

ОТРИМАННЯ СЕЛЕКЦІЙНОГО МАТЕРІАЛУ *RIBES NIGRUM L.*, *RIBES RUBRUM L.*, *GROSSULARIA RECLINATA MILL.* МЕТОДОМ АВТОПОЛІПЛОЇДІЇ

І. Е. БУЧЕНКОВ

Міжнародний державний екологічний університет імені А. Д. Сахарова
e-mail: butchenkow@list.ru

*Викладені питання створення селекційного матеріалу смородини та агрусу методом експериментальної автополіплоїдії, отримані автотетраплоїди *R. nigrum L.*, *R. rubrum L.*, *Gr. reclinata Mill.* білоруського сортименту і виділені перспективні форми для селекційних і практичних цілей. Ефективним способом отримання автотетраплоїдів *R. nigrum*, *R. rubrum*, *Gr. reclinata* є обробка верхівкових бруньок у стадії початку розпускання 1% водним розчином колхіцину протягом 36 годин методом накладання желатинових капсул. Автотетраплоїди смородини та агрусу мають збільшені розміри клітин тканин вегетативних органів (клітин епідермісу, продихів, хлоропластів) та генеративних органів (квіток, плодів), що є критерієм первинного їх відбору, до проведення цитологічного аналізу. Індуковані автотетраплоїди *R. nigrum*, *R. rubrum*, *Gr. reclinata* представляють якісно новий вихідний матеріал, який може бути використаний в селекції цих культур на поліплоїдному рівні для отримання форм з великими плодами, що містять мало насіння і мають підняту форму куща.*

Ключові слова: Смородина чорна, смородина червона, агрус, автополіплоїдія, селекційний матеріал.

Вступ. Останніми роками встановлено, що селекція на рівні диплоїдів в межах одного виду заходить в глухий кут. Головна перевага автополіплоїдії полягає у створенні резерву комбінативної мінливості на тлі подвоєння хромосом і можливості отримувати вихідний генофонд з різноманітними ознаками (Бавтуто 1980).

Смородина і агрус задовольняють вимогам, що пред'являються до рослин, обробка яких колхіцином є перспективною: це диплоїди ($2n=16$), еволюціонують на диплоїдному рівні, схильні до вегетативного розмноження, що дозволяє закріпити викликані поліплоїдії спадкові зміни (Knotte 1991, Бученков, 2005).

Використовуючи метод експериментальної автополіплоїдії, вже отримані тетраплоїдні форми різних дикорослих видів і культурних сортів смородини чорної, смородини червоної і агрусу. З створеного матеріалу відібрані форми, стійкі до грибних і вірусних захворювань, бруньковому кліщу, з підвищеною зимостійкістю. У процесі селекційного доопрацювання виділені конкурентоспроможні форми, що поєднують стійкість до несприятливих факторів зовнішнього середовища з високою продуктивністю і хорошою якістю плодів (Friedberg 2006, Кильчевский 2007, Тарасенко 2010, Артемчук 2012). Однак дані про концентрацію, способи нанесення та експозиції дії колхіцину суперечливі і вимагають уточнення.

20

У зв'язку з цим метою наших досліджень було відпрацьовано методику отримання і відбору автополіплоїдів смородини та агрусу.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проводили з 1996 по 2009 рр.. на агробіологічній станції Білоруського державного педуніверситету, а з 2009 по 2013 рр.. на дослідному полі Поліського державного університету. Об'єктами дослідження були сорти смородини чорної – Пам'яті Вавилова, Минай Шмирев, Кантата 50, Церера, Катюша; смородини червоної – Ненаглядна, Голландська червона, Пригажуня; агрусу – Яровий, Білоруський червоний, Машека. Для отримання автополіплоїдів проводили обробку верхівкових бруньок у фазі початку розпускання 0,1; 0,5; 1,0; 1,5% розчинами колхіцину в воді, гліцерині, агар-агарі при експозиціях 24, 36, 48 ч. У кожному варіанті обробляли по 160 – 180 бруньок. Використовували два способи нанесення розчинів – накладення желатинових капсул і накапування на верхівкову меристему. Після обробки бруньки промивали 0,001% розчином гетероауксину, а після розвитку пагонів, їх відрізали і вкорінляли в умовах штучного туману.

Підрахунок хромосом в клітинах кінчиків корінців здійснювали на забарвлених давлених препаратах, приготовлених за описаною методикою (Рыбин, 1997).

Результати досліджень. Підсумовуючи дані оцінки прийомів поліплоїдизації смородини та агрусу за умовою виходу рослин тетраплоїдного

типу, до найбільш ефективного слід віднести спосіб накладення желатинових капсул з 1% водним розчином колхіцину на верхівкові бруньки у фазі початку розпускання при експозиції 36 годин (табл. 1).

Таблиця 1.

Результати прийомів поліплоїдизації

Table 1.

Results obtained applying different polyploidization protocols

Поліплоїдизуючий розчин	Метод нанесення	Концентрація розчину, %	Експозиція, годин	Отримано тетраплоїдів, шт. *
колхіцин у воді	накапування на верхівкову меристему	0,1	24	-
			36	-
			48	-
		0,2	24	-
			36	1
			48	6
	накладення желатинових капсул	1,0	24	15
			36	42
			48	20
		1,5	24	6
			36	1
			48	-
колхіцин у гліцеролі	накапування на верхівкову меристему	0,1	24	-
			36	-
			48	-
		0,5	24	-
			36	1
			48	5
	накладення желатинових капсул	1,0	24	23
			36	42
			48	17
		1,5	24	4
			36	-
			48	-
колхіцин у агар-агарі	накапування на верхівкову меристему	0,1	24	-
			36	-
			48	-
		0,5	24	-
			36	1
			48	6
	накладення желатинових капсул	1,0	24	17
			36	38
			48	22
		1,5	24	12
			36	2
			48	-

накладення желатинових капсул	1,0	48	6	
		24	16	
		36	31	
	1,5	48	15	
		24	9	
		36	2	
	накладення желатинових капсул	0,1	48	-
			24	-
			36	-
		0,5	48	-
			24	-
			36	3
1,0		48	7	
		24	22	
		36	38	
1,5		48	18	
		24	6	
		36	1	
		48	-	

* Загальні дані по всіх сортах *R. nigrum*, *R. rubrum*, *Gr. reclinata*.

У зв'язку з тим, що великий щорічний обсяг колхіцінованого матеріалу не дозволяв проводити цитологічну оцінку всіх досліджених рослин, наприкінці першого вегетаційного періоду здійснювали відбір тетраплоїдів за морфологічними ознаками. У групу «потенційних тетраплоїдів» відбирали рослини із збільшеними розмірами вегетативних органів і різко зміненою за формою листовою платівкою. Пагони без змін і сильно пригнобилені вибраковували. Подальший відбір тетраплоїдів проводили за результатами цитологічного аналізу. На основі морфологічного аналізу було відібрано 340 рослин смородини чорної (20,36% від оброблених), 117 – смородини червоної (24,59%), 224 – агрусу (18,88%), а на основі цитологічного аналізу – 97 рослин смородини чорної (5,83% від оброблених), 23 – смородини червоної (9,44%), 76 – агрусу (6,48%). Слід зазначити, що поряд з константними тетраплоїдами ($2n=4n=32$) були виявлені рослини з різною плоїдністю ($2n=16$, $2n=3n=24$) та хромосомною мозаїкою ($2n=14$, 19, 25, 30). Остання група рослин для досліджень інтересу не виявляла, тому їх вибраковували.

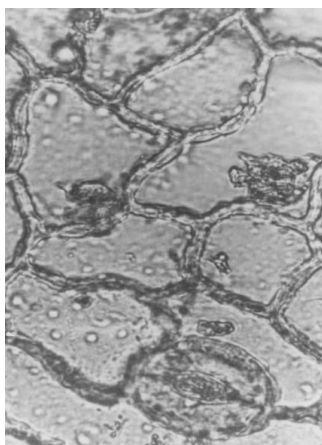
Морфо-анатомічний аналіз відібраних форм показав:

Автотетраплоїди *R. nigrum* – рослини, що не перевищують по висоті диплоїдні сорти, але мають потужніші, слабо розгалужені пагони, більші бруньки і листя. Характерною особливістю є асиметричні, сильно горбисті листові пластинки. Квіти відрізняються великими розмірами і дещо витягнутою формою, мають більш світле забарвлення пелюсток. Ягоди за формою і кольором мало відрізняються від диплоїдних, але містять мало насіння. Форми зимостійкі, стійкі до брунькового кліща та антракнозу.

Автотетраплоїди *Gr. reclinata* – рослини з компактними кущами гетерозисного типу. Пагони погано гілкуються, спрямовані косо вгору. Характерні великі, близько розташовані пазушні бруньки. Листя темно-зелене, майже вдвічі більше, ніж у диплоїдів. Квіти більші ніж у диплоїдів, з крупною зав'язю. Плоди округлі, за розмірами і масою дещо перевищують диплоїдні, тримають мало насіння. Форми зимостійкі, стійкі до американської борошнистої роси.

Автотетраплоїди *R. rubrum* – високорослі рослини з потужними пагонами. Бруньки за розмірами і забарвленням не відрізняються від диплоїдів, але мають більш відхилене положення на втечу. Листя велике, більш темне, неправильної форми. Зубчики краю листової пластинки більш округле, менш загострене. По діаметру і довжині квіти більші диплоїдних. Забарвлення квіток, форма і колір плодів подібні з диплоїдів. Маса ягід трохи вище диплоїдних

сортів. Насіння мало. Вивчення анатомічної будови листя показало, що клітини верхнього і нижнього епідермісу тетраплоїдних форм більше, ніж клітини диплоїдів (мал.1.). Для автотетраплоїдів характерне збільшення довжини замикаючих клітин продихів, кількості та розмірів хлоропластів в них, зменшення числа продихів і ароматичних залозок на одиницю площі епідермісу (табл. 2). Відзначено також зменшення шарів стовпчастого мезофілла і діаметра судинно-волокнистих пучків у порівнянні з диплоїдами. Для всіх індукованих нами автотетраплоїдів характерна хороша, але знижена в порівнянні з диплоїдами плодючість. У зв'язку з цим вивчали особливості пилку. Дослідження показали, що при переведенні диплоїдних сортів на тетраплоїдний рівень фертильність знижується в 1,2 – 1,8 рази. У сортів *R. nigrum* фертильність пилку склала 78 - 80 %, *R. rubrum* – 84 %; *Cr. reclinata* – 36-41 %.



A



B

Рис. 1. Будова нижнього епідермісу листків смородини чорної (збільшення 1925).

Примітка: А – диплоїд; Б – автотетраплоїд

Fig. 1. The structure of the lower epidermis of black currants leaves (magnification 1925).

Note: A – dyploid; B – avtotetraploid.

Таблиця 2.

Узагальнені дані будови епідермальних структур листя диплоїдних і тетраплоїдних форм

Table 2.

Summarized results of the structure of the epidermal structures of the leaves of diploid and tetraploid forms

Ознака	<i>R nigrum</i>		<i>R. rubrum</i>		<i>Gr. reclinata</i>	
	2 n = 16	2 n = 16	2 n = 16	2 n = 32	2 n = 32	2 n = 32
Розміри клітин верхнього епідермісу (збільшення 7x20)**	7,2±0,7*	6,4±0,5	5,8±0,3	11,2±0,8	10,8±0,8	12,4±0,9
Розміри клітин нижнього епідермісу (7x20)**	4,6±0,6	5,2±0,7	3,9±0,7	6,5±0,9	13,8±1,1	8,1±1,2
Розміри замикаючих клітин продихів (10x20)**	4,1±0,7	3,8±0,5	3,6±0,6	5,9±0,7	6,9±0,7	7,5±0,9
Розміри хлоропластів в замикаючих клітинах продихів (15x90)**	27,7±1,4	25,6±1,3	23,8±1,3	27,6±1,4	29,2±1,4	31,2±1,5
Продихів в полі зору мікроскопа (10x20), шт.	58,1±2,3	46,2±1,7	61,3±2,5	25,6±1,3	19,6±1,1	28,4±1,5
Число хлоропластів в замикаючих клітинах продихів (10x60), шт.	14,2±1,4	13,8±1,0	11,9±0,9	20,6±1,1	21,6±1,2	23,6±1,3
Кількість ароматичних залозок на 1 см ² (10x20), шт.	30,8±1,5	16,7±1,3	-	-	-	-

* Представлені значення $X \pm xs$; ** У поділках окуляр-мікрометра.

Відсоток великих, нормально сформованих та пророслих пилкових зерен автотетраплоїдів коливається в межах 31-38% у *R. nigrum*, 39-41 % у *R. rubrum*, 27-33 % у *Cr. reclinata*. Таким чином, у автотетраплоїдів відсоток abortивного пилку різко зростає порівняно з диплоїдами.

Висновки.

1. Метод автополіплоїдії при роботі з культурами *R. nigrum*, *R. rubrum*, *Cr. reclinata* створює резерв комбінативної мінливості і дозволяє отримувати вихідний генофонд з різноманітними ознаками.
2. Ефективним способом отримання автотетраплоїдів *R. nigrum*, *R. rubrum*, *Gr. reclinata* є обробка верхівкових бруньок у стадії початку розпускання 1 % водним розчином колхіцину протягом 36 годин методом накладання желатинових капсул.
3. Автотетраплоїди смородини та агрусу мають збільшені розміри клітин тканин вегетативних органів (клітин епідермісу, продихів, хлоропластів) та генеративних органів (квіток, плодів), що є критерієм первинного їх відбору, до проведення цитологічного аналізу.
4. Індуковані автотетраплоїди *R. nigrum*, *R. rubrum*, *Cr. reclinata* представляють якісно новий вихідний матеріал, який може бути використаний в селекції цих культур на поліплоїдному рівні для отримання форм з великими плодами, що містять мало насіння і мають підняту форму куща.
5. Зниження плодючості автотетраплоїдів смородини та агрусу в порівнянні з диплоїдними сортами пов'язана з аномаліями розвитку пилку.

CREATION OF BREEDING MATERIAL OF RIBES NIGRUM L., RIBES RUBRUM L., GROSSULARIA RECLINATA MILL. BY AUTOPOLYPLOIDY

I. E. Buchenkov

*The article presents the aspects of creation of breeding material of blackcurrant (*R. nigrum* L.), redcurrant (*R. rubrum* L.), and gooseberry (*Gr. reclinata* Mill.) using the method of experimental autopolyploidy. During the experiments, the autotetraploids of *R. nigrum* L., *R. rubrum* L., *Gr. reclinata* Mill. from the Belarusian assortment were created, and perspective forms for breeding and practical purposes were identified. An effective way to obtain the autotetraploids of *R. nigrum*, *R. rubrum*, *Gr. reclinata* is an apical buds treatment in the early stages of budding with 1 % aqueous solution of colchicine for 36 hours by imposing gelatin capsules. Autotetraploids of currant and gooseberry have an increased size of tissue cells of vegetative organs (epidermal cells, stomata, chloroplasts) and generative organs (flowers, fruits), which is the criterion for their primary selection. The final selection should be done based on the cytological analysis. Induced autotetraploids of *R. nigrum*, *R. rubrum*, *Gr. reclinata* is a qualitatively new raw material that can be used for breeding of these cultures in polyploid level to create forms with large fruits, low amount of seeds and a compact bush shape.*

Key words: Black currant, red currant, gooseberry, avtopoliploidy, the initial breeding material.

Одержано редколегією 09.07.2015

Список літератури:

1. Артемчук, И.П. Эффективность мутагенных факторов в создании исходного материала с хозяйственно-ценными признаками/ И.П. Артемчук // Мат. Межд. науч. конф. «Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы». – Мн., 2012. – С. 39.
2. Бавтуто Г.А. Обогащение генофонда и создание исходного материала плодово-ягодных культур на основе экспериментальной автополиплоидии и мутагенеза: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.05. – Тарту, 1980. – 49 с.
3. Бученков И.Э., Кавцевич В.Н., Бавтуто Г.А. Создание исходного селекционного материала плодово-ягодных культур на основе полиплоидии. // Агроэкология: сб. науч. тр. – Горки, 2005. – Вып. 2.– С. 17–21.
4. Кильчевский, А.В. Эколого-генетические аспекты селекции растений /А.В. Кильчевский, Л.В. Хотылева // Сб. науч. тр.: Молекулярная и прикладная генетика / ред. колл.: А.В. Кильчевский (гл. ред.) [и др.]. – Мн., 2009. – Т. 9. – С. 14-18.
5. Рыбин В.А. Цитологический метод в селекции плодовых. – М.: Колос, 1967. – 216 с.
6. Тарасенко, Н.Д. Индуцирование мутации и устойчивость сельскохозяйственных культур к заболеваниям / Н.Д. Тарасенко // Международные научные связи. – 2010. – С. 93-96.
7. Friedberg E.C. DNA repair and mutagenesis / E.C. Friedberg, G.C. Walker, W. Siede, R.D.Wood, R.A. Schultz, T. Ellenberger. — part 3. Washington: ASM Press. — 2006. 2nd ed.
8. Knotte, D.R. What determines the success of mutation breeding / D.R. Knotte // Plant Mutat. Breed. For Crop Improv: Proc. Int. Symp. – Vol. 1. – Vienna. 1991. – P. 11–18.