

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ ТА НАУКИ УКРАЇНИ
УМАНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ САДІВНИЦТВА**

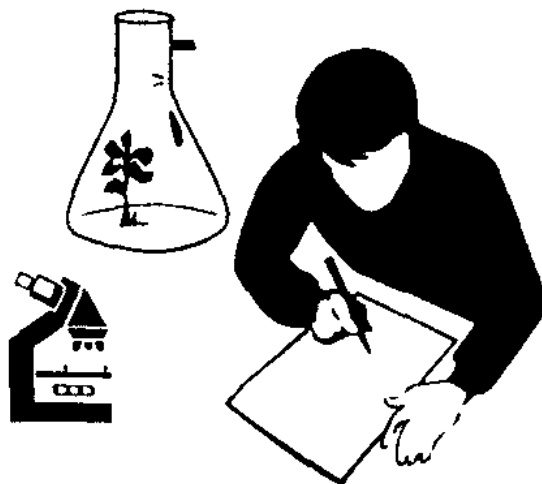
Кафедра генетики, селекції рослин та біотехнології

**Л.О. Рябовол,
Я.С. Рябовол, А.І. Любченко**

ПОЛІПЛОЇДІЯ В СЕЛЕКЦІЇ РОСЛИН

Методичні вказівки до вивчення дисциплін
«Генетика систем розмноження рослин»,
«Культура дигаплоїдів *in vitro*»,
«Генетика кількісних ознак», «Генетика»

для лабораторно-практичних занять студентів зі спеціальностей
8.09010108 «Насінництво та насіннезнавство», 8.09010105 «Селекція і
генетика сільськогосподарських культур», 6.090101 «Агрономія», 6.090103
«Лісове і садово-паркове господарство», 6.090105 «Захист рослин», 6.040106
«Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване
природокористування» вищих аграрних закладів освіти III–IV рівнів
акредитації



Умань–2015

УДК 631:147:378.022

Рецензент – доктор сільськогосподарських наук, професор
А.Ф. Балабак
(Уманський національний університет садівництва
Міністерства аграрної політики та продовольства України)

Л.О. Рябовол, Я.С. Рябовол, А.І. Любченко
ПОЛПЛОЇДІЯ В СЕЛЕКЦІЇ РОСЛИН

Методичні вказівки до вивчення дисциплін «Генетика систем розмноження рослин», «Культура дигаплоїдів *in vitro*», «Генетика кількісних ознак», «Генетика» для лабораторно-практичних занять студентів зі спеціальностей 8.09010108 «Насінництво та насіннезнавство», 8.09010105 «Селекція і генетика сільськогосподарських культур», 6.090101 «Агрономія», 6.090103 «Лісове і садово-паркове господарство», 6.090105 «Захист рослин», 6.040106 «Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування» вищих аграрних закладів освіти III–IV рівнів акредитації. – Умань: УНУС, 2015. – 28 с.

Рекомендовано до видання кафедрою генетики, селекції рослин та біотехнології Уманського НУС (протокол засідання № 8 від 18.02.2015р.) та методичною комісією факультету агрономії (протокол засідання № 3 від 24.02.2015р.)

ЗМІСТ

ВСТУП.....	4
1. Поліплоїдні ряди у рослин.....	4
2. Автополіплоїди.....	7
3. Реакція рослин на індукування поліплоїдії.....	10
4. Аллополіплоїдія.....	12
5. Гаплоїди.....	14
6. Триплоїди.....	19
7. Особливості розщеплень у поліплоїдів.....	21
8. Тематичні задачі.....	23
РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА.....	25

ВСТУП

Специфічні риси кожного виду чітко детерміновані, як і детерміновані межі мінливості якісних і кількісних ознак. Спадковість визначає своєрідну систему мінливості даного виду.

У рослин спадковий матеріал «укомплектований» в одиницях спадковості — *хромосомах*, які мають певну структуру і закономірні, чітко визначені функції протягом онтогенезу і філогенезу — це система об'єднаних одиниць (матеріальних носіїв) спадковості — генів. Вони є одиницями організації і функціонування спадкового матеріалу. Закономірності її будови і функціонування визначають і закономірності спадкування ознак і властивостей кожного організму.

1. ПОЛІПЛОЇДНІ РЯДИ У РОСЛИН

Вищі рослини істотно різняться за числом хромосом. Більшість родів квіткових рослин мають поліплоїдні ряди.

Поліплоїдія — спадкові зміни, які пов'язані зі збільшенням кількості цілих **хромосомних** наборів. Вона є одним із основних напрямків **еволюції**, тобто механізмів виникнення нових видів.

Рослини мають як *еуплоїдні*, так і *анеуплоїдні* поліплоїдні ряди.

Еуплоїди – це гаплоїдні та поліплоїдні форми з одинарним гаплоїдним набором хромосом чи кратним його повторенням.

Анеуплоїди – форми з числом хромосом, не кратним гаплоїдному.

Основне число хромосом організму може бути збільшене кратно – *ортоплоїдія*, наприклад у два рази (*диплоїд*), в чотири (*тетраплоїд*), в шість разів (*гексаплоїд*) і т. д. Непарне збільшення кратності

(анортоплоїдія) – у три рази утворює *триплоїд*, в п'ять *пентаплоїд* і т. д.

Японські вчені-генетики Кіхара і Оно (1926) вперше вказали, що у природі існує два типи поліплоїдів:

Автополіплоїди – організми в яких подвоєно один і той же набір хромосом в межах одного виду – AA подвоєння AAA_1A_1 . Таке збільшення хромосом відбувається не поступово, а настає зразу, стрибкоподібно, тому цей процес називається мутаційним.

Аллополіплоїди – організми в яких складаються різні набори хромосом шляхом міжвидових схрещувань. Іноді таке поєднання називають *арфідиплоїдією*.

Кожен вид рослин, який входить у поліплоїдний ряд, характеризується певним геномним складом і *каріотипом*. В основі поліплоїдного ряду лежить базове або основне число (або декілька базових чисел).

Під каріотипом розуміють фенотипову характеристику набору хромосом у період метафази або будь-якої іншої стадії, тобто число і морфологію хромосом певного складу. Не завжди види у межах роду можна розрізнити за каріотипом. Буває, що морфологічно подібні види можуть бути різними за каріотипами.

Базове (основне) число – це найменше *гаплоїдне* число, на яке діляться всі числа хромосом у поліплоїдному ряду. Отже – це кількісна характеристика поліплоїдного ряду, в основі якого лежить одне базове число.

Наприклад, у всіх видів пшениці (їх 27) базове число $n = 7$; у роду *Ribes* L. (смородина, агрус та ін.) всі 93 види мають одне базове число $n = 8$; у хризантем $n = 9$, а їх поліплоїдний ряд включає $2n, 3n, 4n, 6n, 8n, 10n, 14n$.

Разом з тим є роди з поліплоїдним рядом, в якому різні види мають різні базові числа. Зокрема, види люпину (*Lupinus* L.) із східної півкулі мають, в основному, числа хромосом, які кратні 10 ($n = 10$), а в люпинів із західної півкулі – числа хромосом кратні 6 ($n = 12$).

У генетиці існує поняття *геном* – не вихідне гаплоїдне число хромосом,

асоціація яких відображує і якісну і кількісну характеристику їх складу.

У генетиці рослин під геномом розуміють гаплоїдний набір хромосом з повним складом генів. Геном – це число хромосом, яке якісно специфічне для даного виду; тобто це всі гени, які характерні для даного виду (видовий потенціал генів).

Кожен поліплоїдний ряд включає види одногеномні (диплоїдні) і види полігеномні, які вміщують декілька різних або однакових геномів. Наприклад, поліплоїдней рад роду *Triticum* L. має три різних геноми — А, В, D. Кожен геном володіє одним базовим числом хромосом – $n = 7$.

При збільшенні числа хромосом, як правило, відбувається збільшення розмірів ядер, а внаслідок цього збільшується і розмір клітин, що, у свою чергу, призводить до збільшення як окремих органів, так і в цілому рослин. Однак розміри рослин збільшуються до певної межі, після якої збільшення числа хромосом призводить вже не до збільшення, а до зменшення розмірів як всієї рослини, так і її органів.

У редуційному діленні ядра автополіплоїдів поведінка хромосом не однозначна. Гомологічні хромосоми усіх їх типів можуть бути представлені в подвійній (*диплоїди*), потрійній (*триплоїди*), четвертинній (*тетраплоїди*) кількості наборів тощо. Через це часто замість *бівалентів* (дві гомологічні хромосоми кон'югують між собою) у мейозі утворюються *поліваленти* (групи більше ніж з двох хромосом). Але для утворення полівалента необхідно, щоб у хромосомах було не менше двох хіазм, які частіше утворюються у довших хромосомах.

В аллоплоїдів гомологічні хромосоми завжди бувають у подвійному наборі, тому в мейозі у них завжди утворюються тільки біваленти. За зовнішнім видом і фізіологічними властивостями аллополіплоїди займають проміжне становище між батьківськими видами.

В обох групах *автополіплоїдів* та *аллополіплоїдів* часто зустрічається так звана *анеуплоїдія* — це зменшення або збільшення числа хромосом до

основного числа хромосом виду. Такі організми дістали назву *анеуплоїди*. Організми, в яких диплоїдний набір доповнюється ще однією хромосоною ($2n+1$), називають *трисоміками*; в яких не вистачає хромосоми ($2n-1$) – отримали назву *мюносоміки* і двох хромосом ($2n-2$) – *нулісоміки*.

2. АВТОПОЛІПЛОЇДИ

Після того, як було встановлено поліплоїдну природу низки культурних рослин, виявилось, що ці рослини крупніші і потужніші, ніж природні диплоїди цих же груп. У зв'язку з цим селекціонери зацікавилися питанням отримання поліплоїдів як методом селекції.

Одним із самих перших методів отримання поліплоїдів був метод близнюків. У невеликої кількості проростків інколи виявляються подвійні зародки, які розвиваються в гетероплоїдні рослини.

Багатьма дослідниками застосовувалася також теплова обробка зародкової тканини досить високими температурами протягом невеликого періоду часу. Цим методом вдалося отримати подвійні числа хромосом у кукурудзи.

Шляхом регенерації нових калюсних тканин можна отримати деяку (але невелику) кількість секторів з подвоєним числом хромосом у природних видів і гібридів, наприклад, у тютюну. Для стимуляції створення калюсу апікальну меристему рослин зрізали і на місце зрізу наносили індолілоцтову кислоту. Така методика з успіхом застосовується у томатів.

Але ні один із названих способів не був достатньо ефективний в експериментальному відношенні, поки не став застосовуватися хімічний метод з використанням колхіцину. Це дало можливість отримувати

поліплоїди у практично необмежених кількостях.

Для отримання автополіплоїдів широко використовується алкалоїд *колхіцин*, який зв'язується з мономерами білка тубуліна і перешкоджає утворенню в клітині ахроматинових волокон веретена, що складаються із полімерного (фібрилярного) тубуліна. Цим самим колхіцин, вінбластин та інші мітозні отрути блокують розходження хромосом і спричиняють поліплоїдизацію.

Інший шлях штучного отримання автополіплоїдів у рослин – це злиття нередукованих мікро- і макроспор. Останні можуть утворюватися за дії на рослини тепла або холоду, наркотичних речовин тощо.

Інколи в результаті обробки колхіцином виникають анеуплоїди – як наслідок порушень у поділі і розходженні хромосом. Це означає, що вихідне диплоїдне число їх збільшується чи зменшується на одну чи більше хромосом.

Селекціонери широко використовують метод колхіцинування. За його допомогою можна отримати нові поліплоїдні форми, з подвоєним числом хромосом. Але для кращої дії колхіцину рослини повинні мати максимальну кількість клітин, які діляться, тобто клітини мають бути мітотично активні. Це клітини меристем і калюсів.

За обробки насіння, рослин, точок росту поряд з диплоїдними тканинами створюються тетраплоїдні, часто химерні матеріали. Проте, основною задачею залишається отримання насіння у створених поліплоїдів.

Колхіцин частіше застосовують у 0,1–0,2 % концентрації водного розчину. Насіння можна поміщати і пророщувати у розчині колхіцину, наносити його на точку росту, занурювати у розчин паростки або кільчене насіння, робити ін'єкції, додавати до штучного живильного середовища тощо.

У зв'язку з тим, що у конусі наростання верхівкових бруньок є три чи більше чітко виділених шарів клітин, дослідники вказують на те, що можливі три основні типи поліплоїдії, а саме:

- 1) епідермальна поліплоїдія, за якої подвоєння числа хромосом

відбувається тільки у самому зовнішньому шарі клітин. Хоч продохи стають крупнішими у результаті подвоєння числа хромосом у клітинах підермісу, це не обов'язково свідчить про подвоєння їх у внутрішніх шарах тканин;

2) внутрішня поліплоїдія, за якої поліплоїдизуються клітини епідермісу подвоєння числа хромосом відбувається в одному або обох шарах клітин під ним;

3) загальна поліплоїдія, за якої подвоєння числа хромосом відбувається у всіх шарах клітин.

Для визначення рівня плоїдності при аналізах обробленого колхцином матеріалу можна застосовувати низку методів (морфологічний, цитологічний, анатомічний тощо).

Візуально пилокві зерна у квіток з поліплоїдним числом хромосом, як правило, крупніші, а листки рослин можуть бути більшими, ширшими і довшими. Але кращим способом визначення поліплоїдності є цитологічне визначення поперечних зрізів конусу наростання потужно розвинутих пагонів.

Морфологічні особливості автополіплоїдів.

1. Поліплоїдія, як правило, призводить до збільшення розмірів клітин, але це збільшення не завжди поширюється на всі органи і тканини.
2. Швидкість росту в автотетраплоїдів уповільнена у порівнянні з їх диплоїдними вихідними формами.
3. У більшості випадків автотетраплоїди мають потовщені листки та більші плоди, крупніші, але менш чисельні квітки. Для них характерне пізніше цвітіння, ніж у вихідних диплоїдів.
4. Плодючість автотетраплоїдів низька. Основні причини стерильності не до кінця встановлено. Це явище часто пов'язують з порушенням поведінки хромосом. Очевидно, найбільше значення має незбалансованість плазматично-ядерної структури клітини і

порушення фізіології відтворення.

Для різних видів рослин характерний якийсь один оптимальний рівень плоідності, після досягнення якого за збільшення кількості хромосом інтенсивність росту падає. Очевидно, труднощі, пов'язані з дією ядерних структур, а також інших незбалансованих процесів, які спостерігаються у випадках кратного збільшення рівня плоідності, слугує серйозним бар'єром для успішного становлення таких форм у природі.

3. РЕАКЦІЯ РОСЛИН НА ІНДУКУВАННЯ ПОЛІПЛОЇДІЇ

Різні культурні рослини по-різному реагують на індукування у них поліплоїдії. Неідентична реакція виявляється також у генотипів у середині видів. За достатньо широкого застосування доборів рослин з метою отримання поліплоїдів можна дотримуватися таких правил:

1. Рослини з незначною кількістю хромосом у клітині краще реагують на їх подвоєння, ніж рослини з високим числом хромосом.
2. Перехреснозапильні рослини дають кращі результати при подвоєні числа хромосом, ніж самозапильні.
3. Рослини, які вирощуються вегетативно краще реагують на автополіплоїдію, ніж рослини, які розмножуються насінням.

У результаті досліджень група дослідників Свальофської селекційної станції (Швеція) дійшла висновку, що за подвоєння числа хромосом у льону, ріпаку, картоплі і сої отримують поліплоїди, які не мають практичної цінності. Натомість досить цінні автополіплоїди було отримано за подвоєння числа хромосом у жита, гірчиці, буряка цукрового, турнепсу, буряка кормового, конюшини.

В експериментальних роботах з автополіплоїдії перед селекціонерами

виникає низка проблем.

По-перше, автополіплоїди мають меншу насінневу продуктивність, ніж їх диплоїдні попередники. Зниження загальної кількості насіння у рослин не завжди компенсується збільшеною масою окремих поліплоїдних насінин. Селекція на збільшення коефіцієнту розмноження у поколіннях розщеплення автополіплоїдів може займати значний проміжок часу, але її необхідно виконувати. Адже відомо, що селекція на підвищення урожайності насіння у тетраплоїдного жита була успішною. Створений сорт жита Петкуське формує урожайність на 60–75 % вищу, ніж вихідна диплоїдна форма.

В результаті тривалої селекції порушення мейозу почали зустрічатися рідше, знизилася також частота формування анеуплоїдних форм.

По-друге, не завжди можна безпосередньо порівнювати урожайність перехреснозапильних диплоїдних форм та індукованих автополіплоїдів, отриманих від них. Взаємне запилення може призвести до створення триплоїдних зародків, які гинуть на різних етапах розвитку. Це спостерігалось і у жита.

Диплоїдні рослини та індуковані із них автополіплоїди (тетраплоїди жита) висіваються на окремих ізольованих ділянках разом зі стандартними сортами пшениці, які є самозапильними. Порівняння диплоїдів та індукованих поліплоїдів проводиться непрямим способом через сорти пшениці, які беруть участь у випробуваннях.

У деяких, садових культур і квіткових рослин, де насіння не є самоціллю у порівнянні з красивими великими квітками або цінними ознаками інших частин рослин, знижена продуктивність не є вирішальним фактором. Різні види квіткових рослин з подвоєним числом хромосом слугують предметом бізнесу і використовуються у багатьох країнах світу.

В Японії, Англії, США та інших країнах широко культивується тетраплоїдний виноград. Індуковані тетраплоїди винограду формують меншу кількість ягід, але ягоди крупніші і важчі, інколи більше ніж у два рази у

порівнянні з диплоїдними сортами. Тетраплоїдний виноград можна покращити селекцією, при цьому бажана ознака — крупний розмір плодів — зберігається. Схрещування тетраплоїдів призводило до формування потужних плодовитих нащадків у тих випадках, коли збільшувалася генна гетерозиготність.

Новостворені поліплоїди рідко бувають цінними без подальшого добору і покращення їх за низкою ознак. Перехресне запилення забезпечує можливість перекомбінації генів, зумовлюючих плодючість, збалансованість генотипів та інші властивості, якими мають володіти нові життєздатні поліплоїди. Більшість цих ознак може бути зумовлена взаємодією багатьох генів. Для цього необхідно мати великі популяції та проводити інтенсивний добір.

4. АЛЛОПОЛІПЛОЇДИ

Аллоплоїди – це організми, які виникають внаслідок схрещувань різних видів, коли об'єднуються різні геноми. Якщо міжвидовий гібрид поєднує геноми А і В в одиничних копіях (АВ), то це аллодиплоїд (амфігаплоїд), а гібрид з подвоєними геномами (ААВВ) – аллотетраплоїд (амфідиплоїд). Незбалансований набір геномів різних видів типу АВВ або ААВ називають *сесквіполіплоїдом*.

Хромосомні набори аллополіплоїда різняться не тільки числом хромосом, але й їх генетичним складом. Але деякі хромосоми із різних геномів можуть мати часткову (локальну) гомологію і вступати в неповну кон'югацію під час мейозу, що може порушити його нормальний хід. Такі хромосоми, на відміну від гомологічних хромосом, як уже було зазначено, називають *гомеологічними*.

Кон'югація в мейозі гомологічних хромосом (алосинdez) свідчить

про те, що геноми, поєднанні у складі аллополіплоїда, у далекому минулому могли мати спільного предка. Іноді кон'югація хромосом і утворення бівалентів трапляється навіть у межах гаплоїдного набору хромосом. Алосиндез може істотно впливати на хід мейозу, порушуючи нормальну кон'югацію гомологічних хромосом, тобто *автосиндез*. Це може бути серйозною причиною генетичної нестабільності деяких штучно отриманих аллополіплоїдів.

Гібриди F_1 від схрещування двох різних видів – безплідні (гібриди жита з пшеницею, редьки з капустою). Причиною цього явища є неможливість нормального мейозу через відсутність гомологів у амфігаплоїда. З цього приводу В.М. Тоцький (2002) описує амфігаплоїд редьки і капусти, який містить лише по одному набору хромосом батьків. Але у наборі хромосом капусти немає гомологів для хромосом редьки і навпаки, тому кожна із хромосом поводить себе у мейозі незалежно – як уніваленти. В анафазі редукційного поділу ці уніваленти (їх 18) розходяться до полюсів неупорядковано, випадково. У результаті цього утворюються гамети з різною кількістю хромосом – від 0 до 18. У такого гібриду нормального розвитку гамет не відбувається, він стерильний.

Лише деяка частина гамет випадково отримує всі 18 хромосом гібриду (9 хромосом редьки і 9 хромосом капусти). Злиття таких нередукованих гамет призводить до утворення подвоєних наборів хромосом редьки ($2R$) і капусти ($2B$). Це створює умови для нормального мейозу, бо кожна хромосома може кон'югувати із своїм гомологом, а рівномірне розходження хромосом в анафазі мейозу забезпечує утворення фертильних гамет. Останні містять по одному повноцінному геному редьки і капусти ($R+B$). Ця нова форма рослини було отримано Г.Д. Карпедченком на початку 20-х років минулого століття. Її назвали рафанобрасикою від родинних назв батьківських форм: редьки (*Raphanus*) і капусти (*Brassica*). У цього амфідиплоїда ($2R+2B$) стручок сформувався комбінованим: верхня частина від редьки, а основа – від капусти.

Гичка цієї рослини нагадує редьку, а корені подібні до капустяних, тому практичного застосування цей вперше штучно синтезований плідний амфідиплоїд не знайшов. Але дослідження Г.Д. Карпедченко мають велике наукове значення. Експериментально доведено, що подвоєння хромосомних наборів у міжвидових і міжродових гібридів може призвести до отримання плідних аллоплоїдних форм. У подальших дослідженнях генетиками було отримано амфідиплоїди тютюну, жита, буряка цукрового тощо.

Порівняльне вивчення структури геномів різних видів, включаючи і сучасні молекулярно-генетичні підходи, свідчить про те, що поліплоїдія є важливим джерелом спадкової мінливості, яке збільшує можливості добору і дивергенції видів.

В еволюції самозапильних рослин більше значення має автополіплоїдія, а в перехреснозапильних рослин – аллополіплоїдія.

Значна частина поширених у природі поліплоїдних рослин, що розмножуються за природних умов насінням, є аллополіплоїдами. До них належать більшість видів пшениці, вівса, тетраплоїдної вики, бавовнику, тютюну, бруква, ріпак, суниця звичайна, слива тощо.

5. ГАПЛОЇДИ

Гаплоїдом або моноплоїдом називають організм, що нараховує у соматичних клітинах гаплоїдний набір негомологічних хромосом. Гаплоїдія може бути природною і викликаною штучно.

Природна гаплоїдія зустрічається у життєвому циклі більшості еукаріот, тому її, як й інші зміни плоїдності, не завжди слід вважати мутантним станом організму. Проте, якщо гаплоїди формують форми, які в

нормі мають хромосомні набори високої плоідності, то гаплоїдність слід розглядати як мутацію.

Фенотип гаплоїдів має низку особливостей, які відрізняють його від диплоїдної форми:

1. Гаплоїд, як правило, фенотипово подібний до відповідного диплоїда, але має менші розміри.

2. У гаплоїдів виявляються як домінантні, так і рецесивні гени через відсутність альтернативних алелів.

3. Клітини гаплоїдів дрібніші, ніж клітини відповідних диплоїдів, що пояснюється меншою дозою гена.

4. Гаплоїди майже завжди безплідні, бо через відсутність пари гомологічних хромосом мейоз у них проходить аномально.

5. У деяких випадках у гаплоїдів утворюються нередуковані гамети, здатні до запліднення. Злиття таких гамет за самозапилення призводить до утворення гомозиготного за всіма генами диплоїда.

Окрім гаплоїдів, які виникають у диплоїдних видів, існують так звані полігаплоїди, яких можна отримати від збалансованих аллополіплоїдів. Поліплоїдні клітини утримують два або більшу кількість різних геномів, серед яких можуть бути еволюційно споріднені. У цьому випадку мейоз у полігаплоїдів може проходити з утворенням бівалентів і фертильних гамет. Прикладом слугує мейоз у полігаплоїдів тимофіївки ($2n = 42$), яка є аллогексаплоїдом.

Гаплоїдія широко використовується у селекційно-генетичних дослідженнях вищих рослин. Це пояснюється тим, що у гаплоїдів легко виявити шкідливі і корисні рецесивні гени, а гаплоїдну форму рослини, позбавлену шкідливих мутацій, можна перевести у диплоїдну. Тим самим скорочується час генетичного аналізу і створюються умови для досить точного визначення селекційної цінності батьківських форм і гібридів. Саме таким шляхом, тобто переведенням перспективних гаплоїдів у диплоїди, отримано нові форми ячменю, томату, тютюну, бавовнику, рису тощо.

Спонтанно гаплоїди у рослин виникають рідко і є, як правило, результатом апоміктичного розвитку зародка. У пшениці це явище зустрічається з частотою 4 на 1000 рослин, у кукурудзи – 1 на 2000 рослин. Вважається, що існують лінії, які дають значно вищий відсоток гаплоїдизації.

1. Гаплоїдні форми можна отримати декількома штучними способами:
2. Запиленням пилюкою іншого виду.
3. Запиленням пилюкою, що має зруйновані ядра внаслідок дії опромінення або інших чинників.
4. Затримкою запилення, внаслідок чого яйцеклітина може індукувати поділ без запліднення.
5. Близнюковим методом (у деяких рослин із одного насіння розвивається два або більше зародків, один із яких може бути гаплоїдним).
6. Методом культури пильників та незапліднених насінневих зачатків в ізолюваній культурі на штучному середовищі (саме так для багатьох видів рослин можна отримати гаплоїдні форми-регенеранти).

Перетворення гаплоїдів у диплоїди можна досягти самозапиленням рослин, враховуючи можливу наявність у них передуючих спор, а також диплоїдизацією за допомогою колхіцину та інших мітотичних речовин.

Гаплоїди найчастіше формуються із незаплідненої яйцеклітини (партеногенез, гіногенез), з інших; клітин гаметофіта (апогамія) або із чоловічих гамет (андрогенез) і досить часто із поліембріонів. Частота виникнення гаплоїдів у природі низька – один на 1000 при партеногенезі і 0,1 на 1000 при андрогенезі.

У більшості випадків гаплоїдні рослини характеризуються слабким розвитком, пізньостиглістю, мають низьке стебло. Через це гаплоїди зберігаються тільки у видів, які розмножуються вегетативно, у решти видів – не виживають.

Якщо у гаплоїдних рослин не настає редукційного поділу в макро- і мікроспорогенезі, або число їх хромосом подвоюється під впливом обробки колхіцином, то рослини стають фертильними і повністю гомозиготними за всіма алельними генами. І тому, гаплоїдні рослини широко використовують у селекційно-генетичних дослідженнях. У зв'язку з цим було розроблено методи індукування гаплоїдії *in vitro* та *in vivo*, щоб підвищити частоту їх індукції у різних видів рослин. Поступово культура пилоквих зерен стала найуспішнішим методом *in vitro* для індукування гаплоїдів із пилку. Наразі їх отримано у цілої низки рослин різних видів – люцерни, конюшини, редьки, капусти, буряка, томатів, рису, ячменю тощо.

Після схрещувань диплоїда з диплоїдом у перерахованих видів рослин разом із формуванням нормальних рослин ($2n$ – зародок і $3n$ – ендосперм) у деяких випадках запліднення яйцеклітини одним чужерідним генеративним ядром спермія не відбувається, і замість нього спостерігається запліднення вторинного зародкового мішка ($2n$) і вторинного генеративного ядра спермія (n). У результаті розвивається мопогаплоїдний організм, який має у зародку гаплоїдне число хромосом (n) і триплоїдний ендосперм ($3n$).

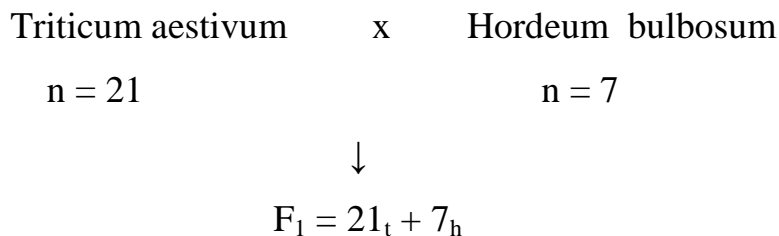
Таким же чином за схрещування тетраплоїда з диплоїдом у результаті партенокарпії розвиваються дигаплоїди із зародків $2n$ та ендоспермом $6n$ замість $4n+6n$. Наприклад, у люцерни, яка є автотетраплоїдом, як запилювач для індукування дигаплоїдів використовують диплоїдний вид *Medicago falcate*, у полуниці-октоплоїда запилювачем слугує тетраплоїд *Potentilla anserine*, у *Solanum tuberosum* запилювачем може слугувати диплоїдний вид *S.phureia*.

Для ідентифікації гаплоїдів серед насінин доцільно використовувати маркер, який візуально виділяє за забарвленням об'єкт. Їх знайдено. Так, у кукурудзи використовують доміантний ген антоціанового забарвлення зародка, у томатів – ген забарвлення пелюсток квітки. Необхідно лише, щоб носієм цього доміантного гена була батьківська рослина. У гібридної рослини F_1 всі насінини будуть виділятися за забарвленням зародка, а

гаплоїди матимуть колір материнської рослини.

До специфічних методів отримання гаплоїдів *in vivo* відноситься метод селективної елімінації хромосом. Встановлено, що між деякими видами може відбутися схрещування, в результаті якого елімінують хромосоми одного виду і залишається тільки гаплоїдне число хромосом другого виду. Так, за схрещування *Hordeum vulgare* з дикою формою *H. bulbosum* отримують насіння з недорозвинутим ендоспермом. Якщо таке насіння використовувати для культури зародка, то можна виростити рослини, в яких на ранніх фазах ембріогенезу відбувається поступова елімінація хромосом виду *H. bulbosum* і виживають рослини, які в дійсності є гаплоїдами *H. vulgare*. Елімінація хромосом відбувається незалежно від того, який із видів використаний батьківською чи материнською формою. Натомість елімінація не відбувається при схрещуванні *H. vulgare* з $2n$ і *H. bulbosum* з $4n$.

Гаплоїди пшениці можна отримати наступним чином:



Насіння вирощують на основі використання культури зародків. Через 10–14 днів спостерігається елімінація хромосом *H. bulbosum* і формуються рослини гаплоїдної пшениці.

Використання гаплоїдів. Гаплоїдні організми мають велике значення для генетичних досліджень. Вони зручні для ідентифікації мутацій, досліджень ефектів генів, придатні для вивчення філогенезу видів. Разом з тим гаплоїди ефективно використовувати в селекції рослин. У видів, гаплоїди яких, можна отримати серійними методами, відкривається надійний шлях створення гомозиготних диплоїдних ліній (подвоєння

хромосом з використанням колхіцину), які використовуються для створення гетерозисних гібридів.

При роботі з перехреснозапильними рослинами, не схильними до самозапилення через механізми самонесумісності та інших бар'єрів, інбридні лінії яких створювати важко, виробництво гаплоїдів надає єдину можливість отримання гомозиготних диплоїдних матеріалів. Гаплоїдія багаторічних рослин, де процес створення інбридних форм триває довго, дозволяє прискорити формування гомозиготних ліній, які використовуються для створення гібридів.

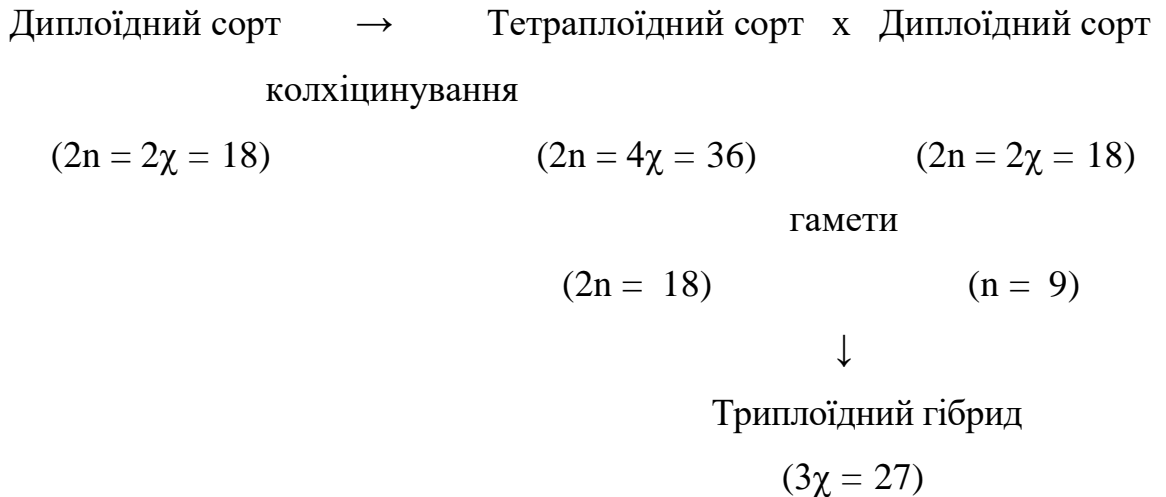
У майбутньому гаплоїди можуть знайти застосування при створенні ліній з цитоплазматичною чоловічою стерильністю, які використовуються в гетерозисній селекції багатьох видів (кукурудза, соняшник, рис тощо). Наприклад, схрещуванням однієї ЦЧС-лінії з гомозиготною диплоїдною лінією, отриманою андрогенетичним шляхом (із пилку) від ЦЧС-мопогаплоїда, в якого колхіцином подвоїли число хромосом, отримують гомозиготну диплоїдну ЦЧС-лінію.

6. ТРИПЛОЇДИ

Теоретично триплоїди можуть виникати двома основними шляхами – у результаті об'єднання нередукованих ($2n$) гамет з n -гаметами у диплоїдів і шляхом схрещування диплоїдів з тетраплоїдами, коли n - і $2n$ -гамети об'єднуються і створюють триплоїдну зиготу. У мейозі хромосоми триплоїдів можуть створювати частково біваленти, триваленти або навіть мультивалентні асоціації. Деякі хромосоми не кон'югують і залишаються у вигляді унівалентів. В усякому разі, мейоз за триплоїдного набору хромосом призводить до створення гамет з незбалансованим їх

числом, а це зумовлює у більшості випадків стерильність. Але бувають і винятки, наприклад гібриди гладіолусів, айстр, гречки, цибулі, томатів, картоплі тощо.

У триплоїдних гібридів поєднуються ефекти поліплоїдії та гетерозису. Метод створення триплоїдів буряка цукрового ґрунтується на отриманні тетраплоїдних форм і схрещуванні їх з диплоїдними сортами за схемою:



Районовані поліплоїдні гібриди вирощують при співвідношенні в насінниках компонентів 3:1 або 4:1. Тетраплоїдні насінники дозрівають на 3–8 діб пізніше від диплоїдних, оскільки пилкові трубки диплоїдних форм ростуть швидше, ніж тетраплоїдних. Спостерігається тенденція до запилення пилком диплоїдних рослин. Вирощенні за такою схемою рослини формують до 80 % триплоїдних гібридів. Домішка (20 %) знижує ефект гетерозису, тому за материнську форму використовують рослини з цитоплазматичною чоловічою стерильністю, що дозволяє довести вихід триплоїдного насіння до 100 %.

Ще одним прикладом використання триплоїдів у виробництві – є триплоїдні кавуни. У даному випадку диплоїд використовується як запилювач, а створені на тетраплоїдних жіночих рослинах «насінини» – триплоїдні. За реципрокного схрещування формуються порожні насінини. Триплоїдні плоди можна відрізнити від тетраплоїдних і диплоїдних за допомогою генів маркерів. Найефективнішим є ген, контролюючий темні

паралельні смуги. Маркуванням диплоїдних плодів генами, які дозволяють відрізнити їх при збиранні урожаю від триплоїдних плодів, можна усунути похибки. Домінантний ген-маркер вводиться у диплоїдний запилювач і триплоїди, таким чином, будуть смугасті, а тетраплоїди – ні.

7. ОСОБЛИВОСТІ РОЗЩЕПЛЕННЯ У ПОЛІПЛОЇДІВ

При класифікації різних типів поліплоїдів можуть бути певні труднощі, головним чином внаслідок поєднання авто- і аллополіплоїдії у сегментних аллополіплоїдах. Через низку причин ускладнюється проблема розщеплення у поліплоїдів. У так званих чистих аллополіплоїдах, навіть якщо хромосоми утворюють біваленти, без сумніву, є багато локусів, які однакові або схожі на батьківські форми. При схрещуванні аллоплоїдів взаємодія подібних генів може призвести до складних розщеплень за окремими ознаками, натомість розщеплення за іншими ознаками може бути подібним на розщеплення у диплоїдів.

В аллополіплоїдів інколи можуть створюватися мультиваленти або інші аномальні поєднання хромосом, які в результаті кросинговера і створення хіазм можуть призвести до подальших аномалій у розщепленні. Часто це може виявлятися у вигляді «реверсій», коли взаємодія генів-супресорів або генів-модифікаторів змінюється у порівнянні з традиційною схемою. Навіть якщо хромосоми у більшості випадків створюють біваленти, це ще не означає, що вони складені тільки із хромосом генома одного і того ж філогенетичного походження.

При розщепленні тетраплоїдів за одної пари ознак виявляються специфічні співвідношення між домінантними і рецесивними особинами порівняно з диплоїдами. Якщо розходження хромосом до полюсів нормальне ($2 : 2$), тоді гетерозиготний за алелями тетраплоїд $AAaa$ створює типи гамет у

співвідношенні 1Aa : 4Aa : 1aa. У тетраплоїдного гібрида F₂ (AAaa / AAaa) співвідношення домінантних фенотипів до рецесивних складає 35 : 1, про що свідчить розщеплення за решіткою Пеннета:

♂ \ ♀	1 AA	4 Aa	1 aa
1 AA	1 AAAA	4 AAAa	1 AAaa
4 Aa	4 AAAa	16 AAaa	4 Aaaa
1 aa	1 AAaa	4 Aaaa	1 aaaa

У бекросі розщеплення фенотипів складає 5 домінантних : 1 рецесивний. Такий тип розщеплення істотно ускладнює генетичне вивчення ознак і селекцію, оскільки гомозиготність тільки за одним геном від самозапилення в F₁ з'являється в F₂ з частотою менше 3 %. Окрім того, у тетраплоїдів у мейозі нерідко спостерігається порушення у розходженні хромосом, у результаті чого виникає частина нежиттєздатних гамет і розщеплення за однією парою генів може відрізнитися від теоретично очікуваного.

Мультивалентні асоціації хромосом у мейозі можуть слугувати показником різних типів поліплоїдії або рівнів плоїдності. Дослідженнями встановлено, що генетика тетраплоїдів ускладнюється перш за все тим, що у кожній гаметі є два типи хромосом. Гамети можуть бути фактично гібридними. Така ситуація не зустрічається у диплоїдів. Це означає, що є три можливих типи гетерозигот по кожному локусу, у той час як у диплоїдів – лише один (A/a).

П'ять можливих генотипів являють собою *квадриплекс*, *триплекс*, *дуплекс*, *симплекс* і *куліплекс* у відповідності з наявністю різної кількості домінантних генів для окремого локусу (чотирьох, трьох, двох, одного) або відсутності їх. Поопарне поєднання хромосом, створення мультивалентів, нерозходження, хіазми і місцезоташування певного локусу відносно центромери варіюють і це впливає на співвідношення у поколіннях

розщеплень тетраплоїдів.

Отже, відносно розподілу генів у поліплоїдів більше проблем, ніж рішень. Але це не означає, що внаслідок складності розщеплення у поліплоїдів селекціонеру не потрібно займатися вивченням цього процесу або стверджувати, що поліплоїди самі по собі не мають цінності для селекціонера. Навпаки, метод поліплоїдії є потужним фактором у руках селекціонерів, і вивчення генетичних закономірностей, як правило, приносить користь. Натомість генетичне вивчення поліплоїдів буде ефективним у тому випадку, якщо паралельно будуть вивчатися родинні їм диплоїди. Генетичні ефекти і результати взаємодії хромосом у поліплоїдів можуть бути вивченими шляхом аналізу анеуплоїдів.

8. ТЕМАТИЧНІ ЗАДАЧІ

1. У пшениці основне число хромосом $\chi = 7$. а гаплоїдне число n в 2 рази менше диплоїдного. Позначити, використовуючи знаки χ і n , диплоїдне число хромосом пшениці: а) м'якої (*Triticum aestivum* L.) – $n = 21$; б) твердої (*Triticum durum* L.) – $n = 14$; в) однозернянки (*Triticum monococcum*) – $n = 7$.

Відповідь. а) $2n = 6\chi = 42$; б) $2n = 4\chi = 28$; в) $2n = 2\chi = 14$.

2. Види щавлю (*Rumex*) мають поліплоїдний ряд з основним числом $\chi = 10$. Використовуючи знаки χ і n , позначити диплоїдне число: а) диплоїдного; б) тетраплоїдного; в) гексаплоїдного; г) октоплоїдного видів.

Відповідь. а) $2n = 2\chi = 20$; б) $2n = 4\chi = 40$; в) $2n = 6\chi = 60$; г) $2n = 8\chi = 80$.

3. Визначити, які типи гамет створюють тетраплоїди: а) АААа; б) Аааа; в) ААаа.

Відповідь. Можуть створити наступні типи гамет:

а) AA, Aa, AAA, a, A, AAa, AAAa, 0;

б) Aa, aa, Aaa, a, A, aaa, Aaaa, 0;

в) AA, aa, A, Aaa, AAaa, 0.

4. Топінамбур (*Helianthus tuberosus* L.) – гексаплоїдний вид ($2n = 102$). Визначити гаплоїдне (n) і основне (χ) число хромосом.

Відповідь. $n = 51$; $\chi = 17$; $6\chi = 2n = 102$.

5. У буряка диплоїдне число хромосом $2n = 18$. Позначити, використовуючи основне число χ : а) триплоїдні, б) тетраплоїдні, в) пентаплоїдні, г) гексаплоїдні форми.

Відповідь. а) $3\chi = 27$; б) $4\chi = 36$; в) $5\chi = 45$; г) $6\chi = 54$.

6. У культурної сливи (*Prunus domestica* L.), яка є гексаплоїдним видом, основне число хромосом $\chi = 8$. Визначити гаплоїдне і диплоїдне число цього виду.

Відповідь. $6\chi = 2n = 48$; $n = 24$.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Абрамова З.В. Практикум по генетике. – М.: Агропромиздат, 1992. – 224 с.
2. Авдеев Ю.И. Генетический анализ растений. – Издательский дом «Астраханский университет», 2004. – 278 с.
3. Гершензон С.М. Основы современной генетики. – К.: Наук. думка, 1983. – 563 с.
4. Гуляев Г.В. Генетика. – М.: Колос, 1984. – 351 с.
5. Гуляев Г.В. Задачник по генетике. – М.: Колос, 1980. – 78 с.
6. Макрушин М.М., Созінов О.О., Макрушин С. М., Созінов І.О. Генетика сільськогосподарських рослин. – К.: Урожай, 1996. – 319 с.
7. Орлюк А.П. Теоретичні основи селекції рослин. – Херсон: Айлант, 2008. – 571 с.
8. Орлюк А.П., Базалій В.В. Генетичний аналіз. Навчальний посібник. – Херсон: Олді-плюс, 2013. – 218 с.
9. Паущева З.П. Практикум по цитологии растений. – М.: Агропромиздат, 1988, – 271 с.
10. Рокицкий П.Ф. Введение в статистическую генетику. – Минск: Вышэйшая школа, 1978. – 448 с.
11. Тоцький В.М. Генетика. – Одесса: Астропринт, 2002. – 710 с.

Навчальне видання

Рябовол Людмила Олегівна
Рябовол Ярослав Сергійович
Любченко Андрій Іванович

ПОЛІПЛОЇДІЯ В СЕЛЕКЦІЇ РОСЛИН

Методичні вказівки до вивчення дисциплін «Генетика систем розмноження рослин», «Культура дигаплоїдів *in vitro*», «Генетика кількісних ознак», «Генетика» для лабораторно-практичних занять студентів зі спеціальностей 8.09010108 «Насінництво та насіннезнавство», 8.09010105 «Селекція і генетика сільськогосподарських культур», 6.090101 «Агрономія», 6.090103 «Лісове і садово-паркове господарство», 6.090105 «Захист рослин», 6.040106 «Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування» вищих аграрних закладів освіти III–IV рівнів акредитації. – Умань: УНУС, 2015. – 28 с.

Відповідальна за випуск Л.О. Рябовол

Підписано до друку 24.02.2015р. формат 60x90/20
Обсяг 1,4 умов. друк. арк. Наклад 100 прим.
Замовлення № 174.

Редакційно-видавничий центр Уманський НУС.
Свідоцтво КВ № 17791-6641 ПР від 17.03.2011р.
20305, м. Умань, вул. Інституцька ,1
тел. 8(04744) 4-69-77

