

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ГЕТЕРОПЛОИДНЫХ СКРЕЩИВАНИЙ В РОДЕ *MALUS MILL* И ЦИТОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ПРИ СОЗДАНИИ ТРИПЛОИДНЫХ СОРТОВ

**Г.А. Седышева**, д.с.-х.н.

**Е.Н. Седов**, д.с.-х.н.

**Н.Г. Горбачева**, к.с.-х.н.

**З.М. Серова**, к.с.-х.н.

**С.А. Мельник**, м.н.с.

*ФГБНУ ВНИИ селекции плодовых культур, Россия, Орел, info@vniispk.ru*

### Аннотация

Во ВНИИСПК в рамках программы по селекции яблони на полиплоидном уровне осуществлены скрещивания с полиплоидными формами яблони типа  $4x \times 4x$ ,  $4x \times 3x$ ,  $4x \times 2x$ ,  $3x \times 4x$ ,  $3x \times 3x$ ,  $3x \times 2x$ ,  $2x \times 4x$ ,  $2x \times 3x$ . Проведен цитологический контроль гибридного потомства. Скрещивания с анеуплоидными формами не имеют селекционной ценности, так как большая часть гибридных растений от этих скрещиваний имеют анеуплоидный набор хромосом, что является причиной их слабого развития и ранней гибели. Для практической селекции, с целью создания триплоидных сортов, эффективными являются гетероплоидные скрещивания типа  $2x \times 4x$ ,  $4x \times 2x$ . От таких скрещиваний уже получено 19 триплоидных сортов яблони. Анализ плоидности сеянцев от скрещивания типа  $2x \times 4x$  в среднем показал 32,6% диплоидных, 67,2% – триплоидных и 0,2% – тетраплоидных растений, а в скрещиваниях  $4x \times 2x$  образуется 6,2% – диплоидных, 40,5% – триплоидных и 53,3% – тетраплоидных растений. Форма 30-47-88 ( $4x$ ) является эффективным донором диплоидных гамет, при участии ее в скрещиваниях типа  $2x \times 4x$  образуется 71,8% триплоидных растений.

**Ключевые слова:** яблоня, полиплоидия, селекция, гетероплоидные скрещивания, плоидность, донор диплоидных гамет

## THE EFFICIENCY OF HETEROPLOID CROSSINGS IN *MALUS MILL* AND CYTOLOGICAL CONTROL IN THE DEVELOPMENT OF TRIPLOID VARIETIES

**G.A. Sedysheva**, doctor of agricultural sciences

**E.N. Sedov**, doctor of agricultural sciences

**N.G. Gorbacheva**, candidate of agricultural sciences

**Z.M. Serova**, candidate of agricultural sciences

**S.A. Melnik**, junior researcher

*Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding, Russia, Orel, info@vniispk.ru*

### Abstract

Crossings with polyploidy apples  $4x \times 4x$ ,  $4x \times 3x$ ,  $4x \times 2x$ ,  $3x \times 4x$ ,  $3x \times 3x$ ,  $3x \times 2x$ ,  $2x \times 4x$  and  $2x \times 3x$  have been carried out at the All Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding in the frames of the program of apple breeding with polyploidy using. The cytological control of the hybrid progeny has been

conducted. Crossings with anorthoploids are not of breeding value, since the most part of the hybrid plants from these crossings has an aneuploid number of chromosomes and that is the reason of their poor development and early death. Heteroploid crossings  $2x \times 4x$  and  $4x \times 2x$  are efficient for practical breeding with the goal of creating triploid varieties. 19 triploid apple varieties have already been obtained from such crossings. On the average, the ploidy analysis of seedlings from crossings  $2x \times 4x$  has shown 32.6% of diploid, 67.2% of triploid and 0.2% of tetraploid plants while in crossings  $4x \times 2x$  6.2% of diploid, 40.5% of triploid and 53.3% of tetraploid plants have been formed. 30-47-88 (4x) is a promising donor of diploid gametes; 71.8% of triploid plants are formed with its participation in crossings  $2x \times 4x$ .

**Key words:** apple, polyploidy, breeding, heteroploid crossings, ploidy, donor of diploid gametes

### Введение

Для средней полосы России ведущей плодовой культурой является яблоня. Непрерывное совершенствование стандартного сортимента ее является непременным условием сохранения промышленного значения культуры, что весьма актуально при постоянном усложнении экологической обстановки. Стандартный сортимент должен пополняться сортами, характеризующимися не только высокой урожайностью, товарными и потребительскими качествами плодов, но и устойчивостью к биотическим и абиотическим стрессорам. Решению этой проблемы в значительной мере может способствовать целенаправленная селекция с использованием полиплоидных форм.

Установлено, что для яблони триплоидный уровень – наименьший уровень плоидности, который дает наибольший эффект [1, 18]. Вследствие этого целенаправленная селекция с целью получения триплоидного потомства является методом, стимулирующим возрастание изменчивости среди полового потомства от гетероплоидных скрещиваний и увеличение вероятности отбора адаптивных, перспективных сортов, отвечающих требованиям интенсивного садоводства.

### Методика проведения исследований

Для кариологических исследований (определение плоидности гибридного потомства) применялся пропионово-лактоидный метод [3, 6, 10]. Прямой подсчет числа хромосом осуществлялся на временных давленных препаратах, приготовленных из меристем и молодых листочков точек роста. Селекционная часть работы выполнялась в соответствии с методическими указаниями «Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур», Орел-1999 г. [5].

### Результаты и их обсуждение

Во ВНИИСПК осуществлены скрещивания с полиплоидными формами типа  $4x \times 4x$ ,  $4x \times 3x$ ,  $4x \times 2x$ ,  $3x \times 4x$ ,  $3x \times 3x$ ,  $3x \times 2x$ ,  $2x \times 4x$ ,  $2x \times 3x$ . Следует отметить, что скрещивания с аноплоидными формами не имеют селекционной ценности. Большинство гибридных растений от этих скрещиваний имеют несбалансированный, анеуплоидный набор хромосом, что является причиной их слабого развития и ранней гибели. В тех случаях, когда материнской формой была высокосамоплодная ортоплоидная форма, потомство имело

плоидность материнской формы и также не представляло большой ценности. В результате в комбинациях скрещивания с триплоидными формами во ВНИИСПК не получено ни одного сорта или перспективной формы.

В научной литературе встречаются сведения о том, что скрещивания тетраплоид  $\times$  триплоид проводились неоднократно, были получены семена и выращено некоторое количество растений, которые в большинстве случаев были маложизнеспособны [1, 8].

По типу триплоид  $\times$  тетраплоид скрещивания также оказались малоэффективны [13, 16, 1, 7]. Лишь Е. J. Olden (1976) получил пентаплоидное растение, однако дальнейшая судьба этого растения неизвестна.

В скрещиваниях типа триплоид  $\times$  триплоид получали некоторое количество семян [11, 2], но растения не были получены. Во ВНИИСПК от опыления 1890 цветков не получено ни одного плода [8].

Скрещивания типа триплоид  $\times$  диплоид оцениваются по-разному: М. В. Crane, W. J. C. Lowrence (1933), Е. Kemmer (1938) считают такие скрещивания неэффективными. В. А. Лизнев, И. Г. Басина (1982) утверждают, что такие скрещивания можно использовать в селекции [11, 14, 4]. Nilsson-Ehle, Н. (1938), Е. J. Olden (1946), J. Einset (1947) отмечают, что от скрещивания по схеме  $3x \times 2x$  можно получить тетраплоидные растения [15, 16]. Е. Johansson (1954) от скрещивания Боскопская красавица ( $3x$ )  $\times$  Филиппа ( $2x$ ) получил тетраплоидный сорт Альфа-68 [13]. В связи с этим нельзя полностью исключать возможность использования в селекции триплоидных форм. Однако ясно, что вследствие слабой фертильности пыльцы и многочисленных нарушений в женской генеративной сфере у триплоидов, а также в результате низкой завязываемости плодов, трудно получить гибридный фонд, достаточный для практической селекции.

Для создания гибридного фонда, обеспечивающего необходимый объем для практической селекции с целью создания триплоидных сортов, основными являются гетероплоидные скрещивания типа диплоид  $\times$  тетраплоид, тетраплоид  $\times$  диплоид. По этим скрещиваниям за все годы исследований проведен самый большой объем скрещиваний (таблица 1.).

Таблица 1 – Результаты селекции яблони на полиплоидном уровне во ВНИИСПК (данные за 1970...2013 гг.)

Типы скрещиваний	Опылено цветков, шт.	Получено семян, шт.	Выращено однолетних сеянцев			Получено сортов, шт.
			всего, шт.	% от посеянных семян	в % к опыленным цветкам	
$4x \times 4x$	11875	990	372	43,3	3,1	0
$4x \times 3x$	1363	23	4	17,4	0,3	0
$4x \times 2x$	97564	11550	4228	42,4	4,3	1
$3x \times 4x$	5269	315	64	24,9	1,2	0
$3x \times 3x$	1890	0	0	0	0	0
$3x \times 2x$	19590	3981	704	20,1	3,6	0
$2x \times 4x$	488460	136764	38360	28,05	7,0	18
$2x \times 3x$	39564	1841	1241	67,4	3,1	0

Объективным показателем эффективности гетероплоидных скрещиваний разного типа является количество полученных сортов. Сорта получены только в скрещиваниях типа  $4x \times 2x$  и  $2x \times 4x$ . Всего получено 19 сортов. При скрещивании  $4x \times 2x$  – при опылении 97564 цветков получен только один сорт, в комбинациях типа  $2x \times 4x$  было опылено 488460 цветков

– получено 18 сортов. Причем десять из них в настоящее время уже районированы. Это сорта Августа, Масловское, Осиповское, Яблочный Спас, Александр Бойко, Бежин луг, Орловский партизан, Патриот, Вавиловское, Дарена.

Неотъемлемой частью селекционной программы с использованием полиплоидов является цитологический контроль гибридного потомства. Данные этого контроля позволяют установить наиболее эффективные с точки зрения получения триплоидного гибридного потомства комбинации скрещивания, выявить наиболее ценные доноры диплоидных гамет.

В гетероплоидных скрещиваниях использовали ряд тетраплоидных форм, выделенных в результате реализации программы по селекции яблони на полиплоидном уровне.

Реципрокные комбинации не равноценны по выходу семян разного уровня плоидности (таблица 2).

Таблица 2 – Плоидность гибридного потомства от гетероплоидных скрещиваний яблони (данные за 1993...2012 гг.)

Тип скрещивания	Число комбинаций	Получено семян, шт.	В том числе:		
			2х шт. / %	3х шт. / %	4х шт. / %
2х × 4х	58	5103	1664/32,6	3431/67,2	8/0,2
4х × 2х	16	600	37/6,2	243/40,5	320/53,3

Если в скрещиваниях типа 2х × 4х в среднем образуется 32,6% диплоидных, 67,2% – триплоидных и 0,2% – тетраплоидных растений, то в скрещиваниях типа 4х × 2х образуется в среднем 6,2 – диплоидных, 40,5% – триплоидных и 53,3% тетраплоидных растений. Причем в разных комбинациях эти данные значительно варьируют в зависимости от исходных форм и направления скрещивания. Поскольку опыляются в основном некастрированные цветки, то при опылении высокосамоплодных материнских форм часть семян образуется за счет самоопыления. Так в скрещиваниях типа 4х × 2х число таких семян варьирует в широких пределах: от 2,1% у формы 13-6-106 до 94,1% у формы 30-47-88 (4х). Высокая самоплодность этой формы подтверждена в специальных опытах [9]. Самоплодными также являются формы 25-37-45 и 25-35-121. Выход тетраплоидных семян в скрещиваниях типа 4х × 2х у них 75,8%, 81,7% соответственно. В скрещиваниях типа 2х × 4х с формой 30-47-88 образуется 71,8% триплоидных растений и 28,2% – диплоидных. Следовательно, форма 30-47-88 является эффективным донором диплоидных гамет. Кроме того, являясь производной иммунного сорта Либерти (ген  $V_f$ ), форма 30-47-88 (4х) является также донором иммунитета к парше. Таким образом, это комплексный донор, который представляет особую ценность для создания триплоидных сортов, отвечающих требованиям адаптивного, интенсивного садоводства.

### Заключение

Гетероплоидные скрещивания ортоплоидных форм яблони типа 2х × 4х, 4х × 2х являются основными для создания гибридного фонда обеспечивающего необходимый объем для практической селекции с целью получения триплоидных сортов яблони.

### Литература

1. Бавтуто Г. А. Новые методы в селекции плодово-ягодных культур. Минск: Высшая школа, 1977. 188 с.
2. Домрачева И. И. Использование триплоидного сорта яблони в гибридизации и результаты цитологического изучения гибридных семян // Селекция яблони на улучшение качества плодов. – Орел: 1985. – С. 191-195.

3. Каптарь С. Г. Ускоренный пропионово-лактоидный метод приготовления и окрашивания временных цитологических препаратов для подсчета хромосом у растений // Цитология и генетика, 1967. Т. 1, № 4. С. 87-90.
4. Лизнев В. Н., Басина И. Г. Спонтанные триплоидные сорта и их потомство // Генетика, 1982. Т. 18. № 3. С. 469.
5. Седов Е.Н., Красова Н.Г., Жданов В.В., Долматов Е.А., Можар Н.В.. Семечковые культуры (яблоня, груша, айва) //Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур / под общ. ред. Е. Н. Седова, Т. П. Огольцовой. Орел: ВНИИСПК, 1999. 253-300 с.
6. Руденко И. С., Дудукал Г. Д. Простой и быстрый метод приготовления временных препаратов для цитологических исследований плодовых // Цитология и генетика, 1972. Т. 6. № 3. С. 266-268.
7. Седов, Е. Н. Селекция яблони на полиплоидном уровне / Е. Н. Седов, Г. А. Седышева. Серова З. М. // Плодоовощное хозяйство. 2008. – С. 366.
8. Седов, Е. Н. Селекция и новые сорта яблони / Е. Н. Седов. Орел: ВНИИСПК. 2011. 622 с.
9. Седов Е. Н., Седышева Г. А., Серова З. М., Горбачева Н. Г. Самоплодность полиплоидных сортов и форм яблони // Доклады РАСХН. 2014. № 3. С. 21-23.
10. Седышева Г. А. К методике окраски соматических хромосом у плодовых растений // Сорта и технология для современного сада: сб. ст. - Тула: Приок. кн. изд-во, 1990. С. 24-27.
11. Crane M.B. Lawrence W.J. Genetical studies in cultivated apples. // Journal of Genetics, 1933. №28. P. 265-296.
12. Einset J. Apple breeding enters a new era // Fm Res., N.Y., 1947. 13(2). P. 5.
13. Johansson E. "Alfa-68" the first tetraploid apple variety from Alnarp // Sverig pomol. Fören, Arsskr, 1954. 54. P. 35-39.
14. Kemmer, E. The importance of the seedling as a rootstock // Forschungsdienst, 1938. №8. P. 383-386.
15. Nilsson-Ehle H. Account of tetraploid apple varieties and their importance in Sweden's apple cultivation // Sveriges pomologiska förening. Arsskrift, 1938. 39. P. 57-69.
16. Olden E. J. Some new high-chromosome types of apples // Sveriges pomologiska förening. Arsskrift, 1946. 46. P. 105-115.
17. Olden E. J. A pentaploid apple seedling // Sveriges pomologiska förening. Arsskrift, 1976. 47. P. 76-79.
18. Singh R., Wafai B.A. Intravarietal polyploidy in the apple (*Malus pumila* Mill.). Cultivar Hazratbali // Euphytica. 1984. V. 33. № 1. p. 209-214.

### References

1. Bavguto, G. A. (1977). New methods in fruit-berry breeding. Minsk: Vysshaya shkola. (In Russian).
2. Domracheva, I. I. (1985). The use of a triploid apple variety in hybridization and results of cytological study of hybrid seedlings. In *Apple breeding for fruit quality improvement* (pp. 191-195). Орел: ВНИИСПК. (In Russian).
3. Kaptar, S.G. (1967). A faster propionic-lactoid method of preparing and staining temporary cytological specimens for plant chromosome counts. *Cytology and genetics*, 1(4), 87-90. (In Russian).
4. Liznev, V. N., & Basina, I. G. (1982). Spontaneous triploid varieties of apple and their progeny. *Genetika*, 18(3), 469. (In Russian).

5. Sedov, E.N., Krasova, N.G., Zhdanov, V.V., Dolmatov, E.A., & Mozhar, N.V. (1999). Pome fruits (apple, pear, quince). In E.N. Sedov, T.P. Ogotsova (Eds.), *Program and methods of variety investigation of fruit, berry and nut crops* (pp. 253-300). Orel, VNIISPK (In Russian).
6. Rudenko, I. S., & Dudukal, G. D. (1972). Idle time and quick method of preparing of temporary preparations for cytological studies of fruit crops. *Cytology and genetics*, 6(3), 266-268. (In Russian).
7. Sedov, E. N., Sedysheva, G. A. & Serova Z. M. (2008). Apple breeding on a polyploidy level. In *Plodoovoshchnoe khozyaistvo* (pp. 366). Moscow.
8. Sedov, E. N. (2011). *Breeding and new apple varieties*. Orel: VNIISPK. (In Russian).
9. Sedov, E. N., Sedysheva, G. A., Serova, Z. M., & Gorbacheva, N. G. (2014). Autogamy of polyploidy apple varieties and selections. *Russian Agricultural Sciences*, 3, 21-23. (In Russian, English abstract).
10. Sedysheva, G. A. (1990). Approaching to the color of somatic chromosomes in fruit plants. In *Varieties and technology for modern orchard* (pp. 24-27). Tula, Priokskoe knizhnoe izdatelstvo. (In Russian).
11. Crane, M. B., & Lawrence, W. J. (1933). Genetical studies in cultivated apples. *Journal of Genetics*, 28(2), 265-296.
12. Einset, J. (1947). Apple breeding enters a new era. *Fm Res.*, N.Y. 13(2), 5.
13. Johansson, E. (1954). "Alfa-68" the first tetraploid apple variety from Alnarp. *Sveriges pomologiska förening. Arsskrift*, 54, 35-39.
14. Kemmer, E. (1938). The importance of the seedling as a rootstock. *Forschungsdienst*, 8, 383-386.
15. Nilsson-Ehle, H. (1938). Account of tetraploid apple varieties and their importance in Sweden's apple cultivation. *Sveriges pomologiska förening. Arsskrift*, 39, 57-69.
16. Olden, E. J. (1946). Some new high-chromosome types of apples. *Sveriges pomologiska förening. Arsskrift*, 46, 105-115.
17. Olden, E. J. (1976). A pentaploid apple seedling. *Sveriges pomologiska förening. Arsskrift*, 47, 76-79.
18. Singh, R., & Wafai, B. A. (1984): Intravarietal polyploidy in the apple (*Malus pumila* Mill.) cultivar Hazratbali. *Euphytica*, 33(1), 209-214. doi: 10.1007/BF00022767