

УДК 634.739.3:631.528.2

ФЕРТИЛЬНОСТЬ ЖЕНСКОГО ГАМЕТОФИТА ТЕТРАПЛОИДНОЙ КЛЮКВЫ КРУПНОПЛОДНОЙ (*OXYCOCCUS MACROCARPUS PURSH*)

Морозов О.В., Морозова Т.А.
Центральный ботанический сад НАН Беларуси,
Республика Беларусь, г. Минск, ул. Сурганова 2в, hbc@bas-net.by

Fertility of the tetraploid marsh cranberry (*Oxycoccus macrocarpus Pursh*) female gametophyte

Morozov O.V., Morozova T.A.
Central Botanical Garden of NAS of Belarus, Minsk, Republic of Belarus, 2v Surganov Str,
hbc@bas-net.by

The fertility of the *O. macrocarpus* (variety Searles) female gametophyte with a diploid chromosome set is considerably reduced. This fact is indirectly reflected by a decrease in seed production and germinability by 2 and 11 times. At the same time, seed weight and morphometric parameters tend to increase by 1.6 and 1.4 times.

[Ericaceae *Oxycoccus macrocarpus* Pers.]

Введение. Клюква крупноплодная является наиболее распространенным культивируемым видом семейства Брусничные.

Как известно, одним из проявлений генетических нарушений функционирования репродуктивной системы ягодных растений с искусственно удвоенным набором хромосом, в том числе и Брусничных [1], является снижение фертильности, в частности, женского гаметофита. Следствием этого может быть малопригодность либо вообще невозможность использования индуцированных тетраплоидов в межвидовых скрещиваниях в качестве материнского растения.

Цель исследования. Цель исследования – на основании изучения косвенных признаков получить представление о фертильности женского гаметофита *O. macrocarpus* с искусственно удвоенным набором хромосом.

Объект и методы. Объект исследования – клюква крупноплодная (сорт «Searles»), трансформированная учеными из Финляндии А. Lehmushovi, Н. Hokkanen, Н. Hiirsalmi в тетраплоид ($2n=48$) путем колхиплоидизации прорастающих семян [2].

Черенки, полученные в середине 90-х годов от авторов вышеупомянутого эксперимента, были укоренены. Растения очень хорошо развивались в открытом грунте - верховом, слабо разложившемся пушицево-сфагновом торфе. К настоящему времени они образовали сплошной «ковер» и достигли генеративной стадии развития. Диплоидный сортовой аналог ($2n=24$), использовавшийся в качестве контроля, уже более 20 лет возделывается на Ганцевичской НЭБ ЦБС НАН Беларуси на площади 1 га.

Исследование проведено по общепринятой методике семенного дела с использованием семян, сформировавшихся в результате свободного опыления. Анализировали следующие показатели: число нормально развитых и недоразвитых семян (неразвившихся семяпочек),

общее число семяпочек в одной ягоде, их эмбриолетальность, весовые, морфометрические параметры и всхожесть семян.

Необходимо подчеркнуть, что все вышеназванные показатели отражают качество женского гаметофита лишь опосредованно. Как известно, формирование, всхожесть семян, жизнеспособность сеянцев определяются не только особенностями процессов мегаспорогенеза и непосредственно мегагаметогенеза (в результате последнего в центральной части семяпочки формируется женский гаметофит - зародышевый мешок с яйцеклеткой и яйцевым аппаратом, где и происходит двойное оплодотворение), но также микроспорогенеза, микрогаметогенеза и, кроме того, опыления, оплодотворения, эмбриогенеза.

Результаты и их обсуждение. Факты уменьшенной семенной плодовитости, вплоть до полного бесплодия, «. . . приводятся, за редким исключением, во всех работах об автополиплоидах» [3, с. 43]. Как показали результаты нашего исследования, не является исключением клюква крупноплодная. Установлено статистически достоверное уменьшение числа нормально развитых семян с $11,3 \pm 1,0$ до $5,7 \pm 0,5$ в одной ягоде у тетраплоидной формы по сравнению с диплоидной.

Из вышесказанного следует, что показатель числа нормально развитых семян в одной ягоде, даже и несмотря на высокий коэффициент варьирования (45,4 %), можно использовать в качестве одного из предварительных косвенных диагностических тестов в эксперименте по индуцированию полиплоидов клюквы крупноплодной.

Под влиянием полиплоидизации уменьшилось не только число морфологически хорошо выполненных семян в одной ягоде, но и недоразвитых - с $6,2 \pm 1,0$ до $4,0 \pm 0,5$, а также общее число семяпочек - с $17,5 \pm 1,1$ до $9,8 \pm 0,7$.

В связи с практически тождественным изменением всех вышеназванных показателей у тетраплоидной клюквы крупноплодной не произошло статистически достоверного изменения показателя эмбриолетальности семяпочек. Как и у диплоидной формы, он имеет довольно низкую величину, не превышающую 40 %. Напомним, что у тетраплоида это наблюдается на фоне значительного (в 2,0 раза) снижения числа нормально развитых семян в одной ягоде.

Таким образом, для селекции методом отдаленной гибридизации наиболее важный результат данной части исследования состоит в том, что фертильность женского гаметофита тетраплоидной клюквы крупноплодной, рассматриваемая в аспекте семенной плодовитости, существенно снижена по сравнению с диплоидом. Это проявляется в явно ослабленной способности к формированию как нормально развитых семян, так и в целом семяпочек. Следует, однако, отметить, что для экспериментального полиплоида свойственна малосемянность, но не полное семенное бесплодие. Абсолютно во всех препарированных ягодах установлено наличие от 3 до 13 шт. хорошо выполненных семян.

Средняя масса одного семени тетраплоидной клюквы крупноплодной составляет $1,31 \pm 0,03$ г, что в 1,6 раза превышает аналогичный показатель диплоида. Данное различие является статистически достоверным, причем, если сравнивать величину t-критериев теоретического (2,58) и фактического (10,20), с очень большим запасом. Следовательно, показатель массы одного семени можно считать еще одним объективным и достаточно легким в определении косвенным диагностическим критерием полиплоидизации клюквы крупноплодной.

Как известно, масса семени является функцией его морфометрических параметров, в частности, длины и ширины. В результате полиплоидизации два этих показателя возрастают у клюквы крупноплодной весьма существенно и в одинаковой пропорции: в 1,4 раза и составляют соответственно $2,9 \pm 0,04$ и $1,5 \pm 0,03$ мм.

Анализ влияния полиплоидизации на семенную плодovitость, весовые и морфометрические параметры семени позволил установить зависимость между этими двумя группами признаков, отражающую важную, на наш взгляд, особенность фертильности женского гаметофита тетраплоидной клюквы крупноплодной, кардинально отличающую ее от диплоидного аналога. Состоит она в следующем. В результате удвоения хромосомного набора существенно снижается семенная плодovitость, но вместе с тем так же значительно возрастают масса и размеры семян. У диплоидной же клюквы крупноплодной семенная плодovitость относительно велика, а весовые и морфометрические показатели семян низки.

Увеличение веса и размера семян с положительной стороны характеризует такой важный показатель их качества, как полнoзернистость. Общеизвестно, что в более тяжелых и крупных семенах содержание запаса питательных веществ возрастает и это, как правило, положительно влияет на посевные свойства. Таким образом, еще один промежуточный вывод состоит в том, что под влиянием полиплоидизации у клюквы крупноплодной улучшается выполненность семян, что следует однозначно трактовать как свидетельство более развитого эндосперма.

Однако хорошее развитие семян еще ни в коей мере нельзя рассматривать как доказательство успеха эксперимента по созданию тетраплоидной клюквы крупноплодной,

пригодной для использования в селекции методом отдаленной гибридизации в качестве материнского растения. Семена индуцированного тетраплоида, несмотря на увеличенные массу и размеры, могут, например, иметь дефектные зародыши, а потому быть мало- или вообще невсхожими. С учетом ослабленной семенной плодovitости, о чем шла речь выше, это свидетельствовало бы о неспособности женского гаметофита тетраплоидной клюквы крупноплодной к нормальному функционированию, а значит, и о бесперспективности использования данной формы в межвидовой гибридизации в качестве опыляемого растения.

Следовательно, лишь при анализе завершающей стадии генеративного процесса, которая заключается в переходе к следующему поколению растений, можно получить окончательное представление о фертильности женского гаметофита тетраплоида клюквы крупноплодной. И только в том случае, если этот переход реально возможен, т.е. если семена от свободного опыления всхожи и из них формируются жизнеспособные особи, имеет смысл использование данного растения, как материнского вида, в межвидовых скрещиваниях.

Его наследственность, заметим, может быть в определенной степени улучшена при размножении семенами и последующем отборе наиболее перспективных форм. Это очень важно для эффективного развития гибридизационного эксперимента, поскольку, в силу обстоятельств, указанных в разделе «Материалы и методы», основывается он на ограниченном генетическом материале.

Все вышесказанное определяет особую значимость выявления параметров всхожести семян тетраплоидной *O. macrocarpus*. При сравнительном анализе исследуемого показателя у форм клюквы крупноплодной разной плоидности не потребовалось применения аппарата статистической достоверности. По величине данного показателя установлено очевидное превосходство диплоида ($34 \pm 5,4$ %) над тетраплоидом ($3 \pm 1,5$ %).

Следует отметить, что несмотря на низкую всхожесть семян клюквы крупноплодной с удвоенным набором хромосом, сформировавшиеся из них растения, возраст которых в настоящее время составляет три года, характеризуются очень хорошими показателями развития надземных вегетативных органов. В последующем из них, возможно, удастся отобрать особи, имеющие более высокие параметры фертильности женского гаметофита, нежели исходный экземпляр.

Выводы. Удвоение хромосомного набора оказывает крайне негативное влияние на фертильность женского гаметофита клюквы крупноплодной. Свидетельством тому является снижение, по сравнению с диплоидным аналогом, семенной плодovitости искусственного тетраплоида в 2 и всхожести семян в 11 раз. Снижение всхожести происходит несмотря на хорошую выполненность семян. Последнее подтверждается значительным увеличением их весовых (в 1,6 раза) и морфометрических (в 1,4 раза) показателей.

Полученный результат позволяет конкретизировать параметры эксперимента по отдаленной гибридизации тетраплоидной *O. macrocarpus*. Низкая величина семенной плодovitости и всхожести семян показывает, что при использовании ее в качестве материнского вида шансы на успех есть, однако они крайне незначительны. Для их реализации требуется многократное (более чем в двадцать раз) увеличение объема скрещивания, нежели это было бы необходимо в аналогичном по подбору генетически совместимых партнеров опыте с диплоидной клюквой крупноплодной.

Авторы благодарны А. Lehmushovi, Н. Hokkanen, Н. Hiirsalmi за любезно предоставленный растительный материал тетраплоидной клюквы крупноплодной.

Литература

1. Rousi A. Cytological observations on some species and hybrids of *Vaccinium* // Z?chter. 1966. Vol. 36, № 8. P. 352?359.
2. Lehmushovi A., Hokkanen H. & Hiirsalmi H. Cranberry breeding in Finland // Acta Horticulturae: *Vaccinium* culture V. 1993. № 346. P. 322?326.
3. Бормотов В.Е., Турбин Н.В. Экспериментальная полиплоидия и гетерозис у сахарной свеклы. Мн.: Наука и техника, 1972. ? 232 с.