

ПОЛУЧЕНИЕ И АНАЛИЗ АВТОПОЛИПЛОИДОВ *RIBES RUBRUM* L.И.Э. БУЧЕНКОВ<sup>1</sup>, А.Г. ЧЕРНЕЦКАЯ<sup>2</sup><sup>1</sup>Международный экологический университет им. А.Д. Сахарова,  
г. Минск, Республика Беларусь, [butchenkow@mail.ru](mailto:butchenkow@mail.ru)<sup>2</sup>Полесский государственный университет,  
г. Пинск, Республика Беларусь, [chrysanthemum@list.ru](mailto:chrysanthemum@list.ru)

**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 не достаточно, при переходе на новый уровень пloidности 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 следует рассматривать как один из важных приемов селекции, позволяющий получать новый исходный генофонд [7].

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 только лишь на диплоидном уровне создать что-либо новое, резко отличающееся от родительских форм. Перевод селекционного процесса на полиплоидный уровень открывает возможность получения новых и усиление желательных признаков [6].

Первые попытки экспериментального получения автополиплоидов в семействе *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.

В 70–80-е гг. прошлого века получен ряд автополиплоидов, которые успешно используются в селекционной работе и в настоящее время [1].

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 [2].

Исследования показывают, что, несмотря на пониженную плодовитость, автотетраплоиды легко поддаются селекционному улучшению. Четырехкратное увеличение одних и тех же хромосомных наборов резко ограничивает возможность морфологического и физиологического проявления ядерных изъянов, что позволяет получать высокопродуктивные формы [5].

Дальнейшее успешное развитие работ по автополиплоидии с культурой *Ribes* возможно только при совершенствовании методов экспериментального получения полиплоидных форм, среди которых наиболее важным является изучение эффективности действия различных полиплоидизирующих факторов как отдельно, так и взятых совместно с ростовыми веществами типа стимуляторов роста.

Культура смородины удовлетворяет большинству требований, предъявляемым к растениям, колхицинирование которых наиболее перспективно: является истинным диплоидом ( $2n=16$ ), эволюционирует только на диплоидном уровне, способна к вегетативному размножению. Последняя особенность позволяет закрепить все, вызванные полиплоидией, наследственные изменения.

**Материалы и методы исследования.** 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 красной – Красная Андрейченко, Ненаглядная, Голландская крас-

ная (агробиостанция БГПУ им. М. Танка); Йонкер ван Тетс, Прыгажуня, Натали (опытное поле ПолесГУ).

С целью получения автотетраплоидных форм смородины красной 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 гетерауксина, а после развития побегов их отчеренковывали и укореняли в условиях искусственного тумана.

В связи с тем, что большой ежегодный объем колхицинированного материала не позволял проводить цитологическую оценку всех опытных растений, в конце первого вегетационного периода отбор тетраплоидов осуществляли по морфологическим признакам. В группу «потенциальных тетраплоидов» отбирали растения с увеличенными размерами вегетативных органов и резко измененной по форме листовой пластинкой. Побеги без изменений и сильно угнетенные выбраковывали.

На следующий год вегетации «морфологических полиплоидов» проводили отбор автотетраплоидных форм по результатам цитологического анализа. Подсчет хромосом в клетках кончиков корешков осуществляли на окрашенных давленных препаратах [3].

**Результаты исследований и их обсуждение.** Всего в 48 вариантах опыта обработано 14510 почек. На основе морфологического анализа было отобрано 489 растений (3,37% от обработанных почек), а на основе цитологического анализа – 54 растения (0,37% от обработанных почек) (табл.1).

Таблица 1 – Оценка приемов полиплоидизации смородины красной

Полиплоидизирующий раствор	Метод нанесения	Концентрация раствора, %	Экспозиция, час	Обработано почек, шт.	Отобрано тетраплоидов на основе анализа, шт.	
					морфологического	цитологического
колхицин в воде	накапывание на верхушечную меристему	0,1	24	298	–	–
			36	302	–	–
			48	300	11	–
		0,2	24	301	11	–
			36	299	12	–
			48	300	14	1
		1,0	24	306	15	1
			36	308	29	6
			48	303	17	2
		1,5	24	301	14	1
			36	305	12	–
			48	307	11	–
	наложение желатиновых капсул	0,1	24	302	–	–
			36	300	–	–
			48	301	11	–
		0,5	24	306	12	1
			36	305	17	2
			48	303	11	1
1,0		24	300	14	2	
		36	301	25	10	
		48	300	16	1	
1,5		24	306	11	–	
		36	302	13	1	
		48	301	11	–	

Окончание таблицы 1.

колхицин в глицерине	накапывание на верхушечную меристему	0,1	24	304	–	–
			36	302	–	–
			48	300	11	–
		0,5	24	300	–	–
			36	302	12	1
			48	300	13	1
		1,0	24	302	14	2
			36	300	22	7
			48	301	13	1
		1,5	24	308	12	1
			36	297	–	–
			48	301	–	–
	наложение желатиновых капсул	0,1	24	301	–	–
			36	300	–	–
			48	305	11	–
		0,5	24	303	–	–
36			307	12	–	
48			304	11	1	
1,0		24	303	12	1	
		36	300	21	6	
		48	301	13	2	
1,5		24	306	12	1	
		36	304	14	1	
		48	302	–	–	

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 29 автотетраплоидных растений, что составляет 53,70% от всех полученных полиплоидов. Морфо–анатомический анализ отобранных форм показал, что автотетраплоиды имеют кусты гетерозисного типа, утолщенные побеги более темной окраски, крупные размеры и измененную форму листьев и цветков, малое количество семян в плодах. Единичное цветение полиплоидов 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. Цветки тетраплоидов несколько крупнее, но их меньше. Ягоды крупные, созревают позже, чем у соответствующих диплоидных сортов (рис.).



Рисунок – Автотетраплоид *R. rubrum* сорта Ненаглядная:  
а – плодоносящий побег; б – листья

Семян мало, среди них много недоразвитых. Всхожесть семян низкая.

В целом, автотетраплоиды *R. rubrum* – 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 (табл. 2).

Таблица 2 – Морфологическая характеристика диплоидных и автотетраплоидных форм смородины красной

Признак	$2n = 16$	$2n = 32$
Куст	среднерослый	высокорослый
Побег окраска ветвление	темно-буро-серая обильное	темно-буро-серая слабое
Почки форма окраска положение	узко-заостренная светло-коричневая отклонены	узко-заостренная светло-коричневая отклонены
Лист длина, см ширина, см цвет край форма поверхность	11,30±0,11 10,00±0,32 светло-зеленый мелко-зубчатый 5-лопастная слабо-морщинистая	18,10±0,17 17,80±0,11 темно-зеленый крупно-зубчатый асимметричная, с налегающими лопастями пузырчатая
Черешок длина, см	7,52±0,27	8,31±0,14
Цветок длина, мм диаметр, мм	3,51±0,20 5,20±0,34	4,27±0,25 5,96±0,19
Сроки цветения	конец апреля-начало мая	на 7-10 дней позже диплоидов
Ягода масса, г окраска форма	0,9 красная округлая	1,1 красная округлая
Семена шт./ плод	28	9

Изучение анатомического строения листьев 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 и диаметра проводящих пучков в сравнении с диплоидами (табл. 3).

Таблица 3 – Сравнительная характеристика эпидермальных структур листа у диплоидных и тетраплоидных форм смородины красной

Признак	2n=16	4n=32
Размеры клеток верхнего эпидермиса (увеличение 7x20)**	5,8±0,3*	11,2±0,8
Размеры клеток нижнего эпидермиса (7x20)**	3,9±0,7	6,5±0,9
Размеры замыкающих клеток устьиц (10x20)**	3,6±0,6	5,9±0,7
Размеры хлоропластов в замыкающих клетках устьиц (15x90)**	23,8±1,3	27,6±1,4
Количество устьиц в поле зрения микроскопа (10x20), шт.	61,3±2,5	25,6±1,3
Число хлоропластов в замыкающих клетках устьиц (10x60), шт.	11,9±0,9	20,6±1,1

\*  $\bar{X} \pm x_s$ ,

\*\* В делениях окуляр–микрометра

Для всех индуцированных нами автотетраплоидов характерна хорошая, но пониженная, в сравнении с диплоидами, плодovitость. Исследования показали, что при переводе диплоидных сортов на тетраплоидный уровень фертильность снижается в среднем в 2 раза. У диплоидных сортов *R. rubrum* 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 (табл. 4). Следовательно, пониженная плодovitость автотетраплоидов смородины красной по сравнению с диплоидными сортами связана с аномалиями развития пыльцы.

Таблица 4 – Жизнеспособность пыльцы сортов смородины красной разного уровня плоидности

Сорт	Плоидность	Пыльцевых зерен по 5 полям зрения микроскопа		
		Всего просмотрено, шт.	Проросших	
			шт.	%
Йонкер ван Тетс	2n	142	112	78,87±1,25*
	4n	118	54	45,76±0,75
Прыгажуня	2n	140	120	85,71±1,50
	4n	117	57	48,72±0,50
Натали	2n	141	115	81,56±0,75
	4n	116	49	42,24±0,33
Красная Андрейченко	2n	147	116	78,91±0,78
	4n	119	52	43,69±0,32
Ненаглядная	2n	145	111	76,55±0,72
	4n	115	49	42,61±0,29
Голландская красная	2n	144	108	75,00±0,69
	4n	116	47	40,52±0,19

\*  $\bar{X} \pm x_s$

#### Выводы.

1. Оптимальным способом получения автотетраплоидов *R. rubrum* является обработка верхушечных почек в стадии начала распускания 1% водном раствором колхицина в течение 36 часов.

2. Взаимозависимость уровня плоидности и морфологии вегетативных органов, а также тенденция к увеличению размеров эпидермальных структур у автотетраплоидов позволяет проводить первичную их идентификацию в начальный период развития растений.

3. Индуцированные автотетраплоиды *R. rubrum* представляют новый исходный материал, который может быть использован в селекции для получения сортов с приподнятой формой куста и крупными, малосемянными плодами.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бавтуго, 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. / Г.А. Бавтуго; 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. – Минск: Право и экономика, 2013. – 201 с.
3. Рыбин, В.А. Цитологический метод в селекции плодовых / В.А. Рыбин. – М.: Колос, 1967. – 216 с.
4. 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.
5. Санкин Л.С. Экспериментальная полиплоидия в селекции смородины и крыжовника / Л.С. Санкин // Отдаленная гибридизация и полиплоидия в селекции плодовых и ягодных культур: тез. докл. на секции садоводства РАСХН. – Орел, 1993. – С. 47.
6. 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.
7. Чувашина, Н.П. Цитогенетика и селекция отдаленных гибридов и полиплоидов смородины / Н.П. Чувашина. – Л.: Наука, 1980. – 121 с.

## PREPARATION AND ANALYSIS AUTOTETRAPLOIDS *RIBES RUBRUM* L.

***I.E. BUCHENKOV, A.G. CHERNECKAYA***

### *Summary*

Obtained and studied Fund avtotetraploidov *Ribes rubrum* six varieties. The optimal way to obtain avtotetraploidov *R. rubrum* 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 avtotetraploidov allows their identification in the primary period of plant development. Avtotetraploidy *R. rubrum* represent a new source, which can be used in breeding for varieties with elevated form of a bush and large fruits.

© Бученков И.Э., Чернецкая А.Г.

*Поступила в редакцию 1 апреля 2014г.*