


ЦИТОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ В СЕЛЕКЦИИ ЯБЛОНИ НА ПОЛИПЛОИДНОМ УРОВНЕ

Н.Г. Горбачева, к.с.-х.н. 
Е.Н. Седов, д.с.-х.н., академик РАН
М.А. Клименко, м.н.с.

*ФГБНУ ВНИИ селекции плодовых культур, 302530, Россия, Орловская область, Орловский район
ВНИИСПК, gorbacheva@vniispk.ru*


Аннотация

Эффективным методом создания большого гибридного фонда триплоидов яблони является скрещивание разнохромосомных форм типа: диплоид×тетраплоид, тетраплоид×диплоид. Использование тетраплоидов, как исходных форм в селекции яблони для получения триплоидных сортов в обязательном порядке предполагает изучение состояния их генеративной сферы, анализ пloidности гибридного потомства от разнохромосомных скрещиваний. Проведен цитологический контроль гибридного потомства. Изучен анализ микроспорогенеза у тетраплоидной формы яблони.

Определение пloidности гибридных семян яблони в семье 6389 (Гирлянда (2x)×34-21-39 (4x)) показало 80% триплоидных ($2n=3x=51$ хромосома) и 20% – диплоидных растений ($2n=2x=34$ хромосомы). Анализ пloidности гибридных семян яблони, полученных из ФГУП Горно-Алтайское, показал, что все растения имеют триплоидный набор хромосом. Исследования мейоза при микроспорогенезе у тетраплоидной формы яблони 34-21-36 (4x) [30-47-88 [Либерти×13-6-106 (с.с. Суворовец)] (4x)×Краса Свердловска (2x)] позволило сделать вывод, что данная форма может использоваться в селекции яблони на полиплоидном уровне в качестве опылителя. На всех последовательных стадиях мейоза отмечены отклонения от нормы. На разных стадиях деления – это забегания и выбросы хромосом в цитоплазму микроспороцита, отставания и выбросы, наличие микроядер и сверхчисленных ядер. На стадии тетрад формируются полиады: пентады, гексады, гептады, октады, нанады. Процесс микроспорогенеза завершается формированием в 36,1% случаев нормальных тетрад, распадающихся после созревания на нормальные микроспоры, содержащие диплоидный набор хромосом.

Ключевые слова: полиплоидия, цитозембриология, яблоня, микроспорогенез, пloidность

CYTOLOGICAL CONTROL IN APPLE BREEDING WITH POLYPLOIDY USING

N.G. Gorbacheva, cand. agr. sci. 

E.N. Sedov, doc. agr. sci., academician of Russian Academy of Sciences

M.A. Klimenko, junior researcher

Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding, 302530, Russia, Orel region, Orel district, VNIISPK, gorbacheva@vniispk.ru

Abstract

Different chromosome crossings diploid x tetraploid and tetraploid x diploid are an efficient method in creating a large hybrid fund of apple triploids. The use of tetraploids as initial forms in apple breeding for creating triploid varieties mandatory involves the study of the condition of their generative sphere and the analysis of ploidy of the hybrid progeny from different chromosome crossings. The cytological control of the hybrid progeny was carried out. The analysis of the microsporogenesis in tetraploid apple was studied.

The determination of ploidy of hybrid apple seedlings in the family 6389 (Girlianda (2x)×34-21-39 (4x)) showed 80% of triploid plants ($2n=3x=51$) and 20% of diploid ones ($2n=2x=34$). The analysis of ploidy of hybrid apple seedlings obtained from Gorno-Altayskoye FGUP showed that all the plants had a triploid set of chromosomes.

The meiosis study during the microsporogenesis in tetraploid apple 34-21-36 (4x) [30-47-88 [Liberty×13-6-106 (s.s.Suvorovetz)] (4x)×Krasa Sverdlovskaya (2x)] allowed concluding that this genotype can be used as a pollinator in apple breeding with polyploidy using. The deviations from the norm were observed at all the consecutive stages of meiosis. At different stages of division it was rushing and releases of chromosomes into the cytoplasm of microsporocyte, delay and emissions, the presence of micronuclei and supernumerary nuclei. At the stage of tetrads were formed polyades: pentades, hexades, heptades, octades and nanades. In 36,1% cases the microsporogenesis process was completed by the formation of normal tetrads that after maturing were broken into normal microspores having a diploid set of chromosomes.

Key words: polyploidy, cytoembryology, apple, microsporogenesis, ploidy

Введение

Яблоня – ведущая плодовая культура для средней полосы России. Высокая ценность триплоидных сортов яблони по сравнению с диплоидными подтверждалась неоднократно [2, 4, 5, 8, 9, 10]. Отмечалось, что триплоидные сорта нередко имеют более высокие хозяйственно-ценные показатели нежели диплоидные. В этой связи массовое получение триплоидных гибридов дает возможность отобрать новые сорта, отвечающие требованиям интенсивного, адаптивного садоводства. Наиболее эффективным методом создания большого гибридного фонда триплоидов яблони является скрещивание разнохромосомных форм типа: диплоид×тетраплоид, тетраплоид×диплоид. Использование тетраплоидов, как исходных форм в селекции яблони для получения триплоидных сортов в обязательном порядке предполагает изучение состояния их генеративной сферы, анализ пloidности гибридного потомства от разнохромосомных скрещиваний.

Цель и задачи исследования. Цитозембриологическая оценка исходных тетраплоидных форм яблони в селекции на полиплоидном уровне для создания триплоидных сортов яблони и оценки доноров диплоидных гамет. В задачи лаборатории цитозембриологии входит:

1. цитологический анализ гибридного потомства (определение ploидности) от разнохромосомных скрещиваний
2. изучение ploидности сортов, отборных сеянцев выделенных в процессе селекции яблони на полиплоидном уровне;
3. изучение генеративных структур и качества гамет у исходных форм яблони, определение пригодности этих форм для использования в селекции на полиплоидном уровне.

Методика проведения исследований

Для определения ploидности гибридного потомства яблони применялся пропионово-лакмоидный метод [1, 3, 6]. Прямой подсчет числа хромосом осуществлялся на временных давленных препаратах из меристем и молодых листочков точек роста.

Мейоз при микроспорогенезе изучали на временных давленных препаратах, окрашенных ацетогематоксилиновым методом [7].

Просмотр препаратов проводили на микроскопе Nikon 50i, с фотокамерой DS-Fi 1.

Результаты исследований

1. Определение ploидности

Определена ploидность гибридных сеянцев яблони (160 сеянцев) в семье 6389 [Гирлянда (2x)×34-21-39 (4x)]. Из 160 изученных растений 80% сеянцев оказались триплоидными с $2n=3x=51$ хромосома (рисунок 1), 20% – диплоидными с $2n=2x=34$ хромосомы (таблица 1).

Таблица 1 – Ploидность гибридных сеянцев яблони в селекционной школке

Инв. № семьи	Название семьи	Всего растений, шт.	В том числе:	
			2x, шт./%	3x, шт./%
6389	Гирлянда (2x)×34-21-39 (4x)	160	32/20	128/80

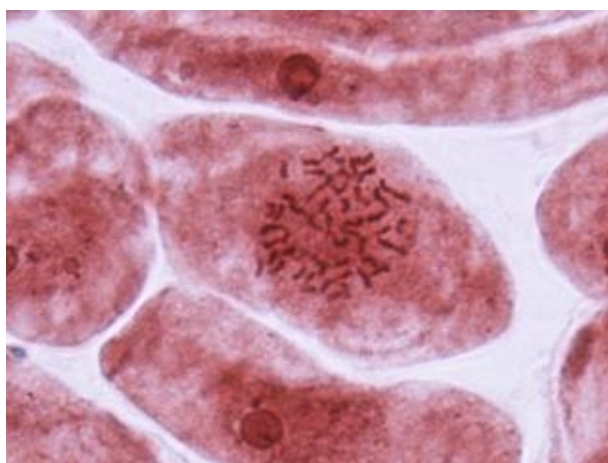


Рисунок 1 – Триплоидный набор хромосом ($2n=3x=51$) гибридного сеянца яблони из семьи Гирлянда (2x)×34-21-39 (4x)

Изучена плоидность у 40 гибридных сеянцев яблони, полученных из ФГУП Горно-Алтайское. Анализ плоидности показал, что все растения имеют триплоидный набор хромосом ($2n = 3x = 51$) (таблица 2).

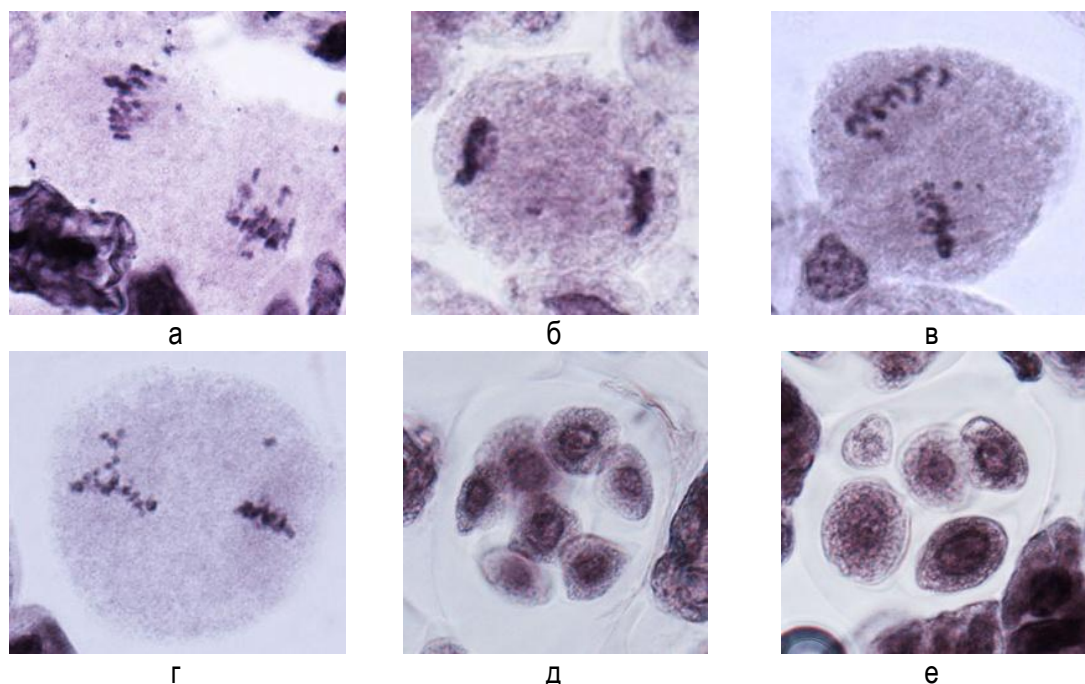
Таблица 2 – Плоидность гибридных сеянцев яблони в саду

№ семьи	Название семьи	№ сеянца	Адрес	2n
24-12	Ранетка пурпуровая×25-37-45 (4x)	51	кв.29 – 12/ 93,95	51
		56	кв.29 – 12/97	51
		58	кв.29 – 12/101,102	51
		66	кв.29 – 12/103	51
		72	кв.29 – 12/109	51
		88	кв.29 – 12/110	51
		142	кв.29 – 12/112	51
		154	кв.29 – 12/114	51
		158	кв.29 – 12/118, 119	51
		170	кв.29 – 12/122, 124	51
		179	кв.29 – 12/129	51
15-12	Нежное забайкальское×25-37-45 (4x)	37	кв.29 – 12/131	51
		45	кв.29 – 12/136,137	51
		57	кв.29 – 12/141,142	51
		82	кв.29 – 12/143,144	51
		95	кв.29 – 12/146	51
		113	кв.29 – 12/149	51
		130	кв.29 – 12/150	51
		140	кв.29 – 12/155	51
38-12	Алтайский голубок×25-37-45 (4x)	1	кв.29 – 12/158	51
		21	кв.29 – 12/161	51
		44	кв.29 – 12/163	51
		58	кв.29 – 12/164	51
		66	кв.29 – 12/167	51
		102	кв.29 – 12/172	51
		150	кв.29 – 12/174	51
50-12	Пепинка алтайская×25-37-45 (4x)	1	кв.29 – 12/179	51
		15	кв.29 – 12/181	51
63-12	Сувенир Алтая×25-37-45 (4x)	22	кв.29 – 12/184	51
		71	кв.29 – 12/187	51
18-12	Ранетка пурпуровая×Мекинтош	2	кв.29 – 12/188,189	51
41-12	Горноалтайское×25-37-45 (4x)	43	кв.29 – 12/194	51

2. Микроспорогенез

Изучен мейоза при микроспорогенезе у тетраплоидной формы яблони 34-21-36 (4x). Форма 34-21-36 (4x) получена в семье 6131 от скрещивания 30-47-88 [Либерти×13-6-106 (с.с. Суворовец)] (4x)×Краса Свердловска (2x), гибридизация 2007 года.

На всех последовательных стадиях мейоза отмечены отклонения (рисунок 2).



а – метафаза-I, задержка; б – анафаза-I, отставание; в – метафаза-II, задержка;
г – метафаза-II, задержка + выброс, д – гептада; е – пентада

Рисунок 2 – Нарушения в ходе микроспорогенеза
у тетраплоидной формы яблони 34-21-36 (4х)

Наибольшее количество нарушений отмечено на стадиях метафаза I и II – 21,4% и 22,8% соответственно. Это задержки и выбросы хромосом в цитоплазму микроспороцита, на стадиях анафазы I и II – отставания и выбросы хромосом, в телофазе I и II наблюдали микроядра и сверхчисленные ядра. На стадии тетрад формируются полиады: пентады, гексады, гептады, октады, нанады. Процесс микроспорогенеза завершается формированием в 36,1% случаев нормальных тетрад, распадающихся после созревания на нормальные микроспоры, содержащие диплоидный набор хромосом. Полученные данные позволяют сделать вывод, что тетраплоидная форма яблони 34-21-36 (4х) (30-47-88×Краса Свердловска) может использоваться в селекционной работе в качестве опылителя.

Литература

1. 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.
2. Ненько Н.И., Киселева Г.К., Караева А.В., Ульяновская Е.В. Засухоустойчивость перспективных сортов яблони разной ploидности в Южном регионе России // Современные сорта и технологии для интенсивных садов: материалы междунар. науч.-практ. конф. Орел: ВНИИСПК, 2013. С. 158-160.
3. 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.
4. Седов Е.Н., Седышева Г.А., Макаркина М.А., Левгерова Н.С., Серова З.М., Корнеева С.А., Горбачева Н.Г., Салина Е.С., Янчук Т.В., Пикунова А.В., Ожерельева З.Е.

- Инновации в изменении генома яблони. Новые перспективы в селекции. Монография. Орел: ВНИИСПК, 2015. 335 с.
5. Седов Е.Н., Седышева Г.А., Красова Н.Г., Серова З.М., Янчук Т.В. Достоинства и перспективы новых триплоидных сортов яблони для производства // Садоводство и виноградарство. 2017. № 2. С. 24-30.
 6. 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.
 7. Топильская Л.А., Лучникова С.В., Чувашина Н.П. Изучение соматических и мейотических хромосом смородины на ацето-гематоксилиновых давленных препаратах // Бюллетень ЦГЛ им. И. В. Мичурина, 1975. Вып. 22. С. 58-61.
 8. Туз А.С., Лоцицкий А.Я. Полиплоидные сорта яблони и груши // Генетика. 1970. Т. 6, № 9. С. 41-50.
 9. Bacharach A. Triploid apple cultivars have advantages. // Western Fruit Grower. 1982. Vol. 102, N.6. P.32.
 10. Singh R., Wafai B.A. Intravarietal polyploidy in the apple (*Malus pumila* Mill.). Cultivar Hazratbali // Euphytica. 1984. Vol. 33, № 1. P. 209-214. doi: 10.1007/BF00022767

References

1. Kaptar, S.G. (1967). A faster propionic-lacmoid method of preparing and staining temporary cytological specimens for plant chromosome counts. *Cytology and genetics*, 1(4), 87-90. (In Russian).
2. Nenko, N.I., Kiseleva, G.K., Karavaeva, A.V. & Ulyanovskaya, E.V. (2013). Drought resistance of the promising types of the apple varieties of different ploidy in the southern region of Russia. In *Contemporary cultivars and technologies for intensive orchards: Proc. Sci. Conf.* (pp. 158-160). Orel: VNIISPК. (In Russian, English abstract).
3. 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).
4. Sedov, E.N., Sedysheva, G.A., Makarkina, M.A., Levgerova, N.S., Serova, Z.M., Korneyeva, S.A., Gorbacheva, N.G., Salina, E.S., Yanchuk, T.V., Pikunova, A.V. & Ozherelieva, Z.E. (2015). *The innovations in apple genome modification opening new prospects in breeding*. Orel: VNIISPК. (In Russian).
5. Sedov, E.N., Sedysheva, G.A., Krasova, N.G., Serova, Z.M. & Yanchuk, T.V. (2017). Advantages and prospects of new triploid apple varieties for production. *Horticulture and viticulture*, 2, 24-30. DOI: 10.18454/VSTISP.2017.2.5441. (In Russian, English abstract).
6. 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).
7. Topilskaya, L.A., Luchnikova, S.V. & Chuvashina, N.P. (1975). Study of currant somatic and meiotic chromosomes on acetohematoxylin squash preparations. *Bulleten I.V. Michurin CGL*, 22, 58-61. (In Russian).
8. Tuz, A.S. & Lozitskiy, A.Ya. (1970). Polyploid apple and pear cultivars. *Genetika*, 9, 41-50. (In Russian).
9. Bacharach, A. (1982). Triploid apple cultivars have advantages. *Western Fruit Grower*, 102(6), 32.
10. 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.