

ЦИТОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРИЧИН СТЕРИЛЬНОСТИ ОТДАЛЕННЫХ ГИБРИДОВ В СЕМЕЙСТВЕ GROSSULARIACEAE DUMORT

Г. А. Бавтуто, И. Э. Бученков, В. Н. Кавцевич
БГПУ

Отдаленные реципрокные гибриды *Ribes nigrum* × *Ribes rubrum* и *Ribes nigrum* × *Grossularia reclinata*, полученные нами на диплоидном уровне в период с 1976 по 2000 гг. оказались стойко стерильными. Они обильно цветут, но не плодоносят (Бавтуто, 1980; Бученков, 1998). С целью определения причин стерильности изучали мейоз при микроспорогенезе и развитии женского гаметофита у отдаленных гибридов *R. nigrum* × *R. rubrum* (Церера × Ненаглядная), *R. nigrum* × *Gr. reclinata* (Церера × Яровой) в сравнении с родительскими формами *R. nigrum* (Церера), *R. rubrum* (Ненаглядная), *Gr. reclinata* (Яровой).

Мейоз у исходных форм характеризуется в основном правильным ходом. В диакнезе и метафазе I наблюдается бивалентная конъюгация хромосом, в редких случаях отмечены отдельные хромосомы за пределами экваториальной пластинки. Анафаза I протекает в большинстве случаев правильно с одновременным расхождением хромосом к полюсам и единичным отставанием 1-2, реже 3 хромосом. У изученных сортов эти нарушения колеблются в пределах $6,10 \pm 1,50$ — $13,96 \pm 2,20$ %, отличаясь наибольшим числом микроспороцитов с отклонениями у *R. rubrum*. У всех исходных форм преобладает расхождение хромосом типа 8+8, редко — 9+7, 10+6, 11+5. Нормальный характер телофазы I проявляется наличием равновеличинных ядер, отсутствием микроядер. Редким исключением у *R. nigrum* являются 1—2 хромосомы, оставшиеся за пределами ядер ($1,60 \pm 0,85$ — $2,33 \pm 0,36$ %), число таких клеток повышается у *Gr. reclinata* до $4,56 \pm 0,87$ % у, *R. rubrum* — до $10,78 \pm 1,40$ %.

Второе деление проходит в основном правильно. Количество клеток с нарушениями в метафазе II (одна отброшенная хромосома) у *R. nigrum* не превышает $4,14 \pm 1,42$ — $6,46 \pm 1,40$ %, у *Gr. reclinata* — $7,07 \pm 1,06$ %, увеличиваясь у *R. rubrum* до $14,18 \pm 1,22$ %. В анафазе II у *R. nigrum* запаздывание одной реже двух хромосом наблюдалось у $4,07 \pm 0,80$ % микроспороцитов, у *Gr. reclinata* — $4,88 \pm 0,32$ %, у *R. rubrum* — $13,25 \pm 1,84$ %. На стадии телофазы II число клеток с отклонениями составляет у *R. nigrum* $2,80 \pm 0,45$ %, у *Gr. reclinata* — $7,01 \pm 0,38$ %, у *R. rubrum* — $10,29 \pm 2,13$ %.

Мейоз у отдаленных гибридов характеризуется сильными нарушениями. В метафазе I у гибридов от 1 до 8—9 хромосом находятся за пределами веретена. Наибольшее число материнских клеток микроспор с отклонениями на стадии метафазы I отмечено у гибрида *Gr. reclinata* x *R. nigrum* (98,02±1,38 %), для которого отмечено наименьшее число бивалентов. Большое число конъюгирующих хромосом у гибрида *R. nigrum* x *R. rubrum* обусловило меньшее количество клеток с нарушениями (70,45±1,24 %). В ряде клеток не наблюдается образования экваториальной пластинки, хромосомы разбросаны по всей клетке, редко располагаются около экватора.

В анафазе I наблюдается преждевременное расхождение или отставание различного числа хромосом. Так, у гибрида *R. nigrum* x *Gr. reclinata* число материнских клеток микроспор с одной отстающей хромосомой составляет 7,6±0,12 %, с двумя — 13,2±0,90 %, с тремя — 21,3±1,17 %, с четырьмя — 13,2±0,11 %, с пятью — 13,9±0,11 %, с шестью — 9,0±0,14 %, с 7—8 хромосомами — 7,1±0,34 %. В клетках отмечено асинхронное расхождение бивалентов, отставание и забегание унивалентных, неразшедшиеся биваленты, преждевременное расщепление унивалентных. В результате указанных отклонений, в анафазе I расхождение типа 8+8 почти не встречается. Отмечены расхождения типа 7+4+4, 7+2+3+4, 6+3+4+3, 8+2+5, 8+6+12, 8+3+5, 5+3+2+6, 8+4+2+2, 8+4+4, 4+4+5+1+2, 4+3+6+3 и т.д. Наибольшее число микроспороцитов с отклонениями в анафазе I характерно для гибрида *Gr. reclinata* x *R. nigrum* — 96,72±8,88 %; для гибрида *R. nigrum* x *R. rubrum* процент таких микроспороцитов составляет 92,01±1,36 %; для *R. rubrum* x *R. nigrum* — 83,89±1,78 %; *R. nigrum* x *Gr. reclinata* — 95,40±0,86 %.

На стадии телофазы I почти не наблюдаются ядра равной величины, часто присутствуют дополнительные ядра, 1—3, реже 4—5 микроядер. Это связано с невхождением отстающих хромосом в ядра и свидетельствует о разном хромосомном составе ядер. Число клеток с отклонениями в телофазе I варьирует у *R. nigrum* x *R. rubrum* от 82,73±1,63 до 87,35±1,06 %, у *R. rubrum* x *R. nigrum* от 90,72±1,11 до 94,55±1,16 %, у *R. nigrum* x *Gr. reclinata* от 93,98±1,03 до 96,33±0,06 %, у *Gr. reclinata* x *R. nigrum* составляет 97,31±2,01.

Как закономерное следствие нарушений первого деления мейоза, во втором делении серьезные отклонения отмечены у 91,2±1,17 % просмотренных микроспороцитов. В метафазе II почти не образуется правильных пластинок с 8 хромосомами. Группы различного хромосомного состава и отдельные хромосомы разбросаны по цитоплазме. Часто наряду с двумя метафазными пластинками образуются 3—5, 5—7 групп хромосом. Процент клеток с аномальной метафазой II очень высок и колеблется от 88,31±1,72 до 95,54±1,38. В анафазе II нарушения заключаются в неодновременном расхождении хромосом, наличии 1—6, 7—9 отстающих хромосом. Не наблюдается правильного расхождения хромосом по полюсам, вместо групп из 8 хромосом, у каждого полюса отмечены разнообразные сочетания чисел хромосом — 8+6+2, 6+4+6, 6+6+4, 4+3+3+4+2, 8+6+2, 5+5+3+3, 7+7+1+1 и 6+5+2+2. Часто встречаются клетки с хромосомами, разбросанными по всему веретену. Аномальные микроспороциты составляют очень высокий процент, примерно равный у межвидовых и межродовых гибридов — 90,60±1,65 — 96,42±1,08.

В телофазе II, как закономерное следствие неравномерного расхождения хромосом и наличия дополнительных групп, образуются разновеличинные ядра в большем, чем при нормальном мейозе, числе. На стадии тетрад основная масса состоит из полиад. Так, у отдаленных гибридов в среднем пентады представлены $27,4 \pm 1,18$ %, гексады — $10,8 \pm 0,75$ %, гептады — $11,6 \pm 0,26$ %, октады — $3,6 \pm 1,62$ %, полиады из 9, 10 и большего числа микроспор — $2,8 \pm 1,06$ %, диады и триады — $0,8 \pm 0,05$ %. Встречающиеся у отдаленных гибридов тетрады следует отнести к ненормальным, так как микроспоры в них имеют разную величину клеток и ядер: число хромосом в крупных ядрах колеблется от 9 до 12, в мелких — от 2 до 7.

Изучение дифференциации женского гаметофита у отдаленных гибридов в семействе Grossulariaceae Dumort показало, что наиболее характерные нарушения в макроспорогенезе сводятся к следующим случаям: прекращение развития семязпочки на стадии спорогенеза; дегенерация макроспор в период образования диад и триад; остановка развития гаметофита на стадии 2—4-ядерного зародышевого мешка; отсутствие полярности и нормальной дифференциации элементов зародышевого мешка; редукция или увеличение числа элементов зародышевого мешка.

Выводы

1. Полная стерильность отдаленных межвидовых и межродовых гибридов объясняется нарушением в мейозе при формировании мужских и женских спорогенных клеток.
2. Изучение мейоза при микроспорогенезе у межвидовых и межродовых гибридов позволяет считать основной причиной мужской стерильности — нарушение мейоза.
3. Изучение формирования женского гаметофита у отдаленных гибридов выявило ряд нарушений (прекращение развития семязпочки, дегенерация макроспор, редукция или увеличение числа элементов зародышевого мешка), которые обуславливают женскую стерильность.

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЧИВОСТИ ПРИЗНАКОВ У МУТАНТОВ СМОРОДИНЫ И КРЫЖОВНИКА

И. Э. Бученков, В. Н. Кавцевич
БГПУ

В настоящее время методом мутагенеза получено около 500 сортов по всем основным сельскохозяйственным культурам. Этот метод достаточно широко используется во всех странах интенсивного земледелия. Международные проекты с использованием мутагенеза связаны с селекцией на устойчивость к различным неблагоприятным факторам окружающей среды, на повышенное содержание определенных соединений, на создание сортов интенсивного типа.

Современные сорта ягодных растений являются постоянным объектом совершенствования человеком. Нет сомнения, что широко используемые методы селекции этих культур, также как внутривидовые и межродовые скрещивания, отбор, клоновая изменчивость будут и в дальнейшем использоваться селекционерами. Однако в программы создания нового исходного материала ягодных растений все чаще включают метод индуцированного мутагенеза.

Важными ягодными кустарниками Беларуси являются смородина и крыжовник. Их ценят за ежегодную и хорошую урожайность, поливитаминность. Смородина и крыжовник характеризуются высокой степенью гетерозиготности и относи-

тельно продолжительным ювенильным периодом. Эти обстоятельства с одной стороны осложняют селекционную работу, а с другой — не позволяют механически перенести на них некоторые теоретические и методические положения мутационной селекции, разработанные на однолетних культурах (Равкин, 1981).

Цель, объекты и методика исследований

Обработку смородины и крыжовника химическими мутагенами проводили с целью расширения изменчивости и создания исходного материала для селекции. В качестве объектов исследования использовали 10 сортов смородины черной, смородины красной, крыжовника селекции БелНИИ плодоводства и 4 гибридные смородинно-крыжовниковые формы нашей селекции (Бученков, 1998).

В качестве мутагенов использовали водные растворы и эмульсии нитрозоэтилмочевины (НЭМ), нитрозометилмочевины (НММ), этиленimina (ЭИ), диметилсульфата (ДМС), диэтилсульфата (ДЭС) в концентрациях 0,001 — 0,5 % при экспозициях 6 — 24 часа. Верхушечные почки обрабатывали рано весной, до их распускания. Расхимеривание проводили путем обрезки верхней части побегов, выросших из обработанных почек, с последующим укоренением и отбором.

Учет результатов проводили по следующим показателям: распутившиеся верхушечные почки (%), укоренившиеся растения (%), характер морфозов и мутаций.

Результаты исследований и их обсуждение

Изучение реакции различных сортов смородины и крыжовника на воздействие химическим мутагенами, кроме теоретического значения, имеет ряд практических аспектов. Так, знание чувствительности необходимо при подборе доз мутагенов. С другой стороны, решение этой проблемы позволит разработать способы, снижающие повреждающее действие мутагенов на растения первого поколения без существенных изменений частоты и спектра мутаций у потомков, без изменения соотношения макро- и микромутаций. Таким образом, изучение чувствительности является одним из первых и необходимых этапов работы по мутационной селекции и одним из путей, так или иначе связанных с возможностью управления мутагенозом.

Данные по чувствительности различных сортов к химическим мутагенам дают возможность определить:

- биохимические свойства мутагена (химическая активность);
- морфологические свойства растений (проницаемость покровных тканей);
- физиологические особенности растений (активность метаболических процессов, репарирующих и восстановительных систем);
- физические и временные параметры в период обработки (способ введения мутагена, экспозиция обработки, стойкость мутагена и его концентрация);
- цитогенетические особенности (плоидность, митотическая активность).

В наших исследованиях в качестве критерия определения чувствительности различных сортов смородины и крыжовника использовали показатель выживаемости растений, выращенных из обработанных химическими мутагенами черенков, которые определяли на второй год роста. В результате установлено, что наибольшей химической активностью обладают НЭМ и ДЭС, меньшей — ЭИ и ДМС (Бученков, Бавтуто, Кавцевич, 2001).