

УДК 575

**РЕАЛИЗАЦИЯ МЕТОДА ОТДАЛЕННО ГИБРИДИЗАЦИИ
И.В. МИЧУРИНА В НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ
ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ОБУЧАЮЩИХСЯ**

Фролова Любовь Алексеевна

кандидат биологических наук, доцент

Петрищева Любовь Петровна

заместитель директора

dekbiol.michgpi@yandex.ru

Золотова Ольга Михайловна

заведующий кафедрой

zolotova.olga1@mail.ru

Лиштванова Марина Валерьевна

студентка

Ljubufr@rambler.ru

Мичуринский государственный аграрный университет

г. Мичуринск, Россия

Аннотация. Статья посвящена формированию представления о роли И.В. Мичурина в развитии методов селекции плодовых и ягодных культур и о цитогенетическом методе преодоления пониженной плодовитости у отдаленных гибридов.

Ключевые слова. Селекция, генетика, отдаленная гибридизация, амфидиплоиды, биваленты.

ВВЕДЕНИЕ

Иван Владимирович Мичурин – основоположник научной селекции плодовых, ягодных и редких культур. Внес большой вклад в дело продвижения садоводства на север. Велика роль И.В.Мичурина в развитии методов селекции плодовых и ягодных культур и особенно в разработке метода отдаленной гибридизации. Благодаря методу отдаленной гибридизации И.В.Мичурин впервые создал большое число совершенно новых, никогда ранее не существовавших форм и сортов растений. Вот что от этом писал Н.И. Вавилов: «...селекция в лице Ивана Владимировича переходит на новую, высшую ступень создания не только новых сортов, но и видов и родов растений, тем самым экспериментально овладевая процессом эволюции» [4, с. 210].

Цель – формирование представления о обучающихся о методе отдаленной гибридизации И.В.Мичурина и путях преодоления пониженной фертильности у отдаленных гибридов.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Цитологические исследования – подсчет числа хромосом в соматических тканях проводили на временных препаратах по методике автора [9, с. 48].

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

В научно-исследовательской работе И.В.Мичурина можно выделить три периода. Первый период – это работа по акклиматизации южных сортов плодовых культур в более суровые в климатическом отношении северные районы. К сожалению, этот метод селекции принес И.В.Мичурину принес разочарование. Перенесенные плодовые растения чувствовали себя плохо и постепенно вымерзли. Второй период – метод внутривидовой гибридизации. Мичуринский метод межсортовой гибридизации основан на эколого-географическом подборе исходных родительских пар, воспитании гибридных сеянцев и отборе. И.В.Мичурин на основе своих исследований по подбору

родительских форм установил: «Чем дальше отстоят между собой пары скрещиваемых растений – производителей по месту их родины и условиям их среды, тем легче приспособляются к условиям среды в новой местности гибридные сеянцы». Пользуясь межсортовой гибридизацией И.В.Мичурин вывел сортов яблони, груши, сливы, черешни, винограда и др. растений. Так, сорт яблони Кальвиль аnisовые был получен И.В.Мичуриным от опыления цветков яблони Аниса бархатного пыльцой Кальвиля красного [4, с. 210].

Несмотря на высокую результативность этого метода, И.В. Мичурин не получил полного удовлетворения в работе по созданию новых сортов плодовых растений методом межсортовой гибридизации [3, с. 56] И.В. Мичурин начинает новый этап – переходит к межвидовой и межродовой гибридизации.

Третий период – метод отдаленной гибридизации. И.В. Мичурин впервые в истории селекции широко и успешно применил в деле выведения новых хозяйственно-ценных сортов отдаленную гибридизацию. Метод селекции сортов путем отдаленной гибридизации дает возможность получать новые формы растений, сочетающие в себе хозяйственно-ценные качества далеких между собой видов или родов растений. Так, при скрещивании вишни сорта Идеал с Черемухой японской И.В. Мичурин получил совершенно новую форму растений, межродовой гибрид, названный Мичуриным Церападус. В своих трудах Мичурин описывает три формы: «Церападус № 1», «Церападус крупный», «Церападус сладкий». Главной целью работ было получить новые урожайные и зимостойкие сорта вишни, у которых плоды будут расположены кистями, как у черемухи, а не в одиночку или попарно, как у всех известных сортов вишни (рис.1).

При отдаленной, особенно межродовой гибридизации, часто наблюдается несовместимость. И.В. Мичурин разработал различные методические приемы преодоления нескрещиваемости, которые не утратили своего значения и до настоящего времени – это: 1) метод посредника; 2) метод повторного нанесения пыльцы.

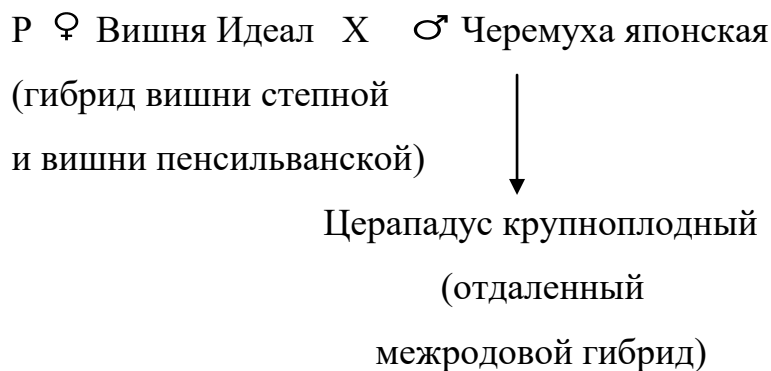


Рисунок 1 - Схема скрещивания

Метод посредника. Метод посредника был разработан И.В. Мичуриным при выведении им новых зимостойких сортов персика. Для получения гибридов Мичурин производил скрещивание между культурными сортами персика и зимостойким диким миндалем. Но попытки скрещивать бобовник с культурным сортом персика непосредственно, не увенчались успехом, ввиду отдаленных в родственном отношении растений. Тогда Мичурин произвел скрещивание семян дикого, весьма зимостойкого, монгольского миндаля – бобовника с диким видом персика Давида. От этого скрещивания произошел мичуринский миндаль Посредник, который был использован для дальнейшего скрещивания его с южным персиком. Мичурин рассчитывал получить в новом растении зимостойкость бобовника, а способность скрещивания с культурным персиком от дикого персика Давида (рис. 2).

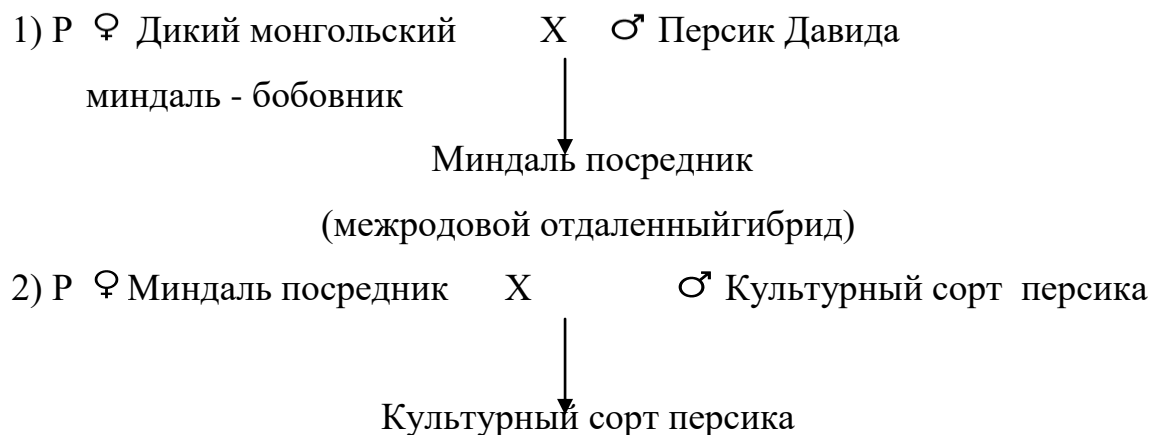


Рисунок 2 - Схема скрещивания

Метод повторного скрещивания. Большое значение Мичурин придавал повторному скрещиванию отборных гибридных семян с культурными сортами. Под повторным скрещиванием он понимал скрещивание гибрида с тем или иным сортом, который может передать гибриду недостающие ему качества; следовательно, вовсе не обязательно, чтобы этот сорт был одним из производителей гибрида. Ярким примером применения метода повторного скрещивания может служить выведенный Мичуриным сорт яблони Пеппин шафранный. При выведении этого сорта Мичурин скрестил Пеппин литовский с обыкновенной китайкой садовой. Когда полученный гибрид от этого скрещивания зацвел, Мичурин произвел повторное скрещивание его с Ренетом орлеанским. Из гибридных семян от такого повторного скрещивания был отобран новый сорт Пеппин шафранный. Таким образом, в происхождение Пеппина шафранного участвовали три родительские формы растения от которых он унаследовал положительные качества. Пеппин шафранный один из лучших сортов яблони средней полосы России. Плоды средней величины, красиво окрашены, отличного винно-сладкого вкуса, сохраняются в свежем виде до мая месяца (рис. 3).

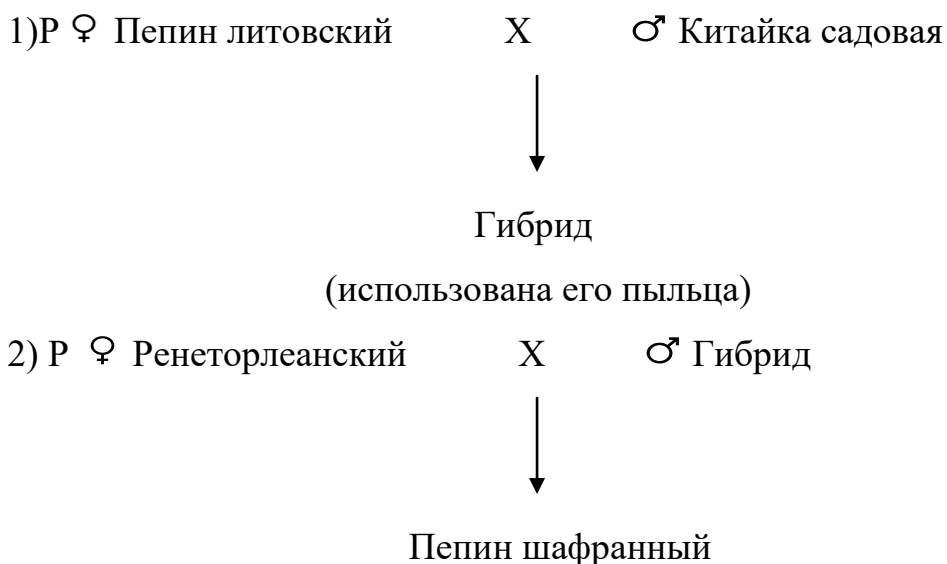


Рисунок 3 - Схема скрещивания

И.В. Мичурин создал уникальный генофонд межвидовых и межродовых отдаленных гибридов, из которого выделены селекционно-

ценные формы и гендоноры ценных признаков. Однако наиболее актуальным вопросом проблемы отдаленной гибридизации остается стерильность.

Так, ученик И.В. Мичурина И.С. Горшков в результате межродового скрещивания между яблоней и грушей получил яблоне-грушевый гибрид, но он оказался бесплодным. Обильно цвел, но не плодоносил. В ряде случаев такие отдаленные гибриды встречались и у И.В. Мичурина. Необходимо было выяснить: во-первых, почему отдаленные гибриды бывают бесплодными; во-вторых, как преодолеть бесплодие отдаленных гибридов. Ответить на эти вопросы стало возможным после проведения цитогенетического изучения отдаленных гибридов.

В лаборатории цитологии ВНИИГ и СПР им. И.В. Мичурина в результате изучения мейоза (метафаза I) было установлено, что у отдаленных гибридов полностью или частично отсутствует бивалентная конъюгация хромосом. При бивалентной конъюгации гомологичные хромосомы объединяются в пары (биваленты), что обеспечивает их правильное расхождение к полюсам в анафазе I мейоза, а это, в свою очередь, способствует формированию гамет (пыльцевых зерен) с равными, одинаковыми наборами хромосом [11, С. 25].

У стерильных отдаленных гибридов бивалентная конъюгация полностью или частично отсутствует. Хромосомы двух скрещиваемых видов или родов неродственны, т.е. негомологичны друг другу, и поэтому не объединяются в пары (биваленты). Такие хромосомы либо лежат хаотично в клетке (метафаза I), либо, при частичной гомологии, отдельные хромосомы объединяются по 3 – 4 – 5 хромосом (мультиваленты), которые беспорядочно расходятся к полюсам клетки в анафазе I мейоза. Это приводит к появлению пыльцевых зерен с различными наборами хромосом. Например, у межродового яблоне-грушевого гибрида И.С. Горшкова $2n = 34$ хромосом, в анафазе I мейоза расхождение хромосом к полюсам клетки может быть численно разным, вследствие чего образуются пыльцевые зерна с разными наборами хромосом (16+18, 19+15 и т.д.). Такие пыльцевые зерна стерильны

и, попав на рыльце пестика, они либо не прорастают в тканях пестика, либо прорастают и оплодотворяют яйцеклетку, но зигота в силу несбалансированности генотипа по числу хромосом, а, следовательно, и генов, не развивается и погибает. Это приводит к стерильности отдаленных гибридов или снижению фертильности (плодовитости).

Преодолеть стерильность отдаленных гибридов можно с помощью метода амфидиплоидии. С целью установления степени эффективности удвоения хромосом (полиплоидии) для преодоления стерильности отдаленных гибридов садовых культур, а так же для выяснения цитологической основы процессов, обуславливающих восстановление фертильности в лаборатории цитологии ВНИИГ и СПР им. И.В. Мичурина была начата работа по полиплоидизации отдаленных гибридов. Для получения индуцированных полиплоидов использовали 0,2-0,5 % водный раствор колхицина, обрабатывая им точки роста растений. Это приводило к нарушению митотических делений в меристематической ткани, блокаде ахроматинового веретина, нерасхождению хромосом при кариокинезе и увеличению уровня плоидности возникающих в тканях. Полученные индуцированные полиплоиды размножали вегетативным способом [10, С. 16; 8, С. 10].

Цитоконтроль (подсчет числа хромосом) у индуцированных полиплоидов осуществляли с помощью авторской методики (Л.А. Фролова с соавторами), позволяющей за счет хорошей мацерации тканей, контрастного окрашивания хромосом, прозрачности цитоплазмы проводить подсчет числа хромосом с точностью до одной, анализировать характер конъюгации хромосом в метафазе I мейоза [9, с. 210].

Классическим примером получения плодовитых отдаленных гибридов является получение Чувашиной Н.П. в лаборатории цитологии ВНИИГ и СПР фертильного смородинно-крыжовникового амфидиплоида. Исходным амфигаллоидом – $2n = 16$ был гибрид между крыжовником (сорт Финик) и

смородиной черной (сорт Памяти Мичурина), полученный И.А. Толмачевым в ЦГЛ (ныне ВНИИГ и СПР им. И.В. Мичурина) в 1935 году.

Смородинно-крыжовниковый гибрид колхицинировали и получили индуцированный аллотетраплоид (амфидиплоид), в соматических клетках которого было 32 хромосомы, то есть диплоидный набор хромосом каждого исходного вида: крыжовника – $2n = 16$ – и смородины – $2n = 16$, смородинно-крыжовниковый амфидиплоид – $2n = 32$. (рис.4)

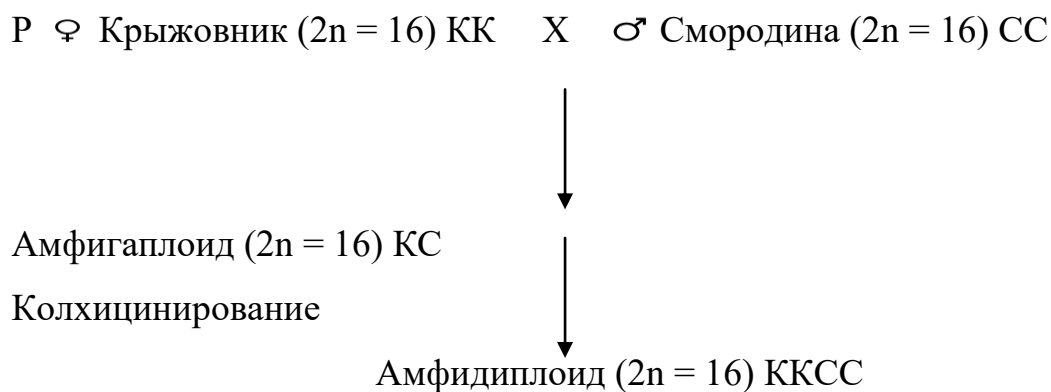


Рисунок 4 - Схема образования амфидиплоида

Исходный диплоидный гибрид (амфигаплоид) полностью стерилен, амфидиплоид – фертилен. В отличие от пустой деформированной пыльцы амфигаплоида индуцированный амфидиплоид содержит большое число нормально развитых пыльцевых зерен, способных к прорастанию. Анализ метафазы I показал, что у амфидиплоида почти полностью восстановлена бивалентная конъюгация хромосом.

Итак, отдаленная гибридизация и экспериментальная полиплоидия (удвоение числа хромосом у смородинно-крыжовникового стерильного гибрида) позволило объединить признаки двух важнейших для средней полосы нашей страны ягодных культур – крыжовника и смородины и получить новую фертильную форму ягодного растения сильными быстро растущими побегами без шипов, с крупными темно-бордовыми (у крыжовника ягоды зеленые с небольшим румянцем; у смородины - черные) и рано созревающими ягодами крыжовникового типа, но с более сочной мякотью (у крыжовника - зеленоватая, мясистая, но сухая; у смородины –

розовая, жидкая), с более мелкими и менее многочисленными семенами, чем у крыжовника, устойчивую к антрактозу и почковому клещу.

Но генетическая селекция не стоит на месте. В настоящее время в селекции плодовых использую молекулярно-генетические методы, в частности метод молекулярных маркеров. Маркер – опосредованная селекция позволяет уже на самых ранних этапах развития растения выявлять хозяйственно-ценные признаки, отбирая нужные генотипы и тем самым ускоряя селекционный процесс. Использование молекулярных маркеров для идентификации генов хозяйственно-ценных признаков помогает выявлять внутривидовой полиморфизм плодовых растений, (который благодаря явлению множественного аллелизма, всегда присутствует внутри вида, сорта, популяции) и тем самым ускорять процесс подбора пар при скрещивании [1, 2, 5, 6, 7].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Более глубокий анализ селекционных методов И.В. Мичурина, особенно метода отдаленной гибридизации, его положительных и отрицательных сторон, а так же изучение цитогенетических способов преодоление стерильности отдаленных гибридов, новых молекулярно-генетических методов селекции способствует углублению, расширению и обобщению полученных знаний по генетике и селекции плодовых культур, использованию их во внеурочной научно-исследовательской работе обучающихся.

Список литературы:

1. Влияние новых клоновых подвоев яблони селекции мичуринского аграрного университета на морфологические показатели деревьев в саду конкурсного испытания / А.В. Кружков, А.В. Дубровский, Р.В. Папихин, Н.Л. Чурикова, Л.В. Скороходова // Сб.: Агрэкологические аспекты устойчивого развития АПК: материалы XVI Международной научной конференции, 2019. - С. 691-695.

2. Дубровский М.Л. Анализ кариотипа российских клоновых подвоев яблони селекции Мичуринского государственного аграрного университета / М.Л. Дубровский, Р.В. Папихин // Amazonia Investiga. - 2019. - Т. 8. - № 21. - С. 688-698.

3. Еловская С.В. Использование интерактивных методов в обучении иностранному языку / С.В. Еловская, Е.А. Круглова // Психолого-педагогический журнал Гаудеамус. - 2018. - Т. 17. - № 38. - С. 35-39.

4. Мичурин И.В. Избранные сочинения / И.В. Мичурин. - М.: Московский рабочий, 1950. – С. 210.

5. Оценка новых клоновых подвоев яблони селекции Мичуринского аграрного университета в питомнике конкурсного испытания / М.Л. Дубровский, Р.В. Папихин, А.В. Кружков, Н.Л. Чурикова, Л.В. Скороходова // Сб.: Агрэкологические аспекты устойчивого развития АПК: материалы XVI Международной научной конференции. - 2019. - С. 614-618.

6. Полиморфизм генов биосинтеза этилена и экспансина у местных и стародавних сортов яблони (*Malus domestica* Borkh.) из коллекции генетических ресурсов растений ВИР / И.Н. Шамшин, А.В. Шлявас, А.А. Трифонова, К.В. Борис, А.М. Кудрявцев / Вавиловский журнал генетики и селекции. - 2018. - Т. 22. - № 6. - С. 660-666.

7. Способы получения безвирусных садовых культур / Р.В. Папихин, С.А. Муратова, М.Л. Дубровский, И.Б. Кирина, Е.В. Комарова // Наука и Образование. - 2020. - Т. 3. - № 1. - С. 87.

8. Федулова Ю.А. Хозяйственно-биологическая оценка сортов и форм хеномелеса в условиях центрально-черноземного региона России: диссертация на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук. - Мичуринск - наукоград, 2009. – 265 с.

9. Фролова Л.А. // Подсчет числа хромосом у плодовых растений Флора и фауна Черноземья: Сб. науч. Статей / Л.А. Фролова, С.В. Лучникова.– вып. б. – Тамбов: ТГУ, 2004. – С. 48-53.

10. Фролова Л.А. Экспериментальное получение мейотических тетраплоидов с помощью валентных скрещиваний / Л.А. Фролова // Сб.: Актуальные проблемы науки и образования: сборник статей по итогам научно-исследовательской и инновационной работы Социально-педагогического института ФГБОУ ВО Мичуринский ГАУ. – Мичуринск: издательство Мичуринского ГАУ, 2017. – С. 243-246.

11. Savelev N.I. Peculiar Properties of Formation of a Male Gametophyte in *Chaenomeles japonica* (Thunb) Lindl / N.I. Savelev, Y.A Fedulova, L.A. Frolova // Ecology, Environment and Conservation, Vol. 22. - Suppl. Issue Nov. - 2016.

UDC 575

**IMPLEMENTATION OF THE METHOD OF REMOTE HYBRIDIZATION
OF I. V. MICHURIN IN THE RESEARCH ACTIVITIES OF STUDENTS**

Frolova Lyubov Alekseevna

Candidate of Biological Sciences, Associate Professor

Petrishcheva Lyubov Petrovna

Deputy Director

dekbiol.michgpi@yandex.ru

Olga Mikhailovna Zolotova

Head of Department

zolotova.olga1@mail.ru

Lishtvanova Marina Valerievna

Student

Ljubaf@rambler.ru

Michurinsk State Agrarian University

Michurinsk, Russia

Annotation. The article is devoted to the formation of ideas about the role of I.V. Michurin in the development of methods for breeding fruit and berry crops and on the cytogenetic method for overcoming reduced fertility in distant hybrids.

Keywords: selection, genetics, distant hybridization, amphidiploids, bivalents.