

7. Куценко В.С., Осипчук А.А., Подгасецкий А.А. та ін Методичні рекомендації щодо проведення досліджень з картоплею. – Немішаєве, 2002. – 183 с.

**LAVRYNENKO U.O., VOZHEGOVA R.A., BALASHOVA G.S., KOTOVA H.I.**

*Institute of Irrigating Agriculture NAAS,*

*Ukraine, 73483, Kherson, Naddneprianskoe, e-mail: lavrin52@mail.ru*

### **INFLUENCE OF LIGHT REGIME AND RIVERM ON THE INDUCTION OF POTATO MICROTUBERS PRODUCTION IN MERISTEM *IN VITRO* CULTURE**

**Aims.** In order to implement new regulators of growth it is necessary to assess their physiological activity according to the integral indicators of growth, plant development and crop yield, and also their interaction with other factors in growing through *in vitro* culture, such as light intensity and photoperiod. **Methods.** In order to determine an optimal regime of tuber production in meristem *in vitro* culture of the potato variety Svitanok Kyivsky under the conditions of a microclonal laboratory an experiment was done according to the generally adopted techniques. There were three factors to study: Factor A – photoperiod (10 and 16 hours), Factor B – light intensity (1500 and 3000 lux), Factor C – the concentration of the growth regulator Riverm (without Riverm; 0.5 and 5.0 mg/l). The observations of the plant growth and development proved that on the 20<sup>th</sup> day the height gain of the plants and the number of internodes in both photoperiods differed inconsiderably. **Results.** The productivity of the potato variety Svitanok Kyivsky obtained through *in vitro* culture depends on the concentration of Riverm, light intensity and photoperiod. **Conclusions.** In order to provide high intensity of tuber production of the potato variety through *in vitro* culture it is necessary to use the photoperiod of 16 hours and light intensity of 3000 lux with the concentration of Riverm in nutrient medium of 5.0 mg/l: the weight of an average microtuber being 296.5 mg, the weight of microtubers per plant being 281.5 mg.

**Key words:** tuber production, plant height, number of internodes, growth regulator, light intensity, nutrient medium, weight of microtubers.

**УДК 63(091):633.63:631.53:631.527.8**

**МАЛЕЦКАЯ Е.И.**

*Институт цитологии и генетики ФАНО,*

*Россия, 630090, г. Новосибирск, пр. Лавреньева, 10, e-mail: e\_mal@bionet.nsc.ru*

### **РЕПРОДУКТИВНАЯ БИОЛОГИЯ И МЕТОДЫ СЕЛЕКЦИИ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ В XX ВЕКЕ**

Сахарная свекла относительно молодая сельскохозяйственная культура. Датой её рождения считается 1789 год, когда немецкий физик-химик Франц Ахард опубликовал результаты своих опытов с дикими и столовыми формами свекловицы, предложив метод промышленного извлечения сахара. Прежде чем широко распространиться новая культура должна была пройти необходимую адаптацию к различным условиям возделывания. Она достаточно быстро вошла в культуру вначале в Германии и Франции, а затем ее стали возделывать и в Российской Империи. Хотя первая выработка сахара из свеклы в России относится к началу XIX в., ее селекция началась примерно с 1870-х гг., когда на территории Польши, входившей в состав России, к селекционно-семеноводческим работам присту-

пили сначала Александр Янаш, а затем Юлиан Добжанский [1]. Первые селекционно-семеноводческие работы со свеклой включали проведение массовых отборов и акклиматизацию чужого исходного материала. За последующие годы произошло существенное улучшение сахарной свеклы благодаря методу индивидуального отбора корнеплодов по сахаристости, предложенного в 1856 г. французским селекционером Л. Вильмореном [2]. Метод массового отбора в сочетании с индивидуальным вскоре были дополнены поляриметрическим отбором, используя который стали получать педигри – родоначальники новых сортов.

#### **Материалы и методы**

В настоящем сообщении в историческом контексте рассмотрены проблемы

репродуктивной биологии свеклы и их связь с методами селекции. В первый период работы со свеклой внимание исследователей и селекционеров концентрировалось на признаках продуктивности (урожайность и содержание сахара в корнях) и отсутствовали исследования по репродуктивной биологии этой культуры, т.е. исследования по развитию семян и плодов у свеклы. Трудности изучения процессов воспроизводства семян у свеклы состояли не столько в специфичности менделевского анализа наследования тех или иных признаков, сколько в проведении наблюдений за массовыми процессами, каковыми являются цветение, опыление, процессы оплодотворения и эмбриогенеза семян, карпогенез плодов, что в совокупности и составляет предмет репродуктивной биологии свеклы.

Значительный вклад в развитие исследований по репродуктивной биологии свеклы внесли украинские ученые, в частности, по проблеме одностокости плодов. Стремление свекловодов избавиться от затрат ручного труда, неизбежного при фабричном выращивании многостокых сортов, стимулировало поиск таких растений, у которых на цветоносных побегах закладываются не соцветия-клубочки, а одиночные цветки. Доноры одностокости впервые были найдены на Украине в 1930-х гг. [3], а в середине 1950 гг. в СССР появились первые два одностокых сорта – «Ялтушковская односемянная» и «Белоцерковская односемянная» [4].

Кроме изменений в типах цветков и соплодий, были найдены растения, у которых формируются летальные пыльцевые зерна (цитоплазматическая мужская стерильность – признак ЦМС). Впервые ЦМС у свеклы в 1940-х гг. обнаружил американский генетик Оуэн [5]. Это открытие позволило существенно изменить методы селекции и контролировать скрещивание селекционных образцов в полевых условиях. Два открытия в области репродуктивной биологии и генетики свеклы в 1930–1940 гг. (одностокость посевных единиц и цитоплазматическая мужская стерильность) положили начало современной гибридной селекции. Несмотря на большие успехи в изучении этих признаков, достигнутых за последние десятилетия, дальнейшие исследования по экспрессии одностокости плодов и признака ЦМС у сахарной свеклы сохраняют актуальность.

#### **Результаты и обсуждение**

Большее понимание проблемы реализации

признака одностокости плодов произошло после детального изучения биологии цветения, строения и эмбриогенеза цветков и плодов у свеклы. Формирование соцветий у свеклы исследовала Е.И. Харечко-Савицкая [6]. Показано, что у раздельноцветковых (РЦ) растений из меристе-матического бугорка на цветоносах сначала образуется небольшой вырост – будущий околоцветник, затем – пыльники, тычиночные нити и ткани гинецея, состоящие из трех плодолистиков, образующие впоследствии завязь и рыльце, на дне которой формируется семяпочка. У сростноцветковых (СЦ) растений первый цветок в соцветии закладывается аналогично вышеописанному, а последующие цветки в соцветии-клубочке закладываются из ткани первого цветоложа. «Из меристемы первого цветоложа могут возникнуть 2–4 или большее число новых цветолож, прикрепленных к общей цветоножке» [7].

Работы по репродукции семян у сахарной свеклы, казалось бы, однозначно свидетельствуют, что сахарная свекла является строгим перекрестноопыляющимся растением [6], у которой самооплодотворение предотвращается системой генов самонесовместимости [8, 9]. Однако многие исследования по воспроизводству семян у свеклы показывали иной способ воспроизводства семян – многие растения свеклы склонны к агамоспермному способу воспроизводства [10, 11]. Впервые об этом сообщил Н.В. Фаворский в 1928 г., обнаружив и описав сформированные зародыши в закрытых цветках свеклы [12]. Это означало, что система воспроизводства семян у сахарной свеклы включает несколько вариантов – перекрестное опыление и оплодотворение, самооплодотворение и агамоспермию. Дальнейшие исследования подтвердили возможность партеногенетического способа воспроизводства семян у свеклы [13–15].

До середины XX в. все селекционные работы по сахарной свекле проводили на многостокых формах, и потому не было необходимости в работах по изучению многостокости в отдельных плодах свеклы. Значимость этого признака для селекции оказалась весьма актуальной после появления в производстве одностокых сортов и гибридов свеклы. Принято считать, что завязь в цветках свёклы всегда одногнездная с одной семяпочкой [16]. Но, как показали наши многолетние наблюдения, множественность семяпочек в завязях цветков свеклы довольно

распространенное явление (рис. 1, 2) [17, 18].

Как видно из представленной схемы, многоростковыми могут быть не только соплодия-клубочки, полученные от СЦ растений, но и отдельные плоды от РЦ растений, если у них под крышечкой плода содержится не один, а два или большее число семян. Кроме того, если в одном семени содержится не один, а несколько зародышей, то имеем дело с многозарошестью (рис. 1, 2). Показано, что в одиночных плодах может формироваться от двух до пяти и более семян [17–19] (рис. 2).

Наша работа с многосемяпочковостью завязей цветков у свеклы в начале 1980-х гг. была связана с надеждой получить гаплоидные проростки от многосемянных плодов, которые многие авторы ошибочно рассматривали как «близнецов» [17, 20, 21]. Теперь очевидно, что гаплоидия и множественность семяпочек разные ипостаси – в рамках репродуктивной биологии их надо относить к разным понятиям: гаплоидия – это одиночные наборы хромосом в ядрах клеток (клеточный уровень), а множественность семяпочек в завязях цветков – понятие из эмбриологии (тканевой уровень).

Низкая частота встречаемости гаплоидов ( $10^{-5} - 10^{-6}$ ) в семенных партиях, воспроизводимых двуродительским способом [21, 22], побудила исследователей искать более эффективные методы получения гаплоидов у свеклы. Нами в 1990-е гг. был разработан беспыльцевой (однородительский) метод воспроизводства семян у сахарной свеклы

(партено-генетический или апозиготический) [13]. Многолетними исследованиями показано, что при саморепродукции у пыльцестерильных растений (агамоспермия) формируется достаточно большое число семян как гаплоидных, так и дигаплоидных семян [15, 23]. Выход гаплоидных сеянцев в семенных партиях составляет 5–8 % (иногда и больше) от числа проросших семян. Это значение выше на несколько порядков, нежели выход гаплоидов, получаемый при двуродительской форме воспроизводства семян свеклы, и даже несколько выше, чем выход гаплоидов в культуре *in vitro*. Затраты же труда при апозиготическом способе воспроизводства семян на порядок ниже, чем при любых других способах получения гаплоидов. Очевидно, что дигаплоидные семена при апозиготии возникают из клеток, прошедших мейотическое деление [13]. Гаметы с нередуцированным числом хромосом возникают спонтанно у многих видов растений, и нередукция числа хромосом связана с эпигеномной изменчивостью ядер в клеточных популяциях [24].

Процесс образования гаплоидов связан с типом клеточных делений в эмбриональных тканях семяпочек. Показано, что кроме обычного митотического деления клеток в семяпочках на 3–5-й день после начала цветения происходит другой быстрый (амитотический) способ их размножения.

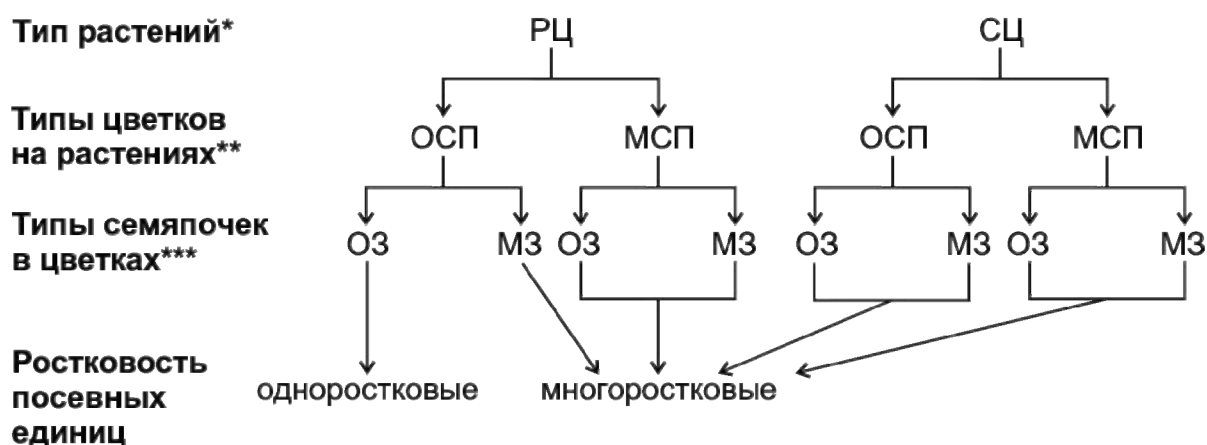


Рис. 1. Схематическое изображение одно- многоростковых посевных единиц у свеклы. РЦ – раздельноцветковые, СЦ – сростноцветковые, ОСП – односемяпочковые, МСП – многосемяпочковые, ОЗ – однозародышевые, МЗ – многозародышевые



Рис. 2. Один плод с тремя семяпочками, каждая из которых имеет хорошо сформированный проросток

«Деление начинается почкованием ядрышек, которые затем полностью отделяются и отходят к периферии ядра. Вокруг новообразовавшихся ядрышек обособляются участки ядра, что ведет к возникновению новых маленьких ядер внутри старого <...> в цитоплазме около него закладывается клеточная перегородка. Процесс немито-тического деления носит массовый характер и различные его фазы видны почти во всех ядрах ткани нуцеллуса» [16]. Это наблюдение говорит о том, что пути получения гаплоидных семян не ограничиваются их традиционными схемами: опыление цветков свеклы пылью дикорастущих видов; нанесение инактивированной пыли после ее обработки радиацией; обработка растений эпимутагеном и т.д. [22].

Важным фактором репродукции у свеклы служит миксоплоидность клеточных популяций, когда наряду с доминирующей фракцией клеток

встречаются клетки, у которых число хромосом в ядрах меньше или больше их основного числа [25, 26]. В таблице показаны доли клеток с разным числом хромосом в ядрах в клеточной популяции гаплоидного растения (выборка составила 383 клетки). Отмечено, что встречаются клетки с числом хромосом менее 9 (2,4 %); клетки с гаплоидным числом хромосом ( $x = 9$ ) – 39,4 %; клетки с диплоидным числом хромосом ( $2x=18$ ) – 16,7 %; клетки с триплоидным числом хромосом ( $3x = 27$ ) – 5,7 % и клетки с числом хромосом 36 и более – 1,04 %. Кроме того, встречаются клетки, у которых число хромосом в ядрах не кратно 9 (анэуплоидные) [27]. У растений, полученных одноклеточным способом, уровень миксоплоидности клеточных популяций, как правило, повышен [23, 26, 27], и попадание полиплоидных клеток в зародышевые пути дает таким растениям возможность формировать дигаплоидные зародыши.

#### Выводы

В заключении можно сказать, что, по нашему мнению, основные проблемы в области селекционного улучшения сахарной свёклы будут связаны не столько с поиском правил менделевского контроля в наследовании репродуктивных или хозяйственных признаков, сколько в понимании и исследовании базовых механизмов эмбрио-и семеногенеза. Исследования этих репродуктивных признаков должны опираться как на генетическую, так и эпигенетическую парадигмы наследования.

*Работа выполнена при поддержке Интеграционного гранта № 3 президиума СО РАН и НАН Белоруссии.*

Таблица. Распределение клеток по числу хромосом в ядрах, %

Число хромосом в клетках (шт.)						Всего клеток
менее 9	9	10-17	18	27	36 и более	
2,4 %	39,4 %	34,7 %	16,7 %	5,7 %	1,04 %	383

#### Литература

1. Шредер А. Селекция сахарной свёклы в Польше. Исторический очерк // Энциклопедия рода. Биология, генетика и селекция свёклы. – Новосибирск: изд-во Сова, 2010ю – С. 45–51.
2. Зосимович В.П. Виды дикой и происхождение культурной свеклы // Биология и селекция сахарной свеклы. – М.: Колос, 1968. – С. 7–65.
3. Бордонос М.Г. Характер расщепления и некоторые особенности свекловичных высадков с одноцветковыми семенами // Селекция и семеноводство. – 1938. – №6. – С. 24–27.
4. Роик Н.В. Создание одноклеточных сортов и гибридов сахарной свёклы в Советском Союзе // Энциклопедия рода *Beta*. Биология, генетика и селекция свёклы. – Новосибирск: изд-во Сова, 2010. – С. 248–264.
5. Owen F.V. Cytoplasmically inherited male sterility in sugar beet // Agric. Res. 1945. – 71, N 10. – P. 423–440.
6. Харечко-Савицкая Е.И. Цитология и эмбриология сахарной свеклы // Свекловодство. – К.: Госсельхозиздат, 1940. – 1. – С. 453–550.

7. Savitsky N.I. Embryology of mono- and multigerm fruits in the genus *Beta* L. // J. Amer. Soc. Sugar Beet Technol. – 1950. – 6. – P. 160–164.
8. Owen F.V. Inheritance of cross- and self-sterility and self-fertility in *Beta vulgaris* L. // J. Agric. Res. – 1942. – 64. – P. 679–698.
9. Малецкий С.И. Семенное размножение сахарной свеклы // Энциклопедия рода. Биология, генетика и селекция свёклы. – Новосибирск: изд-во Сова, 2010. – С. 52–62.
10. Ширяева Э.И., Ярмолюк Г.И., Кулик А.Г., Червякова В.В. Апомиксис у самоопыленных линий сахарной свеклы и использование его в селекции // Цитология и генетика. – 1989. – 11. – С. 32–48.
11. Сеилова Л.Б. Апомиксис у сахарной свеклы и его использование в практической селекции: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Алматы, 1996. – 44 с.
12. Фаворский Н.В. Материалы по биологии и эмбриологии сахарной свеклы // Тр. Научного института селекции. – К., 1928. – Вып. 2. – С. 1–14.
13. Малецкий С.И., Малецкая Е.И. Самофертильность и агамоспермия у сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) // Генетика. – 1996. – 32, № 12. – С. 1643–1650.
14. Сеилова Л.Б. Эмбриология агамоспермии у линейных форм сахарной свёклы // Энциклопедия рода *Beta*. Биология, генетика и селекция свёклы. – Новосибирск: изд-во Сова, 2010. – С. 158–163.
15. Цильке Р.А., Позняк С.И., Малецкая Е.И., Юданова С.С., Малецкий С.И. Завязываемость плодов у гибридов сахарной свеклы при апозиготической репродукции в контрастных условиях выращивания // Вестник НГАУ. – 2010. – 5, № 3. – С. 19–25.
16. Зайковская Н.Э. Биология цветения, цитология и эмбриология сахарной свеклы // Биология и селекция сахарной свеклы. – М.: Колос, 1968. – С. 137–206.
17. Малецкая Е.И. Наследование признаков многосемянности и многозародышевости у сахарной свеклы // Генетика сахарной свеклы. – Новосибирск: Наука. Сиб. Отд-ние, 1984. – С. 79–93.
18. Малецкая Е.И. Многосемяпочковость цветков и многоростковость посевных единиц у сахарной свёклы // Энциклопедия рода *Beta*: биология, генетика и селекции свёклы. – Новосибирск: издательство «Сова», 2010. – С. 290–301.
19. Жужжалова Т.П. Полиэмбриония у сахарной свеклы // Матер. VII Всесоюз. Симпоз. По эмбриологии растений. – Киев: Наук. Думка, 1978. – С. 26–27.
20. Fischer H.E. Untersuchungen an Zwillingen von *Beta vulgaris* L. // Zuchter. – 1956, Bd.26. – Heft 4/5. – S. 136–152.
21. Добрецова Т.Б., Лутков А.Н., Манжос А.М. Спонтанные полиплоидные и гаплоидные формы сахарной свеклы у близнецовых растений // Докл. АН СССР. – 1965. – 160, № 2. – С. 454–457.
22. Bøsemark N.O. Haploids and homozygous diploids, triploids and tetraploids in sugar beet // Hereditas. – 1971. – 69. – P. 193–204.
23. Юданова С.С., Малецкая Е.И. Связь эпигеномной изменчивости с семенной продуктивностью при апозиготическом способе размножения сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) // Достижения и проблемы генетики, селекции та биотехнологии. – Киев: Логос, 2007. – 2. – С. 221–225.
24. Frenkel R. 1975. Über das Auftreten von unreduzierten Gameten bei Angiospermen // Arch.Zucht.Forsch. – 1975. – 5. – P. 201–208.
25. Кунах В.А., Адонин В.И., Ожередов, Блюм Я.Б. Миксоплоидия у диких и культивируемых видов крестоцветных, способных к гибридизации с рапсом *Brassica Napus*. // Цитология и генетика. – 2008. – 42. – С. 81–86.
26. Юданова С.С. Миксоплоидия клеточных популяций сахарной свеклы и ее связь с репродуктивными признаками: Дис. ... канд. биол. наук. С.-Пб., Всероссийский НИИ растениеводства, 2004. – 126 с.
27. Малецкая Е.И., Юданова С.С. Цитологический анализ миксоплоидии клеточных популяций в апозиготических потомствах гаплоидных растений сахарной свеклы // Сб. науч. тр.: Факторы экспериментальной эволюции организмов. – Киев: Логос, 2013. – 13. – С. 210–214.

#### MALETSKAYA E.I.

*Institute of Cytology and Genetics Siberian Branch of Russian Academy of Science,  
Russia, 630090, Novosibirsk, av. Lavrenteva, 10, e-mail: e\_mal@bionet.nsc.ru*

#### REPRODUCTION BIOLOGY OF SUGAR BEET AND METHODS OF ITS SELECTION TWENTIETH CENTURY

**Aims.** Describe the status of work in the field of reproductive biology and breeding of sugar beet with the beginning of work in the field of breeding in Russia. **Results.** A brief historical review of major achievements in the field of reproductive biology of sugar beet in connection with problems of selection. **Conclusions.** Briefly outlined the prospects for work in the field of reproductive biology and breeding. **Key words:** agamospermy, haploids, reproductive biology, mixoploidy.