

УДК 633.63:576.3

М.В.РОЇК¹⁾, О.І.ЧЕРЕДНИЧОК¹⁾, Д.М. АДАМЕНКО²⁾, О.В.ДУБЧАК²⁾

¹⁾Інститут цукрових буряків УААН, ²⁾Верхняцька дослідно-селекційна станція ІЦБ

ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ АПОМІКТИЧНИХ ЗАРОДКІВ У ЦУКРОВИХ БУРЯКІВ

У статті обговорюється питання виникнення апоміктичних зародків і пошуку маркерних ознак апоміксису з метою використання їх у практичній селекції. Проводиться пошук нових елементів апоміксису, а також способів передачі цієї ознаки селекційному матеріалу.

Вступ. Апоміксис – складне біологічне явище, яке привертало увагу вчених, проте всебічне його вивчення розпочалось лише у ХХ сторіччі. Ідею практичного використання цього способу розмноження в селекції вперше висловив Карпеченко Г.Д. [1]. Тривалий час серед науковців виникали дискусії щодо еволюційного значення цього явища. Багато вчених вважало даний спосіб у розмноженні тупіковим явищем еволюції. Іншу точку зору запропонував Хохлов С.С. [2]. Ця ідея сприяла полеміці навколо даної проблеми, наслідком чого виникла гіпотеза Розанової М.А. [3] про здатність рослин до переходу на апоміктичний спосіб розмноження при виникненні несприятливих умов навколишнього середовища, який сприяє збереженню константності виду, збільшення його різноманіття і пристосованості.

Вважається, що баланс між статевим та апоміктичним способом розмноження сприяє підвищенню життєздатності, адаптивної та еволюційної пристосованості видів. У деяких видів (*Roa Pratensis*) баланс підтримується на рівні 50:50 апоміксису і амфіміксису. Апомікти піддаються прогресивній мінливості, а контроль збоку природного добору здійснюється набагато простіше порівняно з рослинами, що розмножуються амфіміктично. Крім того, у апоміктів зберігається зв'язок зі статевим процесом. У випадку навіть незначного формування фертильного пилку можна передавати цю ознаку селекційному матеріалу шляхом цілеспрямованих схрещувань[4].

Матеріал і методика досліджень. Досліди проводились в Інституті цукрових буряків УААН і на Верхняцькій ДСС. Було залучено лінії I₂S₁I₇ з адвентивною ембріонією та комбінаційно цінними лініями О типу та їх ЦЧС аналогами з метою отримання генотипів xxzzaabbcc – облігатного апоміксису з адвентивною ембріонією, а також сортів популяції веселоподільської та ялтушківської генплазми. Проводили цілеспрямовані схрещування в умовах ізоляції, використовували інцухт метод і метод кастрації. Цей же матеріал також вивчали в умовах вільного цвітіння на клумбах. Мікроспорогенез вивчали за методикою Ярмолюк Г.І. [5], ступінь дефективності пилку визначали за методикою Хохлова С.С. і Зайцевої М.І. [6]. Ідентифікацію матроклинних зародків проводили за методикою Ширяє-

вої Е.І. [7] з використанням мікроскопу NF та МБС-1, фотознімки вели за допомогою фотоапарату «Зенит».

Результати досліджень і їх обговорення. Перехід на безпилковий спосіб розмноження проходить внаслідок порушення генеративного процесу, тому вивчення закономірностей розвитку чоловічого і жіночого гаметофітів на всіх стадіях розвитку дозволяє ідентифікувати та оцінити селекційний матеріал.

Порушення у мейозі у цукрових буряків з елементами апоміксису відмічено різними дослідниками неодноразово [8, 9]. Найбільш уразливим періодом при формуванні чоловічого гаметофіту є профаза мейозу, тому в окремих ліній з елементами апоміксису спостерігалась неповна кон'югація хромосом, інверсії на стадії пахітени (рис 1), яка є критичною при формуванні низки ознак. Як наслідок цього, на стадії діакінеза і метафази I (MI) відмічено уніваленти, поліваленти і транслокації (рис 2). Особливу зацікавленість викликали лінії, в яких відмічено утворення нередукованих гамет (рис 3). Причиною їх виникнення є мутація «паралельних веретен». Такі мутації можуть бути маркерною ознакою при пошуку елементів апоміксису з нередукованим партеногенезом, яка є однією із форм регулярного апоміксису, що має практичне використання в селекції. Виділено лінії у яких спостерігали нередукований пилкок у вигляді гігантських пилкових зерен (макронуклеусів) розмірами 29,0-37,7 мкм (табл. 1).

Таблиця 1

Порівняльні дані якості пилку у матеріалів тривалого інцухтування (I₂S₁I₇) з елементами апоміксису

№ лінії	Розміри основної маси пилкових зерен, мкм	Кількість фертильних пилкових зерен, %	Розміри не редукованих пилкових зерен, мкм	Кількість не редукованих пилкових зерен, %	Кількість стерильних пилкових зерен, %
2/05	17,4-20,3	33,8	34,8-37,7	2,0	65,2
13/05	20,3-23,2	92,0	34,8-37,7	поодинокі	7,8
25/05	20,3-26,1	74,6	29,0	0,8	24,6
29/05	17,4-20,1	55,7	31,9	1,5	42,8
40/05	17,4-23,2	51,9	29,0-31,9	0,5	47,6
44/05	20,3-23,2	35,5	31,9	1,7	62,8
56/05	20,3-23,2	58,2	34,8	2,5	39,3
67/05	17,4-20,3	74,8	34,8	0,5	24,7
68/05	20,3-23,2	90,0	34,8	поодинокі	9,9
73/05	20,3-23,2	95,0	31,9	поодинокі	4,8
75/05	20,3-26,4	31,6	34,8	0,7	67,7

Проводили також спостереження за морфологічними ознаками пилкових зерен у лінії О типу ЦЧС форм і сортів популяцій. У самонесумісних ліній О типу спостерігали таку ж закономірність, як і у самофертильних інцухт-ліній – біля 11% рослин були повністю стерильними, біля 8% повністю фертильними, у решти рослин (81%) на тлі

фертильного пилку спостерігали від 5 до 95% стерильних пилкових зерен. Пилок сортів-популяцій відрізнявся більшою вирівняністю, проте поодинокі рослини мали до 24% стерильного пилку. Оскільки за ступенем дефективності пилку (СДП) пов'язані всі параметри, що характеризують стан зародкового мішка [6], коефіцієнт кореляції між СДП та СДЗМ (r) дорівнює 0,63. Проте слід відмітити, що у інцухт-ліній, у яких відмічено формування зародків з адвентивною ембріонією, невисокий рівень цукристості, що потребує подальшого селекційного опрацювання [13]. Передача цієї ознаки шляхом гібридизації з селекційно-цінними матеріалами є перспективним напрямом, який слід розвивати. [12, 13].

За даними дослідників, для рослин цукрових буряків характерна самофертильність [11,12], це є перешкодою для ідентифікації зав'язаних плодів з причини апоміксису. Як показали цитоембріологічні дослідження, процес формування жіночого гаметофіту у інцухт-ліній I_2S_{117} характеризуються значними порушеннями, наслідком яких було утворення до 60% апоміктичних зародків у невеликій кількості субліній (4%). Більшість аномалій є ембріологічними ознаками апоміксису, які створюють умови для цього прояву. Виділена лінія 3305, у якій відмічена мутація мікропілярної частини зародкового мішка (рис 4). В них статевий зародок гине із-за нестачі поживних речовин, тому в другій частині зародкового мішка формується адвентивний зародок.

Адвентивний зародок, що виникає із клітин нуцелуса, проникає у зародковий мішок, однак нами відмічено, що нуцелярний зародок завдяки тяжам не втрачає зв'язку з нуцелярними клітинами, багатими на поживні речовини [10]. Адвентивні зародки, які виникають із клітин інтегументів, частіше гинуть (рис. 6), якщо у зародковому мішку не сформовано ендосперм, що виникає після подвійного запліднення іншим спермієм з центральною клітиною зародкового мішка. На кастрованих квітах формування адвентивних зародків спостерігали на 2-3 добу після кастрації, що мали вигляд 8-10 клітинних шариків і були розташовані найчастіше навколо мікропілярної частини. Проникаючи до зародкового мішка, такі зародки знаходяться на різних стадіях розвитку (поліембріонія) (рис 5).

Маркерною ознакою для виявлення у цукрових буряків апоміксису може бути також відсутність андроцею, проте ця аномалія зустрічається досить рідко, але свідчить про високу ступінь апоміктизації. Кореляцію між способом розмноження і явищем редукції квітки спостерігала Савіна О.І. [14], яка вважала, що це основа для створення антморфологічного виявлення апоміктичних форм різних культур. Як показали ембріологічні дослідження [8, 9], кількість утворених апоміктичних зародків вище у самофертильних ліній порівняно зі самонесумісними формами, в середньому до 39,8% таких зародків. Відмічена сублінія №705, у якій було до 56,7% адвентивних зародків. Відмічено також, що 5 субліній характеризувалися наявністю від 11,1 до 56,7% адвентивних зародків. Дослідження показали, що у ЦЧС ліній було в двічі більше апоміктичних зародків порівняно з лініями О типу. Встановлено, що схильність до

утворення апоміктичних зародків вища у сорту Ялтушківська однонасінна 64 порівняно з сортом Веселоподолянська однонасінна 29, а схильність до утворення апоміктичних зародків ліній О типу і ЧС форм значно нижча ніж у ліній глибокого інцухта (табл. 2).

Таблиця 2

Наявність апоміктичних зародків в процесі ембріогенезу у різних форм цукрових буряків

Селекційний матеріал	Кількість насінневих бруньок, шт.	Утворення додаткових зародків, %			Мішечок в халазі, %	Тіло в халазі, %	Бокове розташування зародку, %	Аномальне розташування зародку, %	Кількість апоміктичних зародків \bar{x} , %
		в мікропіле з.м*	в середній частині з.м.	в халазальній частині з.м.					
Лінії О типу	304	0,3	-	0,7	11,2	0,3	0,3	0,7	1,8
ЧС форми	326	1,5	0,6	-	16,0	0,6	0,3	1,2	3,6
ВП одн.29*	344	0,6	-	-	9,9	0,9	-	0,6	1,2
Ялт.одн.64*	124	-	2,4	-	18,5	0,8	-	-	2,4
Інцухт лінія	278	2,5	34,5	-	13,3	2,5	-	2,8	39,8

Примітка. *ВП-одн.29- Веселоподільський одн. 29; Ялт.-одн.64 – Ялтушківський одн. 64; з.м. – зародковий мішок.

Висновки. 1. Вивчено особливості формування апоміктичних потомків у диплоїдних форм цукрових буряків та їх типи: нуцелярна та інтегументальна ембріонія, поліембріонія, партеногенез.

2. У цукрових буряків основною маркерною ознакою для ідентифікації генотипів з елементами апоміксису можуть бути морфологічні особливості пилку. Однак більш точним та інформативним є ідентифікація за цитоембріологічними особливостями.

3. Адвентивні зародки нуцелярного та інтегументального походження в процесі розвитку мають різні джерела живлення.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Карпеченко Г.Д. Экспериментальная полиплоэдия и гаплоидия// Теоретические основы селекции растений. Т. 1. Общая селекция. – М.-Л.-1935.- С. 397-435.
2. Хохлов С.С. Исторические предпосылки и эволюционное значение апомиксиса покрытосеменных // Доклады АН СССР, Новая серия. – 1946. Т. 52.- №9. –С. 811-814.
3. Розанова М.А. Апомиксис и гетерогамия в подсемействе Rosoideae или Rosaceae// Докл. АН СССР.-1948. 59. №5.- С. 51-68
4. Hanna W.W., Bachaw E.G. Apomixis: its identification and use in plant breeding // Crop. Sci. - 1987. – 27, №6. – P. 1136-1139.
5. Ярмолюк Г.И. Цитологические и цитогенетические исследования в селекции сахарной свеклы // Методические рекомендации. К.: Наукова думка.- 1982. -С. 15-17.

6. Хохлов С.С., Зайцева М.И., Куприянов П.Г. Выявление апомиктических форм во флоре цветковых растений СССР // Программа, методика, результаты. – Изд. Саратов. ун-та.- 1978. – С. 19-23.

7. Ширяева Э. И. Методика ускоренного изучения эмбрионального развития семян сахарной свеклы // Методические указания по цитозембриологическим исследованиям в селекции сахарной свеклы.- К.:ВНИС.- 1984.- С. 32-34.

8. Ширяева Э. И., Ярмолюк Г.И, Кулик А.Г. Апомиксис у сахарной свеклы//Цитогенетические и цитозембриологические исследования в селекции сахарной свеклы.- К.: ВНИС. -1988.-С.28-38.

9. Білогородська С.П., Ярмолюк Г.І., Бедренко А.І. Акумуляція елементів апоміксису у цукрових буряків//Збірник наукових праць, вип.2.-К.: 2000.- С.45-54.

10. Ширяева Э. И. Морфологическое и функциональное изучение мужского гаметофитов в процессе оплодотворения у *B vulgaris* L.//Цитогенетические и цитозембриологические исследования в селекции сахарной свеклы.- К.: ВНИС. -1988.-С.15-28.

11. Роїк М.В., Корнєєва М.О., Власюк І.В., Власик М.В. Методичні рекомендації зі створення самофертильних ліній-запилувачів компонентів ЧС гібридів цукрових буряків. К.: Аграрна наука,2004.-14с.

12. Гриненко Т.Ф. Самоопыление у сахарной свеклы//Свекловодство. – К.: Сельхозгиз.-1940-Т.1.- С.724-741.

13. Бедренко А.И. Применение инцухт-метода, индивидуально-родового отбора и метода беккроссов для создания новых исходных односемянных материалов сахарной свеклы и их селекционно-генетическое изучение. Автореферат на соискание ученой степени кандидата с.-х. наук.- К.: ВНИС.-1989.-25с.

14. Савіна О.І., Роїк М.В., Білогородська С.П. Редукція квіток у тютюну при апоміксисі// Вісник аграрної науки.-К.: 2003.-№5.-С.40-42.



Рис. 1 Інверсії на стадії пахітени

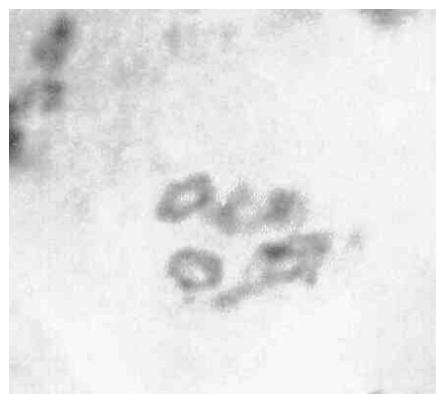


Рис. 2 Транслокації у вигляді кілець

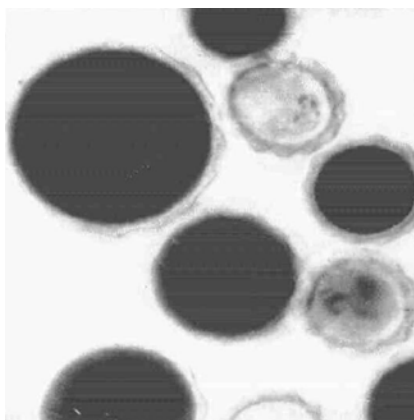


Рис. 3 Нередукований пилку на фоні пилку нормального розміру

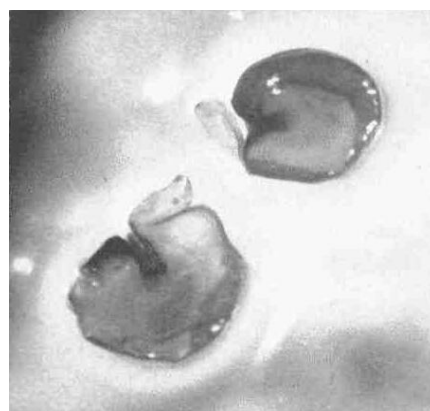


Рис. 4 Мутація мікропілярної частини зародкового мішку

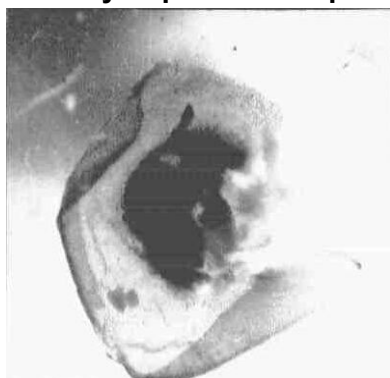


Рис. 5 Два апоміктичних зародка на різних стадіях розвитку (поліембріонія)

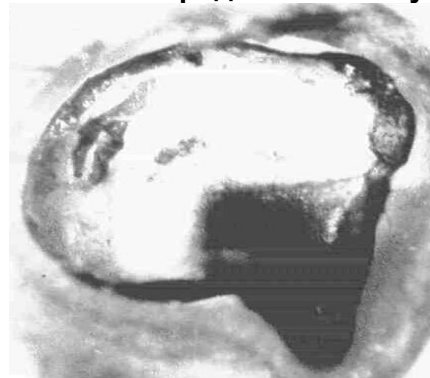


Рис. 6 Загибель інтегументального зародку внаслідок нестачі джерел живлення

Аннотація

УДК 633. 63:576.3

Особенности формирования апомиктических зародышей у сахарной свеклы

Н.В.Роик, О.И.Чердничок, Д.М. Адаменко, О.В.Дубчак.

В статье обсуждается вопрос формирования апомиктических зародышей у сахарной свеклы, поиску маркерных признаков апомиксиса с целью использования их в практической селекции. Проводится поиск новых элементов апомиксиса, а так же способов передачи этого признака селекционному материалу.

Features of formation of apomictic embryos in sugar beet

M. Roik, O.Cherednichok, D. Adamenko, O. Dubchak.

The article deals with the problem of origin of apomictic embryos in sugar beet and a search for marker characters of apomixis with the aim of their use in practical breeding. The search for new elements of apomixis and also methods of transfer of this character to breeding material is carried out.

О.І. КОСТЕНКО, М.О. КОРНЕЄВА
Інститут цукрових буряків УААН

**ТИПИ УСПАДКУВАННЯ СТІЙКОСТІ ПРОТИ ГНИЛЕЙ У ПЕРІОД ВЕГЕТАЦІЇ
ГІБРИДАМИ ЦУКРОВИХ БУРЯКІВ НА ОСНОВІ ГЕННОЇ ТА
ЦИТОПЛАЗМАТИЧНОЇ ЧОЛОВІЧОЇ СТЕРИЛЬНОСТІ**

Вивчено успадкування стійкості проти гнилей коренеплодів у період вегетації в потомків F_1 , створених на основі двох типів стерильності – генної та цитоплазматичної. Встановлено, що гібриди на основі ГЧС успадковують ознаку переважно за проміжним типом і для їх поліпшення необхідне покращення обох батьківських компонентів. Гібриди на основі ЦЧС характеризуються у більшості випадків позитивним домінуванням, що означає необхідність селекційного покращання за стійкістю проти гнилей коренеплодів лише одного компоненту.

Вступ. Гнилі коренеплодів у період вегетації є шкодочинною хворобою цукрових буряків останнього десятиліття.

Ряд вітчизняних вчених [1-5] працює над вивченням стійкості селекційного матеріалу проти гнилей коренеплодів у період вегетації, розробкою нових методик польової оцінки, лабораторного добору вихідних форм та створенням стійких гібридів цукрових буряків. Останні селекційні доробки вчених забезпечили підвищення рівня стійкості селекційного матеріалу та включення його до екологічного сортовипробування.

Найбільш ефективним методом боротьби з цією хворобою є створення стійкого селекційного матеріалу. Для вирішення цього питання селекціонерам необхідно досконало вивчити збудників захворювання та генетичні і біологічні особливості механізмів стійкості у буряків [6-10].