). Між цими сортами були проведені схрещування з метою отримання гібридів F_1 між ними в кілько-

за різними схемами і подальшого аналізу отриманих гібридів F_1 та батьківських сортів за ознаками, що цікавлять дослідника. Рівень врожайності гороху визначається багатьма кількісними показниками, при оптимальному співвідношенні яких формується максимальний врожай. Ознаки кількості насінин з рослини, бобів на рослині, фертильних вузлів, бобів на фертильному вузлі, насінин в бобі, загальна кількість вузлів, довжина фертильної частини та маса 1000 насінин (в порядку значимості) забезпечують максимальний вклад в ознаку індивідуальної продуктивності – масу зерна з рослини [2].

Метою нашої роботи було вивчення характеру успадкування основних господарсько-цінних ознак у високопродуктивних сортів гороху різних морфотипів з метою створення нового вихідного матеріалу для селекції на покращення показників продуктивності і адаптивної здатності та підвищення технологічності збирання.

сті 10 гібридних комбінацій.

Досліди проводились в селекційній сівозміні дослідного господарства «Бохоницьке» Інституту кормів та сільського господарства Поділля НААН на сірих лісових ґрунтах з наступними агрохімічними показниками в орному (0–30 см) шарі: вміст гумусу (за Тюрнімом) 2,1–2,4 %, легкогідролізованого азоту (за Корнфілдом) 9–11,2 мг, рухомого фосфору і обмінного калію (за Чиріковим) 2,1–14,2 і 8,1–11,6 мг/100 г ґрун-