

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
И ПРОДОВОЛЬСТВИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

СЕЛЬСКОЕ ХОЗЯЙСТВО – ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Сборник научных трудов

Основан в 2003 году

Под редакцией члена-корреспондента
НАН Беларуси В. К. Пестиса

Том 29

АГРОНОМИЯ

Гродно
ГГАУ
2015

УДК 631.5 (06)

В сборнике научных трудов помещены материалы научных исследований по вопросам агрономии, отражающие современное состояние, проблемы и перспективы развития растениеводческой отрасли сельского хозяйства.

Сборник предназначен для научных сотрудников, преподавателей, аспирантов, руководителей и специалистов предприятий агропромышленного комплекса.

Редакционная коллегия:

В. К. Пестис (ответственный редактор),
С. А. Тарасенко (зам. ответственного редактора),
А. В. Глаз, В. М. Голушко, Ю. А. Горбунов, Г. А. Жолик,
М. А. Кадыров, А. В. Кильчевский, К. В. Коледа,
В. П. Колесень, В. В. Малашко, В. А. Медведский,
Г. Е. Раицкий, А. Д. Шацкий, А. П. Шпак, Н. С. Яковчик

Рецензент:

профессор, доктор сельскохозяйственных наук Г. А. Жолик

ISBN 978-985-537-075-9

© УО «ГТАУ», 2015

УДК 634.72

**АНАЛИЗ ПРИЗНАКОВ АВТОТЕТРАПЛОИДНЫХ ФОРМ
RIBES NIGRUM, RIBES RUBRUM, GROSSULARIA RECLINATA**

И. Э. Бученков, О. С. Рышкель, И. В. Рышкель

Международный государственный экологический университет
им. А. Д. Сахарова,
г. Минск, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 25.05.2015 г.)

Аннотация. Рассмотрены проблемы получения и анализа признаков автотетраплоидов *Ribes nigrum*, *Ribes rubrum*, *Grossularia reclinata*. Установлено, что оптимальным способом получения автотетраплоидов является обработка верхушечных почек в стадии начала распускания 1% водным раствором колхицина в течение 36 часов. Взаимозависимость уровня пloidности и морфологии вегетативных органов, а также увеличение эпидермальных структур у автотетраплоидов позволяет проводить первичную их идентификацию в начальный период развития растений. Индуцированные автотетраплоиды представляют новый материал, который может быть использован в селекции для получения сортов с приподнятой формой куста и крупными плодами.

Summary. Obtained and studied Fund avtotetraploids *Ribes nigrum*, *Ribes rubrum*, *Grossularia reclinata*. The optimal way to obtain avtotetraploids is the Treatment of the apical buds start blooming stage in a 1% aqueous solution of colchicine for 36 hours. Interdependence ploidy level and morphology of vegetative organs, as well as a tendency to increase the size of epidermal structures in avtotetraploids allows their identification in the primary period of plant development. Avtotetraploids represent a new source, which can be used in breeding for varieties with elevated form of a bush and large fruits.

Введение. Большое значение для увеличения наследственной изменчивости при получении исходного селекционного материала имеет метод автополиплоидии, который вызывает глубокие и разносторонние изменения признаков и свойств растений. Практика доказывает, что хозяйственно полезные признаки, которые на диплоидном уровне проявились недостаточно, при переходе на новый уровень ploидности могут реализоваться в большей степени, изменяя норму реакции и обуславливая биологические преимущества.

Исследования по экспериментальной полиплоидии, выясняющие специфику автополиплоидов в сравнении с исходными диплоидами, создают основу для рационального использования генофонда растений в качестве исходного материала для селекции. В связи с этим, автополиплоидию можно рассматривать как один из важных приемов селекции, позволяющий получать новый исходный генофонд [8].

С середины прошлого века индуцированная автополиплоидия все интенсивнее внедряется в практику и является результативной у ряда сельскохозяйственных культур. В последнее время отчетливо осознается, что селекция на уровне диплоидов в пределах одного вида заходит в тупик. Трудно создать что-либо новое, резко отличающееся от родительских форм. Перевод селекционного процесса на полиплоидный уровень открывает возможность получения новых и усиление желательных признаков [7].

Первые попытки экспериментального получения автополиплоидов в семействе крыжовниковые (*Grossulariaceae* Dumort.) были проведены Е. В. Великановой (1937) в ЦГЛ им. И. В. Мичурина. В период с 40-х по 60-е гг. прошлого века колхицинированием индуцированы автотетраплоиды ($2n(4x)=32$) разных видов смородины и крыжовника [8].

В последние годы, используя метод экспериментальной автополиплоидии, получены тетраплоидные формы различных дикорастущих видов и культурных сортов смородины черной, смородины красной, смородины золотистой, крыжовника. Из созданного материала отобраны формы, устойчивые к грибным и вирусным заболеваниям, почковому клещу, с повышенной зимостойкостью. В процессе селекционной доработки выделены конкурентоспособные формы, сочетающие устойчивость к неблагоприятным факторам внешней среды с высокой продуктивностью и хорошим качеством плодов [1, 2, 8].

Исследования показывают, что, несмотря на пониженную плодovitость, автотетраплоиды легко поддаются селекционному улучшению. Четырехкратное увеличение одних и тех же хромосомных наборов резко ограничивает возможность морфологического и физиологи-

ческого проявления ядерных изъянов, что позволяет получать высокопродуктивные формы [6].

Смородина и крыжовник удовлетворяют большинству требований, предъявляемым к растениям, колхичинирование которых наиболее перспективно: являются истинными диплоидами ($2n=16$), эволюционируют только на диплоидном уровне, способны к вегетативному размножению. Последняя особенность позволяет закрепить все наследственные изменения, вызванные полиплоидией.

Цель работы: отработать методику получения и отбора тетраплоидных форм смородины черной, смородины красной, крыжовника; выделить из полученного фонда автотетраплоидов формы, ценные для дальнейшей селекции.

Материал и методика исследований. С целью получения автотетраплоидных форм смородины и крыжовника проводили обработку верхушечных почек в фазе начала распускания 0,1; 0,5; 1,0; 1,5% растворами колхицина в воде и глицерине при экспозициях 24, 36, 48 ч. В каждом варианте по каждому сорту обрабатывали по 40-60 почек. Использовали два способа нанесения растворов – наложение желатиновых капсул и накапывание на верхушечную меристему. После обработки почки промывали 0,001% раствором гетероауксина, а после развития побегов их отчеренковывали и укореняли в условиях искусственного тумана [2].

В конце первого вегетационного периода отбор тетраплоидов осуществляли по морфологическим признакам, а на следующий год – по результатам цитологического анализа [3, 5]. Подсчет хромосом в клетках кончиков корешков осуществляли на окрашенных давленых препаратах [4].

Исследования проводили с 1998 по 2009 гг. на агробиологической станции БГПУ им. М. Танка, а с 2009 по 2013 гг. на опытном поле ПолесГУ. Объекты исследования: сорта смородины черной – Паулинка, Сеянец Голубки, Пилот А. Мамкин (агробиостанция БГПУ им. М. Танка); Наследница, Белорусская сладкая, Купалинка (опытное поле ПолесГУ); сорта смородины красной – Красная Андрейченко, Ненаглядная, Голландская красная (агробиостанция БГПУ им. М. Танка); Йонкер ван Тетс, Прыгажуня, Натали (опытное поле ПолесГУ); сорта крыжовника – Русский, Сливовый, Колобок (агробиостанция БГПУ им. М.Танка); Белорусский сахарный, Черномор, Юбилейный (опытное поле ПолесГУ).

Результаты исследований и их обсуждение. Всего в 48 вариантах опыта обработано:

– 14624 почки смородины черной. На основе морфологического анализа отобрано 652 растения (4,46% от обработанных почек), а на основе цитологического анализа – 73 растения (0,50%);

– 14510 почек смородины красной. На основе морфологического анализа отобрано 489 растений (3,37% от обработанных почек), а на основе цитологического анализа – 54 растения (0,37% от обработанных почек);

– 14504 почки крыжовника. На основе морфологического анализа отобрано 411 растений (2,83% от обработанных почек), а на основе цитологического анализа – 44 растения (0,30% от обработанных почек).

Суммируя данные оценки приемов полиплоидизации по критерию выхода растений тетраплоидного типа к более эффективному следует отнести способ наложения желатиновых капсул с 1% водным раствором колхицина на верхушечные почки в фазе начала распускания при экспозиции 36 часов. При данных условиях получено 33 автотетраплоидных растения смородины черной, что составляет 45,21% от всех полученных полиплоидов; 29 автотетраплоидных растений смородины красной, что составляет 53,70% от всех полученных полиплоидов и 26 автотетраплоидных растений крыжовника, что составляет 59,09% от всех полученных полиплоидов.

Морфо-анатомический анализ отобранных форм показал, что:

– *автотетраплоиды смородины черной* имеют кусты гетерозисного типа, утолщенные побеги более темной окраски, крупные размеры и измененную форму листьев, цветков, малое количество семян в плодах. Единичное цветение автотетраплоидов наблюдали на второй год вегетации, в дальнейшем цветение было обильным. Сравнительное изучение характера цветения и плодоношения диплоидных и тетраплоидных форм позволило установить, что у большинства тетраплоидных растений сроки указанных этапов наступают на 7-10 дней позже, чем у контрольных диплоидов.

– *автотетраплоиды смородины красной* высокорослые растения с мощными побегами. Почки по размерам и окраске не отличаются от диплоидных, но имеют более отклоненное положение на побеге. Листья крупные, более темные, неправильной формы, центральная лопасть четко не выражена. Зубчики края листовой пластинки более округлые, менее заостренные. По диаметру и длине цветки крупнее диплоидных. Окраска цветков, форма и цвет плодов сходны с диплоидами. Масса ягод несколько выше диплоидных сортов. Семян мало.

– *автотетраплоиды крыжовника* – растения с компактными кустами гетерозисного типа. Побеги плохо ветвятся, направлены косо

вверх. Характерны крупные, сближенные пазушные почки. Листья темно-зеленые, почти вдвое крупнее, чем у диплоидов. Поверхность листовой пластинки пузырчатая. Цветки крупнее, чем у диплоидов, с крупной завязью. Плоды округлые, по размерам и массе несколько превышают диплоидные, содержат мало семян.

Изучение анатомического строения листьев *R. nigrum*, *R. rubrum*, *Gr. reclinata* показало, что клетки верхнего и нижнего эпидермиса тетраплоидных форм больше, чем клетки диплоидов. Для автотетраплоидов характерно увеличение длины замыкающих клеток устьиц, количества и размеров хлоропластов в них, уменьшение числа устьиц и ароматических железок на единицу площади эпидермиса, уменьшение слоев столбчатого мезофилла в сравнении с диплоидами (таблица 1).

Таблица 1 – Сравнительная характеристика эпидермальных структур листа диплоидных сортов и тетраплоидных форм (обобщенные данные за годы исследований по всем сортам и формам)

Признак	<i>R. nigrum</i>		<i>R. rubrum</i>		<i>Gr. reclinata</i>	
	2n=16	4n=32	2n=16	4n=32	2n=16	4n=32
Размеры клеток верхнего эпидермиса (увеличение 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
Размеры клеток нижнего эпидермиса (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
Размеры замыкающих клеток устьиц (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
Размеры хлоропластов в замыкающих клетках устьиц (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
Количество устьиц в поле зрения микроскопа (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 хлоропластов в замыкающих клетках устьиц (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
Количество ароматических железок на 1 см ² (10x20), шт.	30,8±1,5	16,7±1,3	-	-	-	-

* $X \pm x_s$,

** В делениях окуляр-микрометра

Для всех индуцированных нами автотетраплоидов характерна хорошая, но пониженная в сравнении с диплоидами плодовитость. Исследования показали, что при переводе диплоидных сортов на тетраплоидный уровень фертильность снижается в среднем у смородины черной в 2,3 раза. У диплоидных сортов фертильность пыльцы составляла 78-79%. Процентное содержание крупных, нормально сформированных и проросших пыльцевых зерен у автотетраплоидов изменялось в пределах 32-37% в зависимости от сорта.

У смородины красной при переводе диплоидных сортов на тетраплоидный уровень фертильность пыльцы снижается в среднем в 2 раза. У диплоидных сортов фертильность пыльцы составляла 75-85%. Процентное содержание крупных, нормально сформированных и проросших пыльцевых зерен у автотетраплоидов изменялось в пределах 40-48% в зависимости от сорта.

При переводе диплоидных сортов крыжовника на тетраплоидный уровень фертильность пыльцы снижается в среднем в 1,36 раза. У диплоидных сортов фертильность пыльцы составляла 38-42%. Процентное содержание крупных, нормально сформированных и проросших пыльцевых зерен у автотетраплоидов было чуть более 30% в зависимости от сорта.

Для сопоставления характера изменений у автотетраплоидов разных видов семейства *Grossulariaceae Dumort.* в сравнении с диплоидами провели оценку признаков, характеризующих линейные размеры органов, а также отношение этих признаков $4n : 2n$.

По линейным параметрам листьев, почек, цветков, пыльников, пыльцевых зерен автотетраплоиды превосходят диплоиды. В среднем линейные размеры органов у автотетраплоидных форм превосходят диплоидные сорта у смородины черной – в 1,43 раза, у смородины красной – в 1,21 раза, у крыжовника – в 1,31 раза (таблица 2).

Таблица 2 – Относительное изменение признаков у автотетраплоидов по сравнению с исходными диплоидными сортами ($4n:2n$)

Признак	<i>R. nigrum</i>	<i>R. rubrum</i>	<i>Gr. reclinata</i>
Лист			
– длина	0,92	1,09	0,93
– ширина	1,68	1,33	1,18
Почка			
– длина	1,18	1,01	1,15
– ширина	1,72	1,18	1,52
Черешок			
– длина	1,65	1,17	1,33
– толщина	1,68	1,23	1,42
Цветок			

– длина	1,43	1,25	1,49
– диаметр	1,45	1,31	1,61
Пыльник			
– длина	1,32	1,29	1,27
Пыльцевое зерно			
– диаметр	1,26	1,24	1,22

В результате того, что у автотетраплоидов показатели длины листьев, почек, цветков увеличиваются в меньшей степени, чем показатели ширины, заметно возрастает показатель индекса органов. Так, индекс листа у диплоидных сортов смородины черной составляет 0,93; у автотетраплоидов – 1,46; у смородины красной – 0,95 и 1,48; у крыжовника – 0,87 и 1,33 соответственно.

Изучение диаметра пыльцевых зерен у автотетраплоидов в сравнении с исходными диплоидными сортами выявило стабильность в величине гаплоидной ($n=8$) и диплоидной ($n=16$) пыльцы и четкое различие между ними, что свидетельствует о строгой генетической обусловленности данного показателя и возможности его использования в качестве диагностического признака тетраплоидности.

Заключение. В результате анализа признаков автотетраплоидных форм *R. nigrum*, *R. rubrum*, *Gr. reclinata* в сравнении с диплоидными сортами установлено:

1. Автотетраплоиды характеризуются новой совокупностью морфологических, анатомических и биологических признаков, присущих данному уровню ploidy. Хотя реакция каждого признака на удвоение числа хромосом детерминируется спецификой генотипа каждого сорта, наблюдается четкий параллелизм в изменчивости одних и тех же признаков у разных видов семейства *Grossulariaceae* Dumort.

2. Показатель диаметра пыльцевых зерен возможно использовать как диагностический признак тетраплоидности при отборе необходимых форм.

ЛИТЕРАТУРА

1. 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. Тартуский гос. ун-т. – Тарту, 1980. – 49 с.
2. Бученков, И. Э. Создание исходного селекционного материала плодово-ягодных культур (смородина черная и красная, крыжовник, микровишня войлочная, черешня, айва обыкновенная) / И. Э. Бученков; рец.: В. А. Матвеев, М. А. Кадыров, В. Н. Кравцова. – Минск: Право и экономика, 2013. – 201 с.
3. Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур / ВНИИСПК; под общ. ред. Е. Н. Седова и Т. П. Огольцовой. – Орел: ВНИИСПК, 1999. – 608 с.
4. Рыбин, В. А. Цитологический метод в селекции плодовых. – М.: Колос, 1967. – 216 с.
5. Санкин, Л. С. Методика определения уровня ploidy / Л. С. Санкин, Т. П. Сорокина // Цитология и генетика культурных растений: сб. науч. тр. – Новосибирск, 1967. – С. 151-152.

6. Санкин, Л. С. Экспериментальная полиплоидия в селекции смородины и крыжовника // Отдаленная гибридизация и полиплоидия в селекции плодовых и ягодных культур: тез. докл. на секции садоводства РАСХН. – Орел, 1993. – С. 47.
7. Трунин, Л. Л. Экспериментальные полиплоиды черной смородины, смородины дикуши и крыжовника / Л. Л. Трунин // Научные достижения в практику: сб. науч. тр. – Тамбов, 1972. – С. 64-68.
8. Чувашина, Н. П. Цитогенетика и селекция отдаленных гибридов и полиплоидов смородины / Н. П. Чувашина. – Л.: Наука, 1980. – 121 с.

Научное издание

СЕЛЬСКОЕ ХОЗЯЙСТВО –
ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Сборник научных трудов

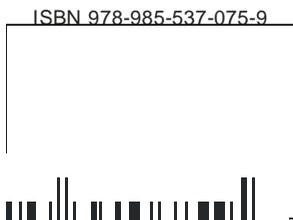
Основан в 2003 году

Том 29

АГРОНОМИЯ

Ответственный за выпуск О. Г. Тимощенко
Ст. корректор Е. Н. Гайса
Компьютерная верстка: Е. В. Миленкевич

Подписано в печать 21.10.2015.
Формат 60x84/16. Бумага офсетная.
Печать Riso. Усл. печ. л. 12,09. Уч.-изд. л. 14,09.
Тираж 100 экз. Заказ 4010



Издатель и полиграфическое исполнение:

Учреждение образования
«Гродненский государственный
аграрный университет»
Свидетельство о государственной
регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий
№ 1/304 от 22.04.2014.
Ул. Терешковой, 28, 230008, г. Гродно.