

О. В. Дубровна

ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ІНБРЕДНИХ ЛІНІЙ ЦУКРОВОГО БУРЯКА З РІЗНОЮ КОМБІНАЦІЙНОЮ ЗДАТНІСТЮ

Проведено цитогенетичне дослідження самозаплених ліній цукрового буряка з різним рівнем загальної комбінаційної здатності. Показано наявність міксоплоїдії та хромосомних перебудов в кореневій меристемі інбредних ліній. Визначено, що генотипи з різним рівнем комбінаційної здатності достовірно відрізняються за кількістю клітин з аномаліями мітозу і хромосомним складом клітинної популяції меристеми.

Вступ. Високогетерозисні гібриди цукрового буряка отримують за допомогою схрещувань самозаплених ліній, які мають високу комбінаційну здатність. Польова оцінка комбінаційної здатності пов'язана з великим обсягом робіт, тим більше, що генотипи з високою комбінаційною здатністю зустрічаються рідко. Отже, пошук найінформативніших методів оцінки самозаплених ліній набуває особливого значення. Ця проблема дуже вагома для цукрового буряка, який має дворічний цикл розвитку. Слід зазначити, що переважну більшість досліджень самозаплених ліній виконано на популяційному, організменному рівні організації рослин. Показано, що інбредні лінії з різною комбінаційною здатністю розрізняються між собою за фізіологічними, біохімічними та молекулярно-генетичними ознаками [1—3]. Цитогенетичні відмінності, які існують між рослинами на клітинному рівні, досліджено недостатньо. Тому вивчення цитологічних особливостей самозаплених ліній разом з іншими показниками рослин сприяє поглибленню уявлень про природу комбінаційної здатності та більш різнобічній оцінці рослин. Цитологічні методи дозволяють відносно швидко виявляти характерні особливості досліджуваного матеріалу на ранніх етапах онтогенезу рослин.

Метою роботи було порівняльне вивчення цитогенетичних особливостей самозаплених ліній цукрового буряка, які мають різний рівень загальної комбінаційної здатності (ЗКЗ), та з'ясування можливостей їх застосування у практичній роботі.

Матеріали і методи. Досліджено 25 самозаплених ліній цукрового буряка третього покоління інбридингу, які протягом декількох років показували стабільний рівень загальної комбінаційної здатності. Насіння поточного року репродукції пророщували в чашках Петрі в термостаті при температурі 27 °С. Зародкові корінці фіксували в суміші етанол — оцтова кислота (3:1) при зниженій температурі протягом доби. Відмивали від фіксатора в трьох змінах дистильованої води по 10 хв. Мацерацію здійснювали в 5 н. HCl при кімнатній температурі (30 хв). Забарвлювали препарати 2 %-м лактопропіоновим орсеїном [4]. Цитогенетичний аналіз проводили на тимчасових препаратах. У кожній лінії аналізували по 20—25 проростків. Досліджено біля 1000 клітин на стадії анафази та ранньої телофази в кожному варіанті досліду. Плоїдність клітин визначали на стадії метафази (вивчено не менше 700 клітин).

Результати і обговорення. Дослідження меристеми проростків самозаплених ліній цукрового буряка виявило наявність клітин з пору-

шенням клітинного поділу. Характер аномалій мітозу нерідко проявляється в розладі функцій веретена. Відмічено затримки в розходженні хромосом, викид хромосом за межі веретена, асиметричні та багатополюсні мітози. Хромосомні аберації були представлені мостами та фрагментами.

Серед аномалій мітозу часто зустрічалося відставання однієї або декількох хромосом, внаслідок чого утворювалися мікроядра. Відомо, що збільшення числа клітин з мікроядрами супроводжується зниженням мітотичного індексу, аномаліями веретена, утворенням хромосомних мостів та хроматидними розривами [5—7].

Наявність клітин з аномаліями поділу спостерігалася практично у всіх самоzapилених ліній (табл. 1). Однак кількість клітин з порушеннями мітозу змінювалася від 0,58 % у лінії 1221 до 6,60 % у лінії 1495. У таких ліній, як 1053, 1078, 1089, 1200, 1221, 1241, тільки окремі проростки мали клітини з відхиленнями, тоді як у інших ліній всі проаналізовані проростки мали клітини з аномаліями мітозу. У ліній з високою ЗКЗ доля клітин з відхиленнями від нормального процесу поділу не перевищувала 1 %, тоді як у ліній з низькою ЗКЗ кількість таких клітин зростала до 4—6 %. Встановлено, що у більшості досліджених ліній спостерігається достовірно вища частота аномалій мітозу та хромосомних аберацій в клітинах кореневої меристеми порівняно з рослинами вихідного сорту.

Всі інбредні лінії мали приблизно однаковий спектр аномалій клітинного поділу (табл. 2), але різну частоту конкретних порушень. В одних лініях переважали відсталі хромосоми і мікроядра (1138, 1224, 1300), в інших — значну кількість складала мости в анафазах (1283, 1404). Викид хромосом за межі веретена зустрічався досить рідко в порівнянні з іншими типами порушень. У деяких ліній подібну аномалію мітозу не виявлено зовсім. У таких ліній, як 1089, 1221, 1495, більше 20 % від абсолютної кількості клітин з порушеннями склада-

Таблиця 1
Частота порушень мітозу в клітинах кореневої меристеми інбредних ліній цукрового буряка

Тимчасовий номер лінії	Рівень ЗКЗ	Кількість вивчених анафаз і телофаз	Кількість клітин з порушеннями	Відсоток клітин з порушеннями (на лінію)	Контроль (вихідний сорт), %
1089	B	1004	7	0,70±0,26	0,2±0,14
1200	B	970	9	0,93±0,31	0,3±0,17
1221	B	1027	6	0,58±0,24	0,2±0,13
1241	B	965	7	0,72±0,27	0,2±0,14
1053	C	980	14	1,43±0,38	0,3±0,16*
1078	C	1011	13	1,29±0,35	0,2±0,10*
1148	C	989	19	1,92±0,44	0,4±0,22*
1150	C	993	16	1,61±0,40	0,2±0,13*
1156	C	995	18	1,81±0,42	0,3±0,19*
1283	C	1040	21	2,02±0,44	0,5±0,24*
1300	C	1018	20	1,96±0,43	0,4±0,23*
1423	C	971	23	2,37±0,49	0,2±0,13*
1500	C	1026	22	2,14±0,45	0,3±0,16*
1064	H	1090	37	3,39±0,55	0,2±0,14*
1100	H	968	56	5,79±0,75	0,5±0,27*
1112	H	993	38	3,83±0,61	0,4±0,22*
1138	H	1014	41	4,04±0,62	0,3±0,17*
1167	H	996	35	3,51±0,58	0,1±0,09*
1224	H	964	52	5,40±0,73	0,2±0,14*
1307	H	977	64	6,55±0,79	0,4±0,21*
1314	H	1043	48	4,60±0,65	0,2±0,15*
1404	H	987	44	4,46±0,66	0,3±0,19*
1408	H	996	62	6,22±0,77	0,4±0,14*
1446	H	1031	57	5,52±0,71	0,3±0,18*
1495	H	955	63	6,60±0,80	0,4±0,22*

* Різниця між показниками лінії та сорту достовірна ($P < 0,05$).

ли асиметричні та багатополюсні мітози. Слід зазначити, що спектр аномалій мітозу в клітинах меристеми кореня у інбредних ліній був значно ширшим, ніж у рослин вихідних сортів, де виявлено лише мости в анафазах та відсталі хромосоми. В основному наведені вище порушення клітинного поділу відмічаються при мікроспорогенезі, що призводить до утворення анеуплоїдних гамет [8, 9]. Нашими дослідженнями показано, що і в меристемі проростків інбредних ліній цукрового буряка виявляється певна кількість клітин з порушенням мітозу.

Оскільки досліджені лінії росли в стандартних умовах вирощування, то можна вважати, що ми спостерігали цитогенетичний прояв інбредної депресії, обумовленої підвищенням ступеню гомозиготності по шкідливих рецесивних алелях.

Нами знайдено певну тенденцію до збільшення кількості клітин з порушеннями мітозу у низькопродуктивних ліній. Дослідження протягом декількох років показали, що лінії, у яких була досить висока (>4%) частота клітин з порушеннями мітозу, у період вегетації відрізнялися пригніченим станом розвитку, повільним наростанням ботвиння, внаслідок чого стабільно мали порівняно меншу масу коренеплодів (200—240 г), тоді як у ліній з високою ЗКЗ маса коренеплодів перевищувала 350 гр.

Відомо, що такі аномалії клітинного поділу, як відставання хромосом в анафазі, викид хромосом за межі веретена та їх наступний лізис, призводять до утворення анеуплоїдних клітин [10]. За рахунок цього популяція стає гетерогенною за плоідністю. Виявивши певну кількість клітин з аномаліями мітозу, ми перевірили хромосомний склад клітинної популяції меристеми самоzapилених ліній цукрового буряка за плоідністю.

Дані щодо хромосомного складу клітин меристеми проростків ліній цукрового буряка представлено в табл. 3. Дослідження показали, що переважна більшість метафазних пластинок мала 18 хромосом.

Таблиця 2

Типи аномалій і частота окремих порушень мітозу в клітинах меристеми самоzapилених ліній цукрового буряка

Тимчасовий номер лінії	Всього клітин з порушеннями				
	Відсталі хромосоми+фрагменти	Мікроядра	Мости в анафазі	Викид хромосом	Асиметричні+багатополюсні мітози
1089	2	—	3	—	2
1200	3	—	4	—	2
1221	1	1	2	—	2
1241	3	—	3	—	1
1053	5	2	6	1	—
1078	5	3	4	—	1
1148	8	2	7	1	1
1150	5	4	4	2	—
1156	6	2	7	2	1
1283	7	3	9	—	2
1300	8	6	3	1	2
1423	11	5	5	2	—
1500	10	4	7	—	1
1064	16	8	5	—	8
1100	24	14	13	1	4
1112	17	8	8	—	5
1138	22	10	7	—	2
1167	15	4	14	—	2
1224	21	17	3	—	11
1307	19	11	15	6	13
1314	20	7	19	—	2
1404	11	4	21	—	8
1408	17	13	22	4	6
1446	23	11	8	5	10
1495	19	10	11	4	16

Це відповідає диплоїдному набору цукрового буряка. У всіх вивчених ліній число диплоїдних клітин було не менше 92 %. Тільки у лінії 1078 всі метафазні пластинки були диплоїдними. В деяких лініях нами відмічено тетраплоїдні, триплоїдні та гаплоїдні метафази, а також анеуплоїдні з різним числом хромосом — від гіподиплоїдного до гіпотетраплоїдного.

Міксоплоїдію відмічено у більшості вивчених форм, але в різному сполученні та процентному відношенні. Структура клітинної популяції ліній з низькою ЗКЗ (при домінуванні диплоїдних клітин) представлена анеуплоїдними та гаплоїдними клітинами, в той час як у ліній з високою та середньою ЗКЗ гетерогенність клітинної популяції меристеми проявляється в наявності триплоїдних та тетраплоїдних клітин.

Таким чином, показано нестабільність числа хромосом в клітинах кореневої меристеми інбредних ліній цукрового буряка.

Крім цього, зазначимо, що мінливість числа хромосом в клітинах кореневої меристеми цукрового буряка спостерігалася неодноразово [11—13]. Але причини та закономірності цитогенетичної нестабільності хромосомного набору цукрового буряка досліджено недостатньо і до кінця не з'ясовано.

Наявність поліплоїдних клітин в меристемі інбредних ліній можна пояснити, скоріш за все, ендомітозами. Окрім того, поліплоїдизація може бути результатом незавершеності мітотичного циклу на різних його стадіях [14]. Появу триплоїдних клітин та частини анеуплоїдних, мабуть, можна пояснити виявленими порушеннями клітинного поділу, такими як асиметричні та трьохполюсні мітози, внаслідок чого могли утворюватися ядра з різною кількістю хромосом. Досить вірогідно, що тетраплоїдна клітина, крім поділу з нормальним двохполюсним веретенем на дві тетраплоїдні, зрідка може ділитися і з трьохполюсним веретенем (4 : 3 : 1). Найімовірнішим механізмом гаплоїдизації є соматична кон'югація гомологічних хромосом в диплоїдних мітозах з наступною редукцією числа хромосом, але гаплоїдні клітини можуть також виникати шляхом геномної сегрегації в поліплоїдних мітозах [15].

Таблиця 3

Хромосомний склад клітин меристеми інбредних ліній цукрового буряка (1з)

Тимчасовий номер лінії	Рівень ЗКЗ	Кількість проаналізованих рослин	Кількість спостережених метафаз	Кількість клітин з числом хромосом, %				
				9	18	27	36	Анеуплоїдні
1089	В	21	980	0,2	97,0	0,41	2,04	0,31
1200	В	23	908	—	96,4	0,55	2,86	0,22
1221	В	24	923	0,3	96,5	0,43	2,06	0,43
1241	В	25	906	—	96,3	0,22	3,02	0,22
1053	С	25	920	—	99,0	—	—	0,98
1078	С	23	940	—	100,0	—	—	—
1148	С	21	819	—	98,4	—	—	1,59
1150	С	22	907	—	97,8	—	0,88	1,32
1156	С	20	854	0,23	98,6	—	—	1,17
1283	С	23	942	0,41	97,7	0,21	0,21	1,38
1300	С	21	902	—	97,8	—	1,44	0,78
1423	С	22	870	—	98,7	—	—	1,26
1500	С	21	912	—	98,4	—	0,77	0,88
1064	Н	22	862	1,28	96,5	—	—	2,23
1112	Н	18	780	0,91	96,0	—	—	3,06
1167	Н	21	860	1,04	97,0	—	—	1,97
1224	Н	22	836	1,44	93,9	—	—	4,66
1307	Н	23	971	1,02	94,0	—	—	4,94
1307	Н	22	925	0,54	96,4	—	—	3,02
1408	Н	21	920	1,52	92,8	—	—	5,76
1495	Н	20	970	0,82	92,9	—	—	6,28

Підсумовуючи, слід зазначити, що існує гіпотеза щодо регулювання хромосомної мінливості в онтогенезі гормональним шляхом, тобто змінами вмісту і співвідношення фітогормонів [16, 17]. Тому можна припустити, що внаслідок самозапилення і переходу частини генів до гомозиготного стану у інбредних ліній відбуваються зміни фізіологічного гомеостазу, які, мабуть, і викликають мінливість числа хромосом.

Таким чином, цитогенетичне дослідження самозапилених ліній цукрового буряка показало, що інбридинг по-різному впливає на досліджені генотипи, за рахунок чого вони мають різну кількість клітин з порушеннями мітозу. Ці аномалії клітинного поділу призводять до утворення анеуплоїдних клітин, яке, в свою чергу, веде до гетерогенності клітинної популяції. У певної частини ліній цитогенетична нестабільність виявляється в мінливості числа наборів хромосом від 1х до 4х. У ліній з високою комбінаційною здатністю міксоплоїдія проявляється в появі триплоїдних та тетраплоїдних клітин, що діляться, в той час як у ліній з низькою комбінаційною здатністю поліплоїдні клітини не визначаються.

Насамкінець відмітимо, що лінії з різним рівнем комбінаційної здатності відрізняються за кількістю клітин з аномаліями мітозу та хромосомним складом клітинної популяції кореневої меристеми. У ліній з низькою ЗКЗ виявлено достовірне збільшення числа порушень клітинного поділу та визначається більше гаплоїдних та анеуплоїдних клітин, що дозволяє відбракувати такі форми вже на стадії проростання насіння.

O. V. Dubrovna

CYTOGENETICS PECULIARITIES OF INBRED LINES OF SUGAR BEET WITH DIFFERENT COMBINING ABILITY

Summary

The cytogenetical investigation of inbred lines of sugar beet with different combining ability have been studied. It is showed the availability of mixoploidy and chromosome aberrations in root meristeme of inbred lines. It is determined that genotype with different level of combining ability is distinguished by amount of cells with breach of mitosis and chromosome structure of cells population of meristeme.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Хотылева Л. В., Разумович А. Н., Тарутина Л. А. и др. Изменение содержания никотинамидных коферментов у инбредных линий кукурузы с различной комбинационной способностью // Докл. АН БССР.— 1986.— 30, № 8.— С. 752—755.
2. Марченко М. М., Кващук О. А., Мойса И. И. Прогнозирование комбинационной способности на основе сравнительной характеристики альбуминов проростков кукурузы // Пути повышения продуктивности, эффективности использования и охраны природ. ресурсов Укр. Карпат и Прикарпатья.— Киев, 1989.— С. 133—138.
3. Muntz K. Verfahren zur Frehdiagnose der Kombinationseignung von Kreuzungspartnern // Пат. № 234138. ГДР.— 1986.— А 01 Н 1/04.
4. Паушева Э. П. Практикум по цитологии растений.— М.: Колос, 1980.— С. 169—170.
5. Nose J., Puffer H. W. Cytogenetic and cytologic anomalies induced in purple sea urchin embryos by exposure to benzopyrene // Mar. Biol. Lett.—1983.—4, N 2.— P. 87—95.
6. Polasa H. Mutagenic evaluation of tromaril a novel anti-inflammatory drug, using mammalian test system // Ibid.— 1986.— 170, N 1.— P. 87—95.
7. Seifert H., Fayad S., Henneberg S. Zum Auftreten von Chromosomenaberrationen in einer Meerschweinchen—inzuchtpopulation. Ergebnis se der Karyotypanalyse // Wiss. Z. Humboldt.— 1991.— 40, N 1.— P. 29—37.
8. Ярмолюк Г. И., Ширяева Э. И. Цитологические и цитогенетические исследования в селекции сахарной свеклы.— Киев: Наук. думка, 1982.— 52 с.
9. Ярмолюк Г. И., Ковальчук Н. С., Кулик А. Г., Червякова В. В. Проблемы опыления и оплодотворения у растений.— Л., 1986.— С. 48—58.
10. Ярмолюк Г. И., Болелова Э. А., Ковальчук Н. С. Генетика сахарной свеклы.— Новосибирск: Наука, 1984.— С. 152—160.

11. *Зайковская Н. Э.* Биология цветения, цитология и эмбриология сахарной свеклы // Биология и селекция сахарной свеклы.— М.: Колос, 1968.— С. 137—200.
12. *Харечко-Савицкая Е. И.* Цитология и эмбриология сахарной свеклы // Свекловодство.— Киев: Изд-во колхоз. и совхоз. лит.— 1940.— Т. 1.— С. 453—550.
13. *Чугункова Т. В., Шевцов И. А.* Цитогенетика сахарной свеклы.— Киев: Наук. думка, 1992.— 174 с.
14. *Бродский В. Я., Урываева И. В.* Клеточная полиплоидия. Пролиферация, дифференциация.— М.: Наука, 1981.— 257 с.
15. *D'Amato F.* Nuclear cytology of tissue culture // Proc. Int. plant. cell culture appl. symp. improv.— 1984.— P. 295—305.
16. *Кунах В. А.* Изменчивость числа хромосом в онтогенезе высших растений // Цитология и генетика.— 1978.— 12, № 1.— С. 160—173.
17. *Кунах В. А.* Геномная изменчивость соматических клеток растений и факторы, регулирующие этот процесс // Там же.— 1980.— 14, № 1.— С. 73—81.

Ин-т физиологии растений и генетики
НАН Украины, Киев

Получено 21.09.94