

ПОЛІПЛОЇДІЯ В СЕЛЕКЦІЇ БУРЯКУ СТОЛОВОГО

Корнієнко С. І., Нестеренко Є. П., Горова Т. К., Ремпель І. М., Ковальчук Н. С.
Інститут овочівництва і баштанництва НААН, Україна

У статті висвітлено результати досліджень з використання у селекції буряку столового багаторосткового явища поліплоїдії при отриманні нових генотипів обробкою насіння колхіцином. Наведено геномну мінливість поліплоїдних форм та визначено їх доцільність і значення для селекційного процесу. Встановлено, що поліплоїдний зразок К 1975 від скоростиглого сорту Дій перевищив за урожайністю вихідну форму на 4,6 т/га, тоді як зразок К 1792 від скоростиглого сорту Бордо харківський – на 6,3 т/га. Спостерігалась тенденція збільшення виходу типових коренеплодів і біохімічного складу. У поліплоїдних зразків за використанням цитофотометричного методу аналізу геномної мінливості насіння за ступенем плоїдності К 64-226 мав 2х – 15, 3х – 2, 4х – 29, міксоплоїдів – 4, тоді як К 66-227 – 4х – 25 і міксоплоїдів – 24.

Ключові слова: буряк столовий, вихідна форма, поліплоїдний зразок, колхіцин, геномна мінливість, біохімічний склад, урожайність

Вступ. Іноземні і вітчизняні досягнення експериментального мутагенезу та поліплоїдії на цукровому і кормовому буряку останніми роками призвели до розробки нових генетичних методичних підходів, які дозволяють прискорити селекційний процес та розширити різноманіття вихідних форм за збільшеним проявом ефекту гетерозису за урожайністю, продуктивністю, стійкістю проти хвороб та вмісту хімічних лікувальних речовин [1, 2, 3, 4].

Аналіз літературних джерел, постановка проблеми. Поліплоїдні форми формуються як в природі (спонтанна поліплоїдизація), так і методами індукції (поліплоїдизуючої речовини – колхіцину 0,05 %) [5]. Найбільш ефективним методом визначення геномної мінливості та поліплоїдних форм (тетра, триплоїдів) за рівнем геному за дослідженнями Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН визнано метод флюорисцентної цитофотометрії з використанням комп'ютерних програм аналізатора плоїдності «Partec» [6, 7, 8]. Виходячи з цього, перед нами було поставлено завдання науково обґрунтувати існуючі методи створення поліплоїдних зразків з метою застосування в селекції буряку столового.

У селекції виду буряку звичайного *Beta vulgaris* L. ефективним методом створення нового конкурентозданого вихідного матеріалу є поліплоїдія як фактор і наслідок еволюції рослин [9, 10]. Явище поліплоїдії, яка визначається зміною рівнів плоїдності в межах оптимального рівня для виду, відображено у роботах С. С. Хохлова [11], В. А. Кунах [12] і Т. В. Чугункова [13].

Мета і задачі дослідження. Встановити діапазон геномної мінливості поліплоїдних зразків буряку столового та визначити їх господарську цінність для селекції.

Матеріал та методика. Дослідження з отримання поліплоїдних форм буряку столового в Інституті овочівництва і баштанництва НААН розпочато з 2000 р. Поліплоїдні форми створено експериментально при обробці насіння перед сівбою 0,05 % розчином колхіцину. Вивчення дії колхіцину на структуру клітинних популяцій сім'ядольних листочків за плоїдністю проводили за методикою, розробленою М. В. Роїком, Н. С. Ковальчук [14] в Інституті біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН.

Біометричні показники поліплоїдних зразків буряку столового, 2010-2014 рр.

№ ділянки	Зразок	Розетка, см		Кількість листків, шт.	Листкова пластина, см		Коренеплід, см		Довжина осьового корінця, см	Діаметр голівки, см	Форма коренеплоду	Забарвлення	
		висота	діаметр		довжина	ширина	довжина	діаметр				коренеплоду	листіків розетки
63	Дій, St обробка водою	38,0	17,2	16,0	9,7	7,3	7,0	8,5	14,7	2,3	округло-плеската зі збігом донизу	бордовий	бордове
64	Дій, потомство від обробки колхіцином	37,3	19,0	22,7	10,8	8,3	10,3	10,0	11,2	3,0	конічна зі збігом доверху і овальна зі збігом доверху	бордовий	бордове
65	Бордо харківський, St обробка водою	30,5	14,7	14,0	12,3	7,7	7,5	7,8	8,7	2,5	округла зі збігом доверху	бордовий	бордове
66	Бордо харківський, потомство від обробки колхіцином	36,5	22,3	19,0	11,3	8,3	8,8	9,5	9,0	3,1	округло-плеската і овальна зі збігом доверху	бордовий	бордове

Буряк столовий вирощували за загальноприйнятою в овочівництві методикою [15].

Обговорення результатів. Результати досліджень показали, що у поліплоїдній формі від дії колхіцину у сорту Дій відмічено прояв фенотипової мінливості у порівнянні зі стандартом без обробки за формою коренеплоду, яка змінилася від округлої збігом донизу до конічної зі збігом доверху і овальної зі збігом доверху. У поліплоїдного зразка від сорту Бордо харківський округлу зі збігом доверху форму коренеплоду змінено на округло-плескату і овальну зі збігом доверху.

Зміна форми коренеплоду є позитивним ефектом дії колхіцину, особливо у тому, що збіг коренеплоду доверху корелює зі стійкістю проти хвороб та слабкою зануреністю у ґрунт (табл. 1). Використання таких форм дозволило нам прогнозувати отримання нових генотипів стійких проти хвороб з зануреністю у ґрунт на 1/3, що дозволить значно зменшити витрати на підкопування в період збирання коренеплодів та збільшити під час зберігання вихід здорових коренеплодів.

У поліплоїдних форм спостерігали збільшення урожайності у порівнянні із сортом Дій на 4,6 т/га, із сортом Бордо харківський – на 6,3 т/га. Особливо важливим ефектом дії колхіцину є зростання виходу типових коренеплодів у порівнянні із стандартом (табл. 2).

Таблиця 2

Урожайність і товарність коренеплодів поліплоїдних зразків буряку столового, 2010-2014 рр.

№ діл.	№ кат.	Зразок	Загальна урожайність, т/га	Вихід типових коренеплодів, %
63	3392	Дій (обробка водою), St	48,6	38,3
64	1795	Дій, потомство від обробки колхіцином	53,2	47,4
65	3393	Бордо харківський (обробка водою), St	27,2	37,1
66	1792	Бордо харківський, потомство від обробки колхіцином	33,5	50,7
		НІР ₀₅	2,0	

Поліплоїдні форми після обробки колхіцином відрізняються за з біохімічним складом коренеплодів, а саме за вмістом на 1–2 % загального цукру, вітаміну С і сухої речовини та зменшенням вмісту нітратів (табл. 3).

Таблиця 3

Біохімічний аналіз коренеплодів поліплоїдних зразків буряку столового, 2010-2014 рр.

№ ділянки	Зразок, потомство	Нітрати, мг/кг	Загальний цукор, %	Вітамін С, мг/100 г	Бетанін, мг/100 г	Суша речовина, %
91	Бордо харківський (потомство від обробки колхіцином)	40,95	9,88	7,37	279,75	17,32
93	Дій (потомство від обробки колхіцином)	127,50	8,82	5,24	230,20	15,44

За результатами аналізу 50-ти сім'ядольних листочків проростків насіння визначено структуру за ступенем плоїдності. У поліплоїдних форм, одержаних у результаті обробки колхіцином, переважали тетрапроїди $4x=29$. Міксоплоїдів клітинних популяцій в суспензії сім'ядольних листочків у поліплоїдного зразка від сорту Бордо харківський було 24 шт., що свідчить про дію поліплоїдизуючих речовин та екстремальних умов вегетації (табл. 4).

Геномна мінливість поліплоїдних зразків буряка столового, 2010-2014 рр.

Зразок	№ ката- лога	Кількість аналізів, шт.	З них за плоїдністю			
			2х	3х	4х	Мікс. 2х, 4х, 8х
64-226, Дій, потомство від обробки колхіцином	1839	50	15	2	29	4
66-227, Бордо харківський, потомство від обробки колхіцином	1838	50	1	–	25	24

Висновки. Таким чином, за методом експериментальної поліплоїдії (кратного збільшення числа хромосом) було визначено прояв ефекту дози генів і геномний статус рослин за збільшеними параметрами кількісних і якісних ознак. За використанням цитофотометричного методу аналізу геномної мінливості зразків насіння за ступенем плоїдності виділено поліплоїдні форми к 1839 і к 1838, які використано як вихідні форми для отримання гібридів F₁. Нові поліплоїдні форми мають сигнальні цінні господарські ознаки форми коренеплоду зі збігом доверху, урожайність 486 і 53,2 т/га, вміст сухої речовини 17,32 і 15,44 %, загального цукру 9,88 і 882 %, вітаміну С 7,34 і 5,24 мг/100 г, бетаніну 279,75 і 230,20 мг/100 г відповідно.

Список використаних джерел

1. Шестопалова, Н. Г. Репродукция клеток при гетерозисе [Текст]. – Х.: Вища школа, 1981. – 82 с.
2. Ковальчук, Н. С. К вопросу идентификации гаплоидов у сахарной свеклы в культуре *in vitro* [Текст] / Н. С. Ковальчук, А. Я. Шкляр, О. К. Драгунова // Тезисы докладов Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения А. Л. Мазлумова. – Рамонь, 1996. – ч.1 – С. 35-36.
3. Kozero, L. E. The relationship between the mitotic activity and moisture content of recalcitrant seeds of *Acer saccharinum* L. during maturation, post-maturation drying and germination [Text] / L. E. Kozero, V. M. Troyan // Seed Science Research. – 2000. – № 10. – P. 225-232.
4. Буренин, В. И. Гены и генетическая коллекция свеклы [Текст]. Генетика сахарной свеклы / В. И. Буренин. – Новосибирск: Наука, 1984. – С. 37-45.
5. Зайковская, Н. Э. Методика быстрого подсчёта хромосом [Текст] / Н. Э. Зайковская, М. П. Петрушина // Агробиология. – 1961. – № 246. – С. 259-267.
6. Galbraith, D. W. A rapid flow cytometric analysis of the cell cycle in intact plant tissues [Text] / D. W. Galbraith, K. R. Harkins, J. M. Maddox, N. A. Ayres, D. P. Sharma, E. Firoozabady // Science. – 1983. – № 220. – P. 1049-1051.
7. De Laat A. M. M. Determination of ploidy of single plants and plant populations by flow cytometry [Text] / A. M. M. de Laat, W. Gohde, M. J. D. C. Vogelzang // Plant Breeding. – 1987. – № 99. – P. 303-307.
8. Акоста, В. Основы современной физики [Текст]: пер. с англ. / В. Акоста, К. Кован, Б. Гром. – М.: Просвещение, 1981. – 494 с.
9. Бродский, В. Я. Клеточная полиплоидия. Пролиферация и дифференцировка [Текст] / В. Я. Бродский, И. В. Урываева. – М.: Наука, 1981. – 259 с.
10. Дубровна, О. В. Цитогенетична мінливість рослин-регенерантів цукрових буряків, отриманих шляхом прямої регенерації з експлантів різної плоїдності [Текст] / О. В. Дубровна, І. І. Лялько // Фактори експериментальної еволюції організмів: зб. наук, пр. за ред. М. В. Роїка. – К.: КВІЦ, 2004. – С. 54-59.
11. Хохлов, С. С. Общие вопросы гаплоидии [Текст] / С. С. Хохлов // Гаплоидия и селекция. – М.: Наука, 1976. – С. 5-14.

12. Кунах, В. А. Геномная изменчивость соматических клеток растений. Изменчивость в онтогенезе [Текст] / В. А. Кунах // Биополимеры и клетка. – 1994. – Т. 10, № 6. – С. 5-35.
13. Чугункова, Т. В. Цитогенетика сахарной свеклы [Текст] / Т. В. Чугункова, И. А. Шевцов. – К.: Наукова думка, 1992. – 176 с.
14. Роїк, М. В. Проблема ідентифікації рівня геному трансгенних триплоїдних гібридів цукрових буряків. Генетично модифіковані рослини: перспективи та проблеми [Текст] / М. В. Роїк, Н. С. Ковальчук. – К.: УААН, 2003. – С. 120-126.
15. Методика дослідної справи в овочівництві і баштанництві [Текст]: під ред. Г. Л. Бондаренка, К. І. Яковенка. – Х.: Основа, 2001. – 369 с.

References

1. Shestopalova, NG. Cell reproduction in heterosis. Kharkiv: Vyshcha shkola, 1981. 82 p.
2. Kovalchuk NS, Shklyar AYa, Dragunova OK. On the issue of identification of sugar beet haploids in *in vitro* culture. Proceeding of the All-Russian Scientific-Practical Conference dedicated to the 100th anniversary of the birth of AL Mazlumov. Ramon, 1996. P. 35-36.
3. Kozero LE, Troyan VM. The relationship between the mitotic activity and moisture content of recalcitrant seeds of *Acer saccharinum* L. during maturation, post-maturation drying and germination. Seed Science Research. 2000; 10: 225-232.
4. Burenin, VI. Genes and genetic beet collection. Genetics of sugar beet. Novosibirsk: Nauka; 1984. P. 37-45.
5. Zayikovskaya NE, Petrushyna MP. A method for rapid counting chromosomes. Agrobiologiya. 1961; 246: 259-267.
6. Galbraith DW, Harkins KR, Maddox JM, Ayres NA, Sharma DP, Firoozabady E. A rapid flow cytometric analysis of the cell cycle in intact plant tissues. Science. 1983; 220: 1049-1051.
7. De Laat AMM, Gohde W, Vogelzang MJDC. determination of ploidy of single plants and plant populations by flow cytometry. Plant Breeding. 1987; 99: 303-307.
8. Akosta V, Kovan K, Grom B. Fundamentals of modern physics. Moscow: Prosveshchenie, 1981. 494 p.
9. Brodskiy VYa, Uryvayeva IV. Cell polyploidy. Proliferation and differentiation. Moscow: Nauka, 1981. 259 p.
10. Dubrovna OV, Lyalko II. Cytogenetic variability in sugar beet plants – regenerates obtained by direct regeneration from explants of different ploidy. Factors of experimental evolution of organisms. In: Royik MV, editor. Kyiv: KVITS, 2004. P. 54-59.
11. Khokhlov, SS. General issues of haploidy. In: Gaploidiy and breeding. Moscow: Nauka, 1976. P. 5-14.
12. Kunakh VA. Genomic variability of somatic plant cells. Variability in ontogenesis. Biopolymer I kletka. 1994; 10(6): 5-35.
13. Chugunkova TV, Shevtsov IA. Cytogenetics of sugar beet. Kyiv: Naukova dumka, 1992. 176 p.
14. Royik MV, Kovalchuk NS. A challenge of identification of the genome level in transgenic triploid hybrids of sugar beet. Genetically modified plants: prospects and problems. Kyiv: UAAN; 2003. P. 120-126.
15. Bondarenko GL, Yakovenko KI, editors. Techniques of experimental work in vegetable and melon production. Kharkiv: Osнова; 2001. 369 p.

ПОЛИПЛОИДИЯ В СЕЛЕКЦИИ СВЕКЛЫ СТОЛОВОЙ

Корниенко С. И., Нестеренко Е. П., Горювая Т. К., Ремпель И. М., Ковальчук Н. С.
Институт овощеводства и бахчеводства НААН, Украина

В статье освещены результаты исследований по использованию в селекции свеклы столовой многоклеточной явления полиплоидии при получении новых генотипов обработкой семян колхицином. Приведена геномная изменчивость полиплоидных форм и определены в дальнейшем их целесообразность и значение в селекционном процессе.

Цель и задачи исследования. Установить диапазон геномной изменчивости полиплоидных образцов свеклы столовой и определить их хозяйственную ценность для селекции.

Материал и методика. В Институте овощеводства и бахчеводства НААН исследования по получению полиплоидных форм свеклы столовой начаты с 2000 г. При обработке семян перед посевом 0,05 % раствором колхицина экспериментально созданы полиплоидные формы. Изучение действия колхицина на структуру клеточных популяций семядольных листочков по плоидности проводили по методике, разработанной М. В. Ройком, Н. С. Ковальчук (2003 г.) в Институте биоэнергетических ресурсов и сахарной свеклы НААН.

Обсуждение результатов. Результаты исследований показали, что у полиплоидной формы от действия колхицина у сорта Дий отмечено проявление фенотипической изменчивости по сравнению со стандартом без обработки по форме корнеплода, которая изменилась от округлой со спадом вниз к конической со спадом вверх и овальной со спадом кверху. У полиплоидного образца от сорта Бордо харьковский округлую со спадом вверх форму корнеплода изменено на округло-плоскую и овальную со спадом кверху.

Изменение формы корнеплода является положительным эффектом действия колхицина, особенно тем, что спад корнеплода вверх коррелирует с устойчивостью к болезням и слабым углублением его в почву. Использование таких форм позволило нам прогнозировать получение новых генотипов, устойчивых к болезням, с углублённостью в почву на 1/3, что позволит значительно уменьшить расходы на подкапывания во время уборки корнеплодов и увеличить в период хранения выход здоровых корнеплодов.

Установлено, что полиплоидный образец К 1975 от скороспелого сорта Дий превысил по урожайности исходную форму на 4,6 т/га, тогда как К 1792 от скороспелого сорта Бордо харьковский – на 6,3 т/га. Наблюдалась тенденция увеличения выхода типовых корнеплодов и их биохимического состава. При использовании цитофотометрического метода анализа геномной изменчивости семян полиплоидных образцов по степени плоидности образец К 64-226 имел 2х – 15, 3х – 2, 4х – 29, миксоплоидов – 4, тогда как К 66-227 4х – 25 и миксоплоидов – 24.

Выводы. По методу экспериментальной полиплоидии (кратного увеличения числа хромосом) были определены проявления эффекта дозы генов и геномный статус растений по увеличенным параметрам количественных и качественных признаков. При использовании цитофотометрического метода анализа геномной изменчивости образцов семян по степени плоидности выделены полиплоидные формы К 1839 и К 1838, которые использованы как исходные формы для получения гибридов F₁. Новые полиплоидные формы имеют сигнальные ценные хозяйственные признаки формы корнеплода со спадом вверх, урожайность 486 и 53,2 т/га, содержание сухого вещества 17,32 и 15,44 %, общего сахара 9,88 и 88,2 %, витамина С 7,34 и 5,24 мг/100 г, бетаина 279,75 и 230,20 мг/100 г соответственно.

Ключевые слова: исходная форма, полиплоидный образец, колхицин, геномная изменчивость, биохимический состав, урожайность

POLYPLOIDY IN TABLE BEET BREEDING

Kornienko S. I., Nesterenko E. P., Gorovaya T. K., Rempel I. M., Kovalchuk N. S.
Institute of Vegetables and Melons of NAAS, Ukraine

The article highlights the results of studies on the use of polyploidy in breeding table *multi-germ* beet, when new genotypes are obtained by seed treatment with colchicine. Genomic variability of polyploid forms is described, and expediency and importance of them in further breeding are defined.

The aim and tasks of the study. To establish the range of genomic variability in polyploid beet accessions and to estimate their economic value for breeding.

Material and methods. At the Institute of Vegetables and Melons NAAS, studies on obtaining polyploid forms of table beet have started since 2000. By pre-sowing treatment of seeds with 0.05% colchicine solution, polyploid forms were experimentally created. The action of colchicine on the structure of cell populations in cotyledon leaves in terms of ploidy was studied by the method developed by MV Roik, NS Kovalchuk (2003) at the Institute of Bioenergy Crops and Sugar Beet NAAS.

Results and discussion. The results showed that in colchicine-generated polyploid form from variety 'Diy' expression of phenotypic variability in beetroot shape was observed in comparison with the untreated standard. The shape changed from roundish with downward inclination to conical or oval with upward inclination. Polyploid accession derived from variety 'Bordo Kharkovskiy' changed roundish beetroot with upward inclination to roundish-flat or oval with upward inclination.

Changes in beetroot shape is a positive effect of colchicine, because upward inclination of beetroots correlates with disease resistance and shallow soil location of beetroots. The use of such forms allowed us to predict creation of new genotypes resistant to diseases, with in-soil depth of 1/3, which will greatly reduce expenses for digging down during beetroot harvesting and increase output of healthy beetroots during storage.

It was found that the yield of polyploid accession K 1975 from early-ripening variety 'Diy' exceeded that of the original form by 4.6 t / ha, while K 1792 from early-ripening variety 'Bordo Kharkovskiy' – by 6.3 t / ha. There was an upward trend in the yield of typical beetroots and their biochemical composition. Cytophotometry of genomic variability of polyploid accession seeds in terms of ploidy degree showed that accession K 64-226 had $2x - 15$, $3x - 2$, $4x - 29$, mixoploids – 4, whereas K 66-227 – $4x - 25$ and mixoploids – 24.

Conclusions. By experimental polyploidy (several-fold increase in the chromosome number), the effect of gene dosage and genomic status of plants were determined according to increased values of quantitative and qualitative traits. Cytophotometry of genomic variability of seed accessions in terms of ploidy degree identified polyploid forms K 1839 and K 1838, which were used as source forms for F_1 hybrids. New polyploid forms have signal economically valuable traits of beetroot shape with upward inclination, yield capacity of 48.6 and 53.2 t / ha, dry matter content of 17.32 and 15.44%, total sugar of 9.88 and 8.82%, vitamin C content of 7.34 and 5.24 mg / 100 g, betanin content of 279.75 and 230.20 mg / 100 g, respectively.

Key words: original form, polyploid accession, colchicine, genomic variability, biochemical composition, yield capacity

УДК 633.522:[631.523+575.18]

ОСОБЛИВОСТІ УСПАДКУВАННЯ ОЗНАК СТАТІ У СОРТОЛІНІЙНИХ, ЛІНІЙНОСОРТОВИХ ТА МІЖЛІНІЙНИХ ГІБРИДІВ ОДНОДОМНИХ КОНОПЕЛЬ

Міщенко С. В.

Дослідна станція луб'яних культур Інституту сільського господарства Північного Сходу НААН, Україна

З метою розширення генетичної основи вихідного селекційного матеріалу конопель доведено можливість створення стабільних за ознакою однодомності сортолінійних, лінійносортових і міжлінійних гібридів, у яких ознаки статі зміщуються у бік жіночої. Селекційна цінність різних типів гібридів за співвідношенням статевих типів зростає у послідовності: сортолінійні, лінійносортові, міжлінійні. Статева структура є кращою у гібридів, створених шляхом схрещування середньоросійського і південного еколого-географічних