

УДК 34.31.33

**ОТБОР ПЕРСПЕКТИВНЫХ ГИБРИДНЫХ ФОРМ *M. DOMESTICA*
В КАЧЕСТВЕ ПОДВОЕВ В УСЛОВИЯХ КУЛЬТУРЫ ТКАНЕЙ**

Алексей Андреевич Привалов

аспирант

asher_satton@mail.ru

Роман Валерьевич Папихин

руководитель Научного центра биотехнологии и селекции

кандидат сельскохозяйственных наук

rom10@mail.ru

Роман Александрович Чмир

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент

romanchmir3@mail.ru

Мичуринский государственный аграрный университет

г. Мичуринск, Россия

Аннотация. Многочисленные мировые исследования показали, что, как правило, существует достоверные различия между диплоидными и полиплоидными растениями в пределах одного вида. Данные различия выражаются не только в изменении хромосомного состава ядер, но в изменении морфологических признаков, анализируя которые можно отобрать искомые полиплоидные генотипы из общей массы растений.

Ключевые слова: биотехнология, *Malus Domestica*, гибриды.

Многочисленные мировые исследования показали, что, как правило, существует достоверные различия между диплоидными и полиплоидными растениями в пределах одного вида. Данные различия выражаются не только в изменении хромосомного состава ядер, но в изменении морфологических признаков, анализируя которые можно отобрать искомые полиплоидные генотипы из общей массы растений.

В результате многолетней работы Е.Н. Седова с коллегами по получению полиплоидных форм яблони путём разнохромосомного скрещивания, был отмечен факт более сдержанного роста сеянцев с увеличенным числом хромосом [4,6,7]. Кроме этого, сеянцы с числом хромосом не кратным базисному (анеуплоидные генотипы) развиваются значительно слабее, чем эуплоидные растения. Таким образом, данный признак служит одним из основных показателей по отбору триплоидных форм на раннем этапе селекции.

В некоторых работах по получению полиплоидных форм плодовых растений [1,2,5], выявлено, что увеличение числа хромосом приводит не только к более сдержанному росту, но и способствует сближению междоузлий на побегах. В результате на растениях формируются короткие побеги с большим числом листьев по сравнению с диплоидными аналогами.

Цель и задачи исследования

Цель – анализ статистических характеристик сеянцев *Malus Domestica* (коэффициент сгущения листьев, длина, ширина, площадь листа, рост растения)

Задачи:

- проанализировать коэффициент сгущения листьев, длина, ширина, площадь листа, рост двухлетних гибридных растений яблони в комбинации 2-15-2 (2n) x 25-37-45 (4n) и 2-15-2 (2n) x 13-6-106 (4n).

Объекты и методы исследования

Биологическими объектами исследований служили двухлетние гибридные растения яблони, полученные в комбинации 2-15-2 (2n) x 25-37-45 (4n) и 2-15-2 (2n) x13-6-106 (4n).

Гибридные комбинации были высеяны в адвентивный маточник лаборатории селекции слаборослых клоновых подвоев и других плодовых культур в НОЦ им. В.И. Будаговского в августе 2020 года.

Для выявления на раннем этапе полиплоидные генотипы производили замеры высоты сеянцев, количества листьев, их длины и ширины. Площадь листьев рассчитывали с помощью программы EasyLeafAreaFree (Украина) путём фотографирования листовых пластинок.

Коэффициент сгущения листьев (Ксл) рассчитывали по методике Гашевой Н.А. [3].

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Microsoft Excel.

Результаты исследования

Анализ гибридной комбинации 2-15-2 (2n) x 25-37-45 (4n) показал значительный разброс среди сеянцев по признакам, данным выше.

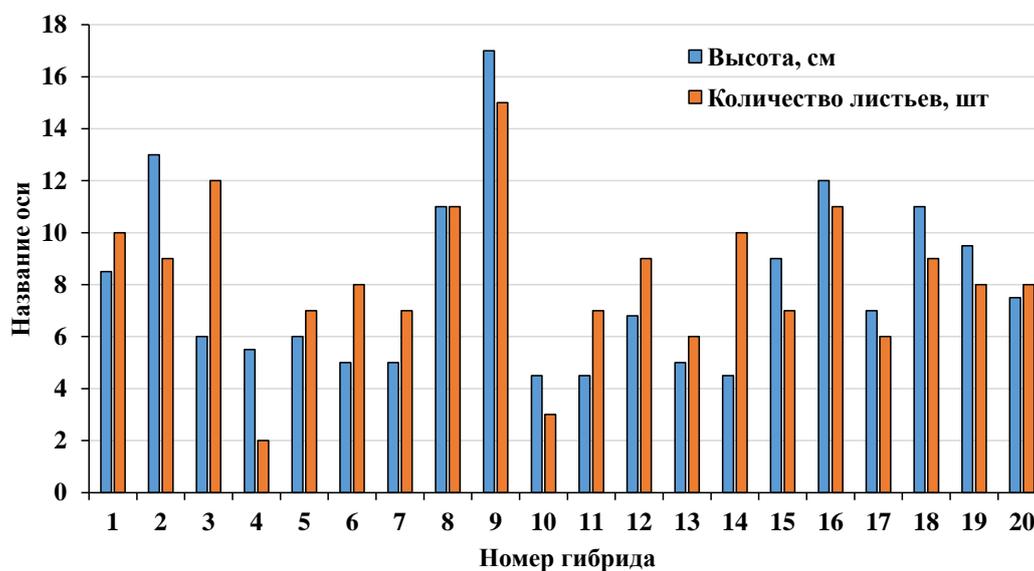


Рисунок 1 - Статистические характеристики сеянцев 2020 г., полученных в комбинации 2-15-2 (2n) x 25-37-45 (4n)

На рисунке 1 показано развитие гибридных растений и формирование у них листового аппарата. Обращает внимание, что некоторые генотипы, обладающие сдержанным ростом, формируют малое количество листьев (сеянец №4, 10). Можно предположить, что данные формы являются маложизнеспособными и не обладают хорошей зимостойкостью и засухоустойчивостью. Такие растения встречаются во всех гибридных популяциях от разнохромосомных скрещиваний, согласно теории Е.Н. Седова (2008) и, как правило, погибают в первые годы жизни.

Основная масса растений обладает средними размерами надземной части от 5,0 см до 9,0 см и количеством листьев от 6 шт. до 10 шт.

Более объективно оценить вероятную принадлежность конкретного растения к группе полиплоидных форм можно с помощью коэффициента сгущения листьев (Ксл), который статистически выделяет сеянцы со сдержанным ростом и сближенными междоузлиями. Чем ближе данный показатель к 0, тем короче и облиствлённое у него побеги. Исследование показало, что сеянцы № 3 и 14 имеют минимальные значения данного показателя в этой гибридной семье (Ксл=0,5).

Анализ всей гибридной популяции выявил примерно половину сеянцев, имеющих Ксл менее 1 (рис. 2).

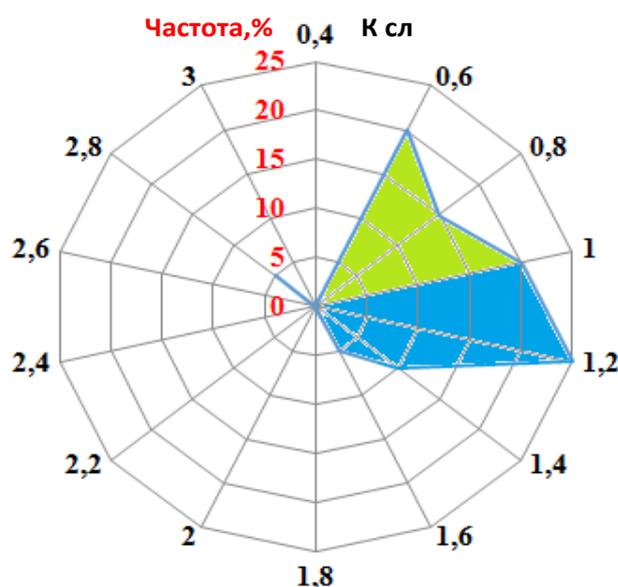


Рисунок 2 - Коэффициент сгущения листьев сеянцев, полученных в комбинации 2-15-2 (2n) x 25-37-

Однако, выделяется группа растений, которая формирует кластер К сл=0,6-0,7, что показывает обособление данных форм в определённый кластер с наименьшими значениями. Это сеянцы № 3, 6, 7, 11, 14.

Ещё одним существенным изменением при увеличении уровня плоидности является изменение линейных размеров листовых пластинок. Это связано с увеличением размеров клеток, особенно в ширину, что приводит к формированию более округлых листьев. Данный признак с успехом был применён Е.Н. Седовым с коллегами (2008) при отборе триплоидных генотипов яблони и смородины.

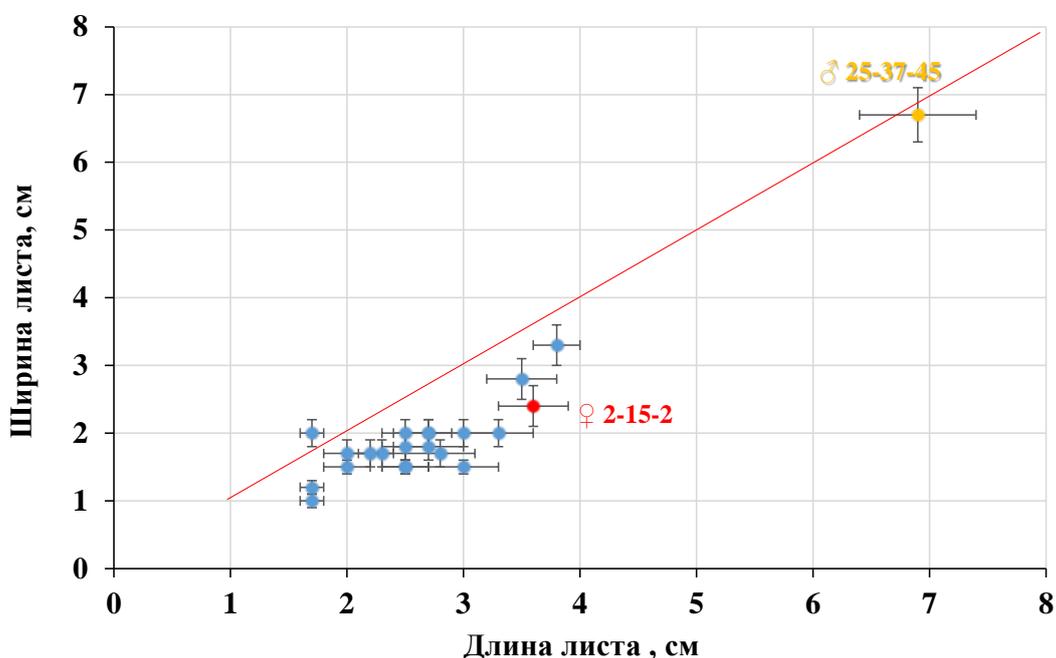


Рисунок 3 - Морфометрические характеристики листьев сеянцев, полученных в комбинации 2-15-2 (2n) x 25-37-45 (4n)

На рисунке 3 показано распределение сеянцев по линейным размерам листовых пластинок. Обращает внимание, смещение характеристик листьев всех сеянцев в зону материнского растения. Это естественным образом связано с ранним ювенальным периодом, так как размеры листьев в первый год развития значительно меньше, чем в последующие годы. Мы считаем, что в течение следующих 1-2 вегетационных сезонов эти параметры будут значительно изменяться с увеличением размеров и таким образом, будут распределяться между условными материнской и отцовской зонами на графике.

Тем не менее, пропорции листовых пластинок, как правило, не изменяются, согласно данным Г.А. Седышевой (1994). Таким образом, генотипы, у которых соотношение размеров длины и ширины листовых пластинок приближается к 1 (красная линия на рисунке 3), вероятно являются триплоидными формами. Доказательством успешности данной теории являются значения диплоидной материнской (длина $L=3,6\pm 0,3$ см, ширина $W=2,4\pm 0,2$ см) и тетраплоидной отцовской (длина $L=6,9\pm 0,6$ см, ширина $W=6,7\pm 0,5$ см) форм. Наиболее равные значения длины и ширины листьев в данной гибридной семье имеют сеянцы № 1, 11, 7, 19.

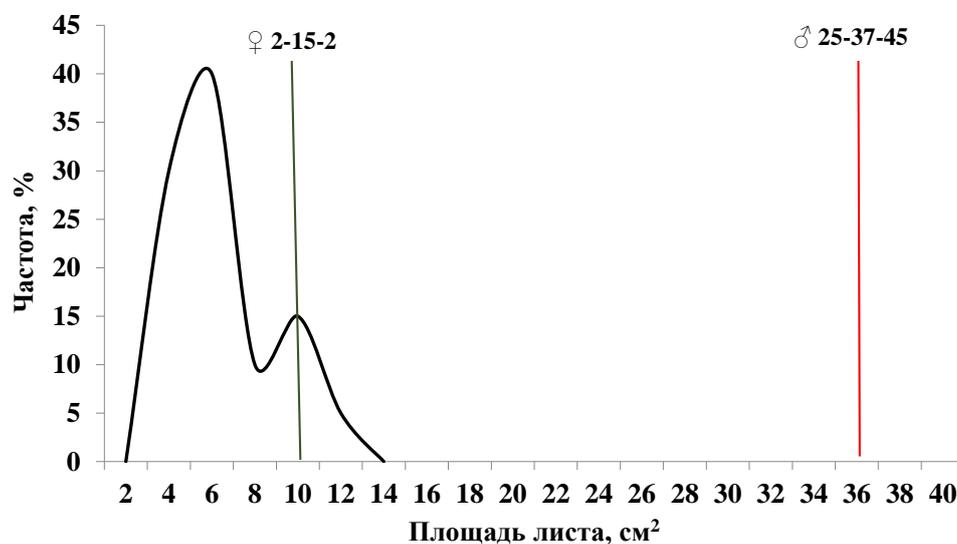


Рисунок 4 - Распределение площади листьев сеянцев, полученных в комбинации 2-15-2 (2n) x 25-37-45 (4n)

Анализ площади листьев в конце вегетационного периода показал, что в данной комбинации, не смотря на молодой возраст, явно выделяется две группы гибридов (рис. 4). В первую, более многочисленную группу, вошли формы с маленькой площадью листьев от $2,8\pm 0,6$ см до $8,0\pm 0,7$ см. Во второй группе с $S\geq 8,0$ см вошли гибриды, так же отмеченные нами ранее по ряду показателей (сеянцы № 1, 9, 19). С учётом проведённых ранее измерений, ожидаемо, значительно различаются значения средней площади листьев родительских форм (2-15-2 $S=11,7\pm 0,8$ см², 25-37-103 $S=37,4\pm 1,2$ см²), в дальнейшем, при полном развитии листьев этот признак будет служить хорошим селективным фактором при отборе триплоидных генотипов.

Анализ гибридной комбинации 2-15-2 (2n) x 13-6-106 (4n) также показал высокую степень дифференцированности среди сеянцев по данным признакам.

На рисунке 5 также показано развитие гибридных растений и формирование у них листового аппарата. Выделяется группа генотипов, обладающих высоким показателем количества листьев, а также значительным показателем роста. (сеянец №17, 18, 25). Аналогично, данные генотипы имеют высокую степень жизнестойкости, засухоустойчивости, зимостойкости. Некоторые генотипы (сеянцы № 19, 21, 26, 31, 35, 37) обладают низким показателем роста, средним показателем облиственности, что говорит о низких показателях засухоустойчивости, зимостойкости, жизнеспособности. Основная масса растений обладает средними размерами надземной части от 7.5см до 16,0 см и количеством листьев от 8 шт. до 13 шт.

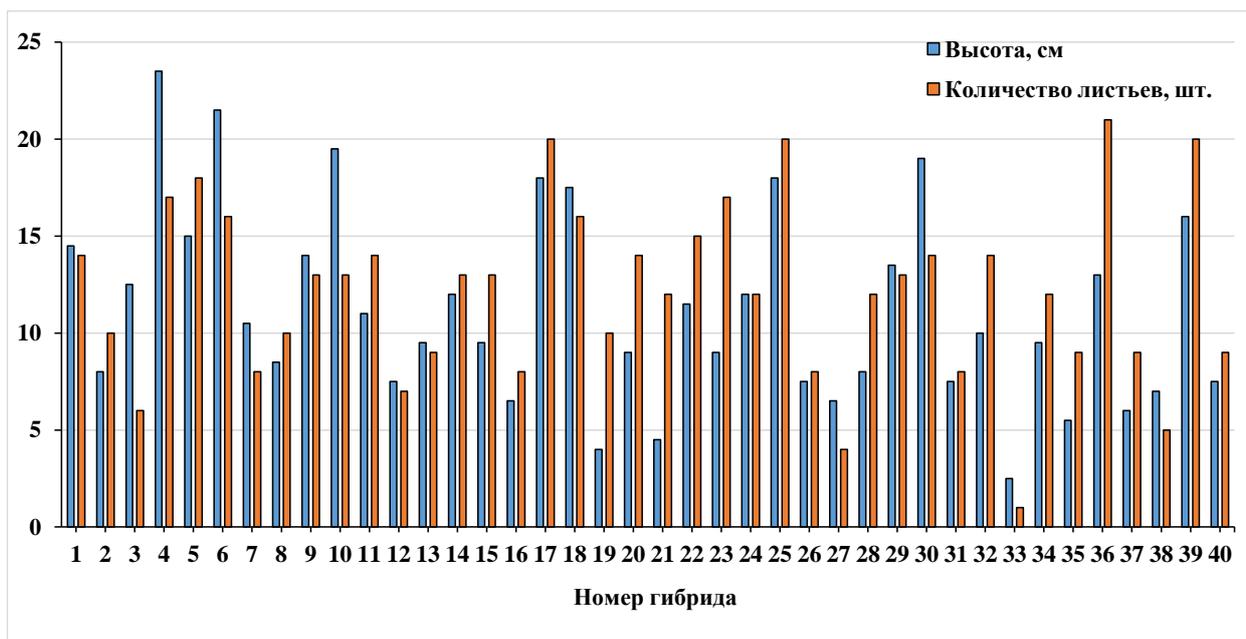


Рисунок 5 - Статистические характеристики сеянцев 2020 г., полученных в комбинации 2-15-2 (2n) x 13-6-106(4n)

Исследование показало, что сеянцы № 12 и 16 имеют минимальные значения данного показателя в этой гибридной семье ($K_{сл}=0,4$).

Анализ всей гибридной популяции выявил примерно две трети сеянцев, имеющих $K_{сл} = 0,8 - 1$ (рис. 6).

Группа растений, формирующая кластер $K_{сл} = 1,2 - 1,4$, имеет высокие показатели роста, но средние либо низкие показатели количества листьев.

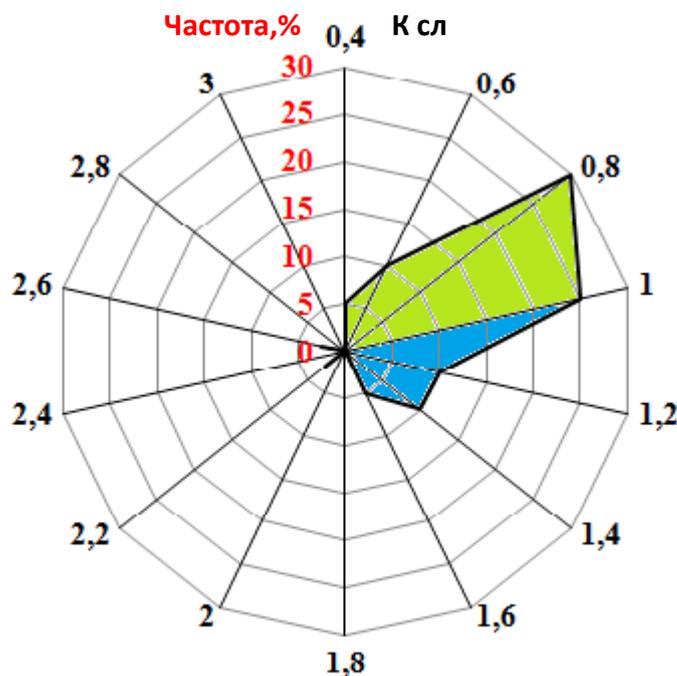


Рисунок 6 - Коэффициент сгущения листьев семян, полученных в комбинации 2-15-2 (2n) x 13-6-106 (4n)

На рисунке 7 показано распределение семян по линейным размерам листовых пластинок. Обращает внимание, смещение характеристик листьев двух третей семян в зону материнского растения, и только одной трети – в сторону отцовского. Генотипы, у которых соотношение размеров длины и ширины листовых пластинок приближается к 1 (красная линия на рисунке 7), вероятно являются триплоидными формами. Доказательством успешности данной теории о триплоидности форм, являются значения диплоидной материнской (длина $L=3,6\pm 0,3$ см, ширина $W=2,4\pm 0,2$ см) и тетраплоидной отцовской (длина $L=6,6\pm 0,6$ см, ширина $W=6,0\pm 0,5$ см) форм. Наиболее равные значения длины и ширины листьев в данной гибридной семье имеют семена № 2, 8, 18, 33.

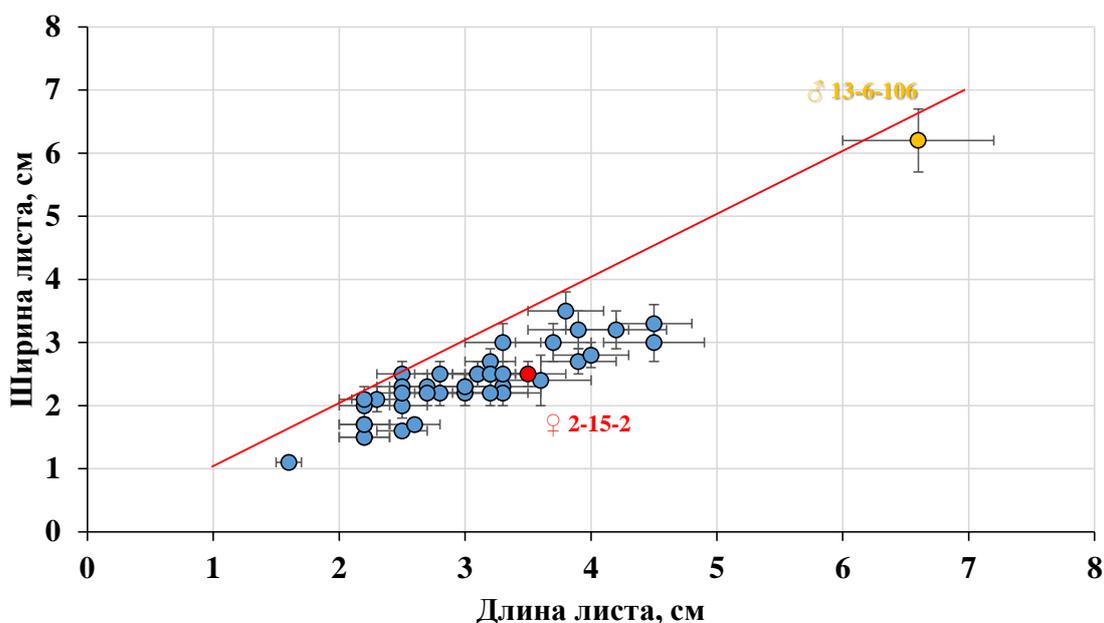


Рисунок 7 - Морфометрические характеристики листьев сеянцев, полученных в комбинации 2-15-2 (2n) x 13-6-106(4n)

Анализ площади листьев в конце вегетационного периода показал, что в данной комбинации явно выделяется две группы гибридов (рис. 8). В первую, более многочисленную группу, вошли формы с маленькой площадью листьев от $4,3 \pm 0,2$ см до $8,0 \pm 0,7$ см. Во второй группе с $S \geq 12,0$ см вошли гибриды, так же отмеченные нами ранее по ряду показателей (сеянцы № 2, 8, 33). Также значительно различаются значения средней площади листьев родительских форм ($2-15-2 S = 11,7 \pm 0,8$ см², $13-6-106 S = 31,2 \pm 0,8$ см²).

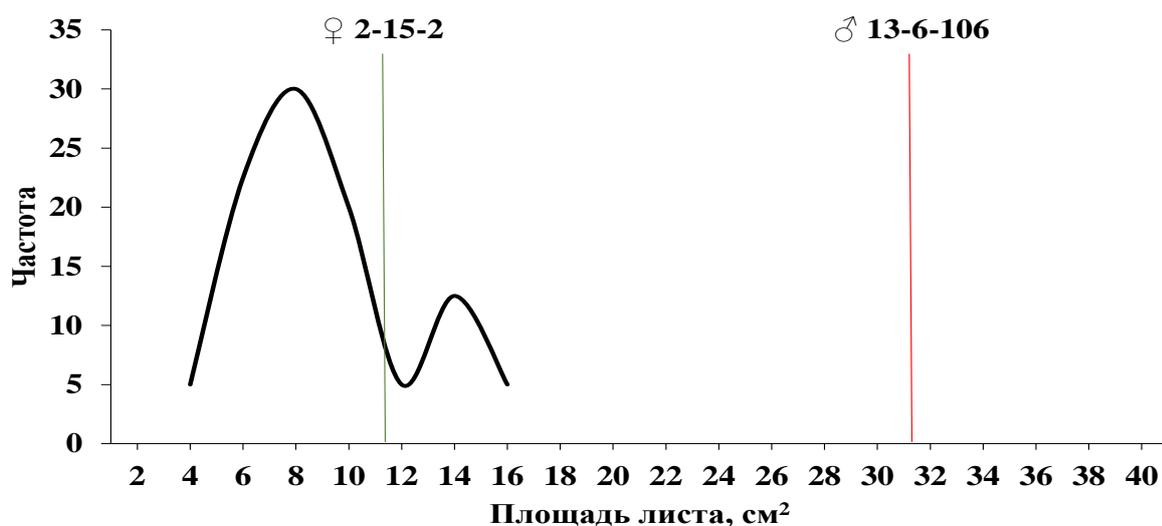


Рисунок 8 - Распределение площади листьев сеянцев, полученных в комбинации 2-15-2 (2n) x 13-6-106 (4n)

Выводы

Анализ формы 2-15-2(2n)x25-37-45(4n) выявил примерно половину семян, имеющих Ксл менее 1 (рис. 2).

Выделяется группа растений, которая формирует кластер $K_{сл}=0,6-0,7$, что показывает обособление данных форм в определённый кластер с наименьшими значениями. Это семена № 3, 6, 7, 11, 14.

Наиболее равные значения длины и ширины листьев в данной гибридной семье имеют семена № 1, 11, 7, 19.

Анализ площади листьев в конце вегетационного периода показал, что в комбинации 2-15-2(2n)x25-37-45(4n), не смотря на молодой возраст, явно выделяется две группы гибридов (рис. 4). В первую, более многочисленную группу, вошли формы с маленькой площадью листьев от $2,8\pm 0,6$ см до $8,0\pm 0,7$ см. Во второй группе с $S\geq 8,0$ см вошли гибриды, так же отмеченные нами ранее по ряду показателей (семена № 1, 9, 19).

Анализ гибридной комбинации 2-15-2 (2n) x 13-6-106 (4n) также показал высокую степень дифференцированности среди семян по данным признакам.

Выделяется группа генотипов, обладающих высоким показателем количества листьев, а также значительным показателем роста. (семя №17, 18, 25)

Аналогично, данные генотипы имеют высокую степень жизнестойкости, засухоустойчивости, зимостойкости. Некоторые генотипы (семена № 19, 21, 26, 31, 35, 37) обладают низким показателем роста, средним показателем облиственности, что говорит о низких показателях засухоустойчивости, зимостойкости, жизнеспособности.

Исследование показало, что семена № 12 и 16 имеют минимальные значения данного показателя в этой гибридной семье ($K_{сл}=0,4$).

Анализ всей гибридной популяции 2-15-2 (2n) x 13-6-106 (4n) выявил примерно две трети семян, имеющих $K_{сл} = 0,8 - 1$ (рис. 6).

Группа растений, формирующая кластер $K_{сл} = 1,2 - 1,4$, имеет высокие показатели роста, но средние либо низкие показатели количества листьев.

Наиболее равные значения длины и ширины листьев в данной гибридной семье имеют сеянцы № 2, 8, 18, 33.

Анализ площади листьев в конце вегетационного периода показал, что в комбинации 2-15-2 (2n) x 13-6-106 (4n) явно выделяется две группы гибридов (рис. 8). В первую, более многочисленную группу, вошли формы с маленькой площадью листьев от $4,3 \pm 0,2$ см до $8,0 \pm 0,7$ см. Во второй группе с $S \geq 12,0$ см вошли гибриды, так же отмеченные нами ранее по ряду показателей (сеянцы № 2, 8, 33).

Список литературы:

1. Антонова И.С., Белова О.А. О единицах морфологической структуры кроны древесных растений умеренной зоны // Современные подходы к описанию структуры растения. Под ред Н.П. Савиных, Ю.А. Боброва. Киров: Изд-во ВятГУ. 2008. С. 94–102.

2. Гашева Н.А. Классификация элементарных побегов *salix myrtilloides* L. по морфометрическим показателям // Вестник Тюменского государственного университета. 2009. №3. С. 215-222.

3. Гашева Н.А. Сравнительная морфометрия метамерных элементов побеговой системы *Salix myrtilloides* L. // Проблемы изучения растительного покрова Сибири: Мат-лы IV Междунар. науч. конф. Томск: Изд-во ТГУ. 2010. С. 175–177.

4. Новые слаборослые клоновые подвои яблони / Н. М. Соломатин, Р. В. Папихин, Л. В. Григорьева [и др.] // Вестник Мичуринского государственного аграрного университета. 2012. № 1-1. С. 58-61. – EDN PEJJWP.

5. Папихин Р.В, Муратова С.А. Повышение эффективности отдалённой гибридизации семечковых плодовых культур: // Монография. Мичуринск: Изд-во Мичуринского госагроуниверситета. 2011. 116 с.

6. Седов Е.Н., Седышева Г.А., Серова З.М. Селекция яблони на полиплоидном уровне. 2008. 368 с.

7. Седышева Г.А., Седов Е.Н. Полиплоидия и селекция яблони. 1994.
272 с.

UDC 34.31.33

**SELECTION OF PROMISING HYBRID FORMS OF *M. DOMESTICA*
AS ROOTSTOCKS UNDER TISSUE CULTURE CONDITIONS**

Alexey A. Privalov

postgraduate student

Roman V. Papikhin

Head of the Scientific Center of Biotechnology and Breeding

candidate of agricultural sciences

parom10@mail.ru

Roman A. Chmir

Candidate of Agricultural Sciences, Associate Professor

romanchmir3@mail.ru

Michurinsk State Agrarian University

Michurinsk, Russia

Annotation. Numerous world studies have shown that, as a rule, there are reliable differences between diploid and polyploid plants within one species. These differences are expressed not only in the change of chromosomal composition of nuclei, but also in the change of morphological features, analyzing which it is possible to select the desired polyploid genotypes from the total mass of plants.

Key words: biotechnology, *Malus Domestica*, hybrids.

Статья поступила в редакцию 05.09.2023; одобрена после рецензирования 16.10.2023; принята к публикации 27.10.2023.

The article was submitted 05.09.2023; approved after reviewing 16.10.2023; accepted for publication 27.10.2023.