


Факторы, влияющие на репродуктивную способность инбредных растений свеклы столовой при создании линейного материала для селекции

М.И. Федорова, Е.Г. Козарь, С.А. Ветрова , В.А. Заячковский, В.А. Степанов

Федеральный научный центр овощеводства, пос. ВНИИССОК, Одинцовский район, Московская область, Россия

 e-mail: lana-k2201@rambler.ru

Генеративная система *Beta vulgaris* L. по своему устройству и возможностям относится к высоковоспроизводящей. При самоопылении репродуктивный потенциал перекрестноопыляемых растений свеклы столовой, имеющих гаметофитный тип самонесовместимости, существенно изменяется и определяется совокупным действием разных факторов, в том числе и уровнем инбредной депрессии. Впервые на культуре свеклы столовой получены оригинальные данные о характере взаимосвязей семенной продуктивности инбредных растений с функциональными параметрами микрогаметофита и степенью самонесовместимости, что имеет важное значение при создании и поддержании константных фертильных линий. Установлено, что в результате инбредной депрессии увеличивается число стерильных микрогамет и пыльцевых зерен с аномальным развитием; снижается фертильность пыльцы и длина пыльцевых трубок; семенная продуктивность в потомствах инбредных растений, в том числе склонных к самоопылению, резко снижается уже после третьего инбридинга. При этом для высокопродуктивных инбредных растений свеклы столовой характерна меньшая скорость роста пыльцевых трубок в условиях *in vitro*. Между уровнем жизнеспособности пыльцы и семенной продуктивностью инбредных растений тесная взаимосвязь отсутствует ввиду того, что элиминация проросших мужских гамет и дегенерация зародышей семян могут происходить на всем протяжении прогамной и последующих фаз оплодотворения. Дегенерирующих зародышей у самонесовместимых форм намного больше, чем у самофертильных, но в результате разрастания околоплодника у семян с недоразвитыми зародышами наблюдается морфологическое сходство со всхожими семенами. Поэтому при оценке инбредных растений свеклы столовой по признаку «самонесовместимость/самофертильность» следует учитывать качественные характеристики семян. Использование метода рекуррентной селекции по признакам «семенная продуктивность», «длина пыльцевых трубок» и «полевая всхожесть» повышает выход форм с потенциально высокой самосовместимостью в потомстве. Для поддержания выделенных в инбредных потомствах ценных генотипов необходимо начиная с третьего инбридинга проводить sibсовы скрещивания, что позволяет снизить негативное влияние инбредной депрессии и самонесовместимости.


Ключевые слова: свекла столовая; инбридинг; инбредная депрессия; семенная продуктивность; самонесовместимость; микрогаметофит; жизнеспособность; пыльцевая трубка.

Для цитирования: Федорова М.И., Козарь Е.Г., Ветрова С.А., Заячковский В.А., Степанов В.А. Факторы, влияющие на репродуктивную способность инбредных растений свеклы столовой при создании линейного материала для селекции. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2019;23(4):439-447. DOI 10.18699/VJ19.512

Factors to affect inbred beet plants while developing material for linear selection

M.I. Fedorova, E.G. Kozar, S.A. Vetrova , V.A. Zayachkovskiy, V.A. Stepanov

Federal Scientific Vegetable Center, VNIISOK, Odintsovo region, Moscow district, Russia

 e-mail: lana-k2201@rambler.ru

Considering its capacities, the generative system of *Beta vulgaris* L. is regarded as highly productive. While inbreeding, the reproductive potential of cross-pollinated beet plants with gametophytic self-incompatibility (SI) changes significantly and is determined by a joint effect of multiple factors including the level of inbred depression. In the present study, original data have been obtained revealing relationships between inbred beet seed productivity, its self-incompatibility and microgametophyte parameters, which is crucial for developing and maintaining constant fertile beet lines. It has been discovered that inbred depression increases the number of sterile microgametes and anomalous pollen grains, reduces pollen fertility and the length of pollen tubes. As a result, the seed yield in inbred beet progeny, including SI ones, reduces significantly just after the third inbreeding. At the same time, highly productive inbred beet is characterized by a lower rate of pollen tube growth *in vitro*. In inbred plants, there is no close relationship between pollen viability and seed productivity, because the elimination of germinated male gametes and degeneration of seed embryos may go over the entire period of fertilization starting its progamic phase. The SI plants have more degenerating embryos than self-fertile ones, but seed vessel outgrowth in the seeds with

abortive embryos makes them morphologically similar to fertile seeds. For that reason, when assessing inbred beet plants based on their self-incompatibility/self-fertility, one should consider the qualitative characteristics of the seeds. Using the method of recurrent selection based on such factors as seed productivity, pollen tube length and field germination rate increase the output of plant forms with a potentially high self-compatibility in their progeny. To support such genotypes in the progeny, one has to, starting from the third inbreeding, perform sib crossing to reduce the negative effect of inbred depression and self-incompatibility.

Key words: beetroot; inbreeding; inbreeding depression; seed productivity; incompatibility; microgametophyte; pollen germination; pollen tubes.

For citation: Fedorova M.I., Kozar E.G., Vetrova S.A., Zayachkovskiy V.A., Stepanov V.A. Factors to affect inbred beet plants while developing material for linear selection. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektii* = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2019;23(4):439-447. DOI 10.18699/VJ19.512 (in Russian)

Введение

Среди корнеплодных овощных растений свекла столовая (*Beta vulgaris* L.) занимает одно из ведущих мест и выращивается повсеместно. Наличие в корнеплодах этой культуры бетанина и бетаина – азотсодержащих гетероциклических пигментов, относящихся к классу бетацианинов, делает ее уникальной и незаменимой для рационального питания человека (Красочкин, 1971; Pialetti, 1976; Mabry, 1980; Escribano et al., 1998; Tesoriere et al., 2004; Лапин и др., 2007; Слепцов и др., 2015).

Генеративная система свеклы столовой наиболее высокопроизводящая среди овощных корнеплодных растений по своему устройству и возможностям переопыления. Свекла – выраженный перекрестник с гаметофитной системой самонесовместимости (Owen, 1942; Малецкий и др., 1970). Помимо опыления пыльцой других растений (ксеногамия), у свеклы наблюдается опыление пыльцой других цветков в пределах одного растения (гейтеногамия) и пыльцой своего цветка (автогамия) (Жужжалова и др., 2007).

В настоящее время для потребителя предлагается широкий ассортимент сортов свеклы столовой российской и иностранной селекции, однако производители предпочитают гибриды F_1 , которые по сравнению с сортами более выровнены, пластичны и, как следствие, технологичны. Их возделывание по максимуму исключает ручной труд, в связи с чем снижаются затраты времени и средств (Буренин, Пивоваров, 1998; Федорова, Буренин, 2010). Наибольший эффект гетерозиса достигается при максимальной гибридности потомства, для чего результативно использование различных генетических систем размножения растений, в частности цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС), которая потенциально присутствует в каждой перекрестноопыляемой популяции (Малецкий, 2010).

Селекция на гетерозис включает ряд последовательных этапов: изучение разнообразного исходного материала, предпочтительно среди раздельноплодных образцов (одно- и дву-семянных), получение инбредных потомств, отбор селекционно-ценных биотипов, создание на их основе фертильных (mf) и стерильных (ms) линий с высокой комбинационной способностью, получение гибридов F_1 с комплексом хозяйственно значимых признаков. При работе со сложными гетерогенными популяциями перекрестноопыляющихся культур для получения гомозиготных линий используют инбридинг как один из важных факторов формообразовательного процесса, способствующий выявлению ценных биотипов, имеющих

рецессивные аллели. Самоопыление позволяет разложить гетерогенные популяции на ряд гомозиготных по целевым генам линий, которые наряду с депрессией обладают ценными качествами (Вавилов, 1935).

Уже на первых этапах создания гибридов на основе ЦМС селекционер сталкивается с проблемами не только генетического, селекционного, но и семеноводческого характера. В отличие от сортовых популяций перекрестноопыляемых культур, генетическая стабильность которых обеспечивается за счет переопыления внутри замкнутой популяции, необходимым условием получения и поддержания любой линии является ее способность к самоопылению (Балков, 1978; Федорова, Степанов, 2005; Жужжалова, 2010; Буренин, 2015).

Семенная продуктивность инбредных потомств свеклы характеризуется высокой вариабельностью, как следствие совокупности действия разных генов, в том числе генов самонесовместимости, а также инбредной депрессии. Самонесовместимость (self-incompatibility – SI) при самоопылении возникает в случае совпадения S-генов в пыльце и пестике. В зависимости от времени действия генов и локализации продуктов их жизнедеятельности различают два типа гомоморфной самонесовместимости в группе эвдикотов: спорофитную (sporophytic self-incompatibility – SSI) и гаметофитную (gametophytic self-incompatibility – GSI). Однако у некоторых видов возможно сочетание отдельных признаков данных систем (Жужжалова и др., 2007).

В системе SSI ингибитор роста (белковый комплекс) активируется непосредственно на рыльце при совпадении мономеров собственной пыльцы и пестика, что вызывает реакцию торможения прорастания пыльцевых зерен (Lewis, Crowe, 1958; Knox, Heslop-Harrison, 1970; Foote et al., 1994; Chantha et al., 2013). Система GSI, по последним данным, у ряда видов основана на специфическом распознавании рибонуклеаз (S-RNase) диплоидных тканей пестика, которые расщепляют запасы рРНК собственной пыльцы (рост пыльцевых трубок прекращается) и S-связанных F-box белков мужского гаплоида, способных инактивировать подмножество аллелей S-RNase, за исключением их аллельного «родственника» (Entani et al., 2003; Yamane et al., 2003; Kubo et al., 2010; Ramanauskas, Igić, 2017; Chen et al., 2018). Система SI свеклы, имея гаметофитный тип несоместимости, контролируется четырьмя S-локусами, но пока еще не изучена на молекулярном уровне (Lundqvist et al., 1973; Жужжалова, 2010).

В популяциях свеклы сахарной наряду с самонесовместимыми (автостерильными) растениями, доля кото-

рых может достигать 50 % и более, присутствуют и самосовместимые (самофертильные или автофертильные), пыльцевые зерна которых при самоопылении прорастают в массовом количестве (Magassy, 1965; Корнеева, Голиченко, 1989; Логвинов и др., 1993; Darmency et al., 2009). Растения, завязавшие до 50 шт. семян, относят к самостерильным или самонесовместимым (СН), от 50 до 100 шт. – определяют как склонные к самофертильности (ССФ), от 100 семян и выше – самосовместимые или самофертильные (СФ) (Балков, 1978).

Показано, что признак совместимости и доля СФ растений в инбредных потомствах свеклы сахарной могут закрепляться; их семенная продуктивность в ряду поколений может увеличиваться, хотя это отмечается не во всех случаях (Коновалов, Малецкий, 1990; Жужжалова, 2010; Ошевнев, Грибанова, 2010). Последовательное самоопыление снижает фертильность пыльцевых зерен инбредных потомств, которая в свою очередь зависит от генотипа инбредных растений (Малецкий, 1995; Заячковский и др., 1999; Корнеева, Власюк, 2003; Darmency et al., 2009). При этом фертильность пыльцы самосовместимых растений при одно-трехкратном инбридинге снижается значительно медленнее, чем в инбредных потомствах самонесовместимых растений, у которых в процессе гаметогенеза резко возрастает число аномалий при развитии пыльцевых зерен, ведущих к стерилизации микрогаметофита.

Дальнейшее инбредное размножение приводит к снижению фертильности пыльцы у самофертильных форм, которая при глубоком инбридинге (до I_{10}) может уменьшиться до 20 % от исходного значения (Коновалов, Малецкий, 1990; Федорова, Степанов, 2005). В результате у СФ-форм, как и в случае СН-форм, могут быть потеряны ценные генотипы. Особенно часто это происходит в процессе создания фертильных линий «В» – закрепителей ЦМС (Лялько и др., 1997; Жужжалова, 2010). Поэтому при работе с инбредными потомствами свеклы столовой перво-степенной задачей является поиск *mf*-форм, склонных не только к самоопылению, но и к преодолению инбредной депрессии, при этом важно не упустить депрессионный порог семенной продуктивности.

Цель настоящей работы – изучение взаимосвязей между семенной продуктивностью и функциональными параметрами мужского гаметофита растений свеклы столовой при инбридинге для создания константных линий, их поддержания и размножения.

Материалы и методы

Исследования проведены на базе ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства» (ФНЦО, пос. ВНИИССОК) с 2007 по 2017 г. на семенных растениях различных инбредных потомств свеклы столовой, полученных на основе сортовой популяции Нежность. Сорт получен свободным переопылением гибридов иностранного происхождения с цилиндрической формой корнеплода, путем последующего индивидуального отбора, инбридинга и сестринских скрещиваний. Уже в первом поколении инбридинга этой сортопопуляции присутствовали полностью фертильные и частично стерильные растения с разной степенью выраженности признака ЦМС (различное соотношение стерильных и фертильных пыльников в пределах цветка,

соцветия и ветвей). Фенотипически ЦМС у растений свеклы столовой проявляется в виде маркерной окраски *ms*-пыльников с широким спектром типов окрашивания отдельных частей в различные оттенки бордового – от розового до коричневого (Федорова и др., 2011).

Растения выращивали в условиях защищенного грунта: в необогреваемых ангарной или блочной теплицах в весенне-летнем обороте при естественном освещении с использованием однолетнего (штеклинги) и двухлетнего циклов развития. Принудительное самоопыление семенных растений и сибсовые скрещивания проводили под изоляторами двух типов: пергаментными – при изоляции отдельных ветвей на растении, и бязевыми – при изоляции индивидуальных растений и групп. С целью преодоления инбредной депрессии, начиная с третьего инбридинга использовали сибсовые (сестринские) групповые скрещивания (не менее трех растений в группе под общим изолятором).

Биометрические и функциональные параметры микрогаметофита фертильных и частично стерильных инбредных растений изучали *in vitro*, согласно разработанной в ФНЦО методике (Козарь и др., 2017). Объем выборки для подсчетов и измерений в одной повторности составлял 300–500 пыльцевых зерен в трехкратной повторности. Микрофотосъемку проводили на микроскопе Micros с использованием цифровой камеры DCM 300 и при помощи фотосистемы Canon A560 при увеличении микроскопа $\times 10 \times 10$ и $\times 20 \times 10$. Подсчет пыльцевых зерен разных фракций и измерение их параметров осуществляли с помощью программы Score Photo. Жизнеспособность (ЖСП) микрогаметофитной популяции оценивали как процентное содержание проросших пыльцевых зерен (ПЗ) от общего их числа в анализируемой пробе. Полиморфизм, выраженный в процентах, оценивали по соотношению фракций пыльцевых зерен: фертильных, проросших (ЖСП), аномальных и стерильных.

Репродуктивную способность и самосовместимость инбредных растений оценивали по семенной продуктивности ($PP_{\text{сем}}$) и полевой всхожести семян. К самонесовместимым относили генотипы с семенной продуктивностью от 0 до 1 г, независимо от всхожести, и растения с более высокой продуктивностью, но полевой всхожестью менее 20 %; в группу склонных к самофертильности – с семенной продуктивностью от > 1 до 4 г с растения; к высокопродуктивным самофертильным – с семенной продуктивностью > 4 г при всхожести > 20 %.

Экспресс-оценку качества семян выполняли методом микрофокусной рентгенографии на установках ПРДУ-02 и РМ-1. Анализ внутренней структуры семян проводили согласно «Методике рентгенографии в земледелии и растениеводстве» (Архипов и др., 2001) и «Рентгенографическому анализу качества семян овощных культур» (Муцаев и др., 2012). Для математической обработки результатов использовали методы статистического анализа пакета Microsoft Excel.

Результаты исследований

Сравнительный анализ $PP_{\text{сем}}$ показал, что инбредные потомства (I_1 – I_3) состоят как из низкопродуктивных растений, так и из растений, завязавших достаточное коли-

Таблица 1. Семенная продуктивность и фертильность пыльцы растений в структуре разных инбредных потомств образца 274 свеклы столовой

Инбридинг	Средняя семенная продуктивность, г/растение	Кол-во растений (%) с семенной продуктивностью			Средняя фертильность пыльцы, %	Доля растений (%) с уровнем фертильности пыльцы		
		0 г	0.1–4.0 г	> 4 г		< 70 %	70–90 %	> 90 %
I ₁	14.5	7	33	60	92	1	26	73
I ₂	13.4	8	42	50	84	3	33	64
I ₃	9.3	14	55	31	80	10	61	29
I ₄	2.5	16	64	20	82	8	44	48
I ₅	6.1	21	49	30	76	20	35	45
НСР ₀₅	4.2				4			

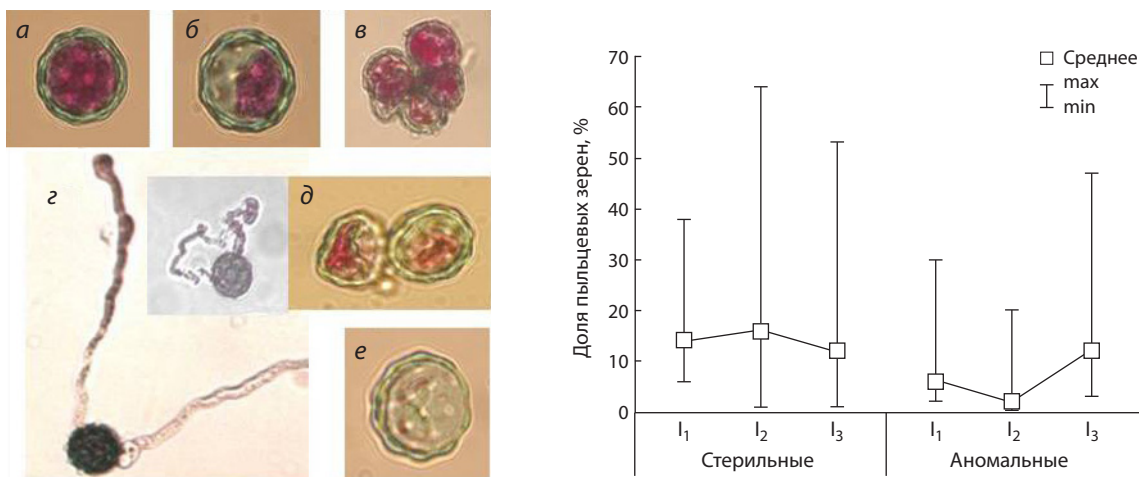


Рис. 1. Стерильные и аномальные микрогаметы у растений разных инбредных потомств свеклы столовой. Пыльцевые зерна: а – фертильное; б–д – аномальные; е – стерильное.

чество семян, и их соотношение в пределах инбредного потомства и каждого образца существенно различается. Доля СН растений инбредных популяций в каждом последующем поколении инбридинга постепенно увеличивалась, в среднем в три раза. В результате доля растений, способных к самоопылению, в потомствах третьего инбридинга составляла 33 %, тогда как среди растений первого инбридинга она достигала 90 %, в том числе 56 % с семенной продуктивностью более 5 г. По средним показателям семенная продуктивность инбредных растений разных поколений оставалась примерно на одном уровне и составляла: в I₁ – 11.2 г/растение; I₂ – 11.9; I₃ – 10.4 г/растение (Приложение 1)¹.

Влияние последовательного самоопыления на изменчивость параметров микрогаметофита и анализ характера их взаимосвязи с репродуктивной способностью инбредных растений свеклы столовой изучали на примере селекционного образца 274, популяция которого характеризовалась самым низким числом СН генотипов (7 %). В этой связи для последующего инбридинга отбирали растения, преимущественно склонные к самофертильности, которые, как правило, находились во всех инбредных

потомствах. В структуре их инбредных потомств присутствовали полностью СН генотипы (ПР_{сем} = 0 г), доля которых постепенно возрастала с глубиной инбридинга (I₁ → I₅) и в пятом поколении достигла 21 % (табл. 1).

Семенная продуктивность растений, способных к самоопылению, оставалась высокой до третьего инбридинга и резко снижалась при дальнейшем инбридинге, в том числе у СФ растений, доля которых составляла всего 20–30 %. Это можно объяснить влиянием возрастающей инбредной депрессии на развитие репродуктивных органов. В результате фертильность пыльцы снижалась за счет увеличения числа стерильных микрогамет, а также пыльцевых зерен с аномальным развитием (деформация, отслоение внутреннего содержимого от оболочки, прорастание нескольких пыльцевых трубок и пр.). Число таких растений в потомстве пятого инбридинга увеличилось в два раза (табл. 1, рис. 1).

Инбредная депрессия отразилась также на функциональных характеристиках пыльцы, главным образом на росте пыльцевых трубок в условиях *in vitro*. Средняя длина пыльцевых трубок растений четвертого-пятого инбридинга через три часа прорастивания оказалась почти вдвое меньше таковой у растений третьего инбридинга. При этом, начиная со второго инбридинга, наблюдалось

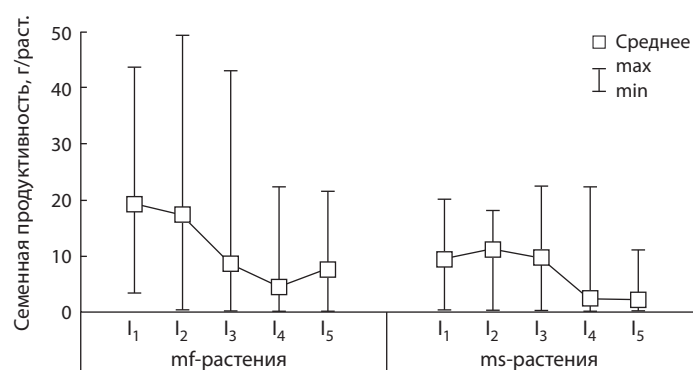
¹ Приложения 1–3 см. по адресу: <http://www.bionet.nsc.ru/vogis/download/pict-2019-23/appx8.pdf>

Таблица 2. Изменчивость и структура инбредных потомств свеклы столовой по признакам «жизнеспособность» и «длина пыльцевой трубки» фертильной пыльцы семенных растений

Поколение инбридинга	Жизнеспособность, %		Кол-во растений (%) с уровнем ЖСП			Длина пыльцевой трубки, отн. ед.		Кол-во растений (%) с $L_{пт}$ (отн. ед.)		
	средняя	min-max	<10	10-30	>30	средняя	min-max	<200	200-300	>300
I_3	20	1-44	23	48	29	446	78-790	19	14	67
I_4	17	0-52	44	32	24	263	94-540	24	44	32
I_5	25	0-55	20	20	60	257	110-430	28	30	42
HCP_{05}	9					84				



Рис. 2. Изменчивость семенной продуктивности фертильных (а) и частично стерильных (б, в – отдельные ms-пыльники в цветке; г, д – ms-цветки и ветви на растении) растений в структуре разных инбредных потомств свеклы столовой.



постепенное сужение диапазона изменчивости данного признака и увеличение доли растений с низкой скоростью роста пыльцевых трубок ($L_{пт} < 200$ отн. ед.) в потомствах последовательных инбридингов (табл. 2).

Менее значимые различия между растениями разной глубины инбридинга проявились по показателю ЖСП фертильной пыльцы, значения которого находились в широких пределах (0–55 %). Тем не менее определенной закономерности в изменении структуры популяций по соотношению генотипов с разным уровнем ЖСП не прослеживалось. Так, среди растений потомств третьего инбридинга преобладали генотипы со средним уровнем прорастания пыльцы (ЖСП = 10–30 %), среди потомств четвертого – с низким (ЖСП < 10 %), а большинство растений пятого инбридинга обладали способностью пыльцы прорасти в условиях *in vitro* (ЖСП > 30 %). Возможно, это связано с фенотипической изменчивостью, которая в значительной степени определяется влиянием агроклиматических условий выращивания на одновременность созревания и зрелость пыльцы. То есть полученные данные свидетельствуют о том, что инбредная депрессия развития микрогаметофита, наряду с явлением самонесовместимости, влияет на репродуктивную способность инбредных растений.

Взаимосвязь семенной продуктивности и параметров микрогаметофита растений разного уровня инбридинга свеклы столовой. Анализ структуры отдельных групп инбредных mf-растений с разным уровнем $PP_{сем}$ показал определенную взаимосвязь между параметрами микрогаметофита и семенной продуктивно-

стью до третьего инбридинга. Так, в потомстве третьего инбридинга растения с низкой фертильностью (< 70 %) и жизнеспособностью (< 10 %) пыльцы находились только в низкопродуктивной группе ($PP_{сем} < 1$ г). В потомстве четвертого инбридинга такие генотипы появились уже в группе со средним уровнем $PP_{сем}$ (1–4 г), а при пятом инбридинге – и в группе высокопродуктивных растений ($PP_{сем} > 4$ г). При этом доля инбредных растений с низкой ЖСП пыльцы во всех группах почти выровнялась и составила 20–30 % от числа растений каждой группы. Инбредная депрессия роста пыльцевых трубок отдельных растений проявлялась раньше, уже при втором инбридинге, и в потомстве третьего инбридинга доля таких генотипов в группах с низкой и средней $PP_{сем}$ составляла 25 и 20 % соответственно (Прил. 2).

Для отбора представляют интерес растения всех инбредных потомств группы высокопродуктивных, с высокой фертильностью и уровнем ЖСП пыльцы более 30 %. Доля растений с высокой скоростью роста пыльцевых трубок ($L_{пт} > 300$ мкм/ч) в этой группе снижалась с увеличением инбридинга и в потомстве пятого инбридинга составила всего 20 %, тогда как в группе низкопродуктивных растений – около 60 % (см. Прил. 2).

Снижение семенной продуктивности растений, склонных к самоопылению, и пределы ее варьирования в группах mf- и частично стерильных ms-растений инбредных потомств имеют схожую динамику (рис. 2). В то же время отмечены различия: в среднем семенная продуктивность ms-растений при самоопылении значительно ниже, чем полностью фертильных, диапазон изменчивости кото-

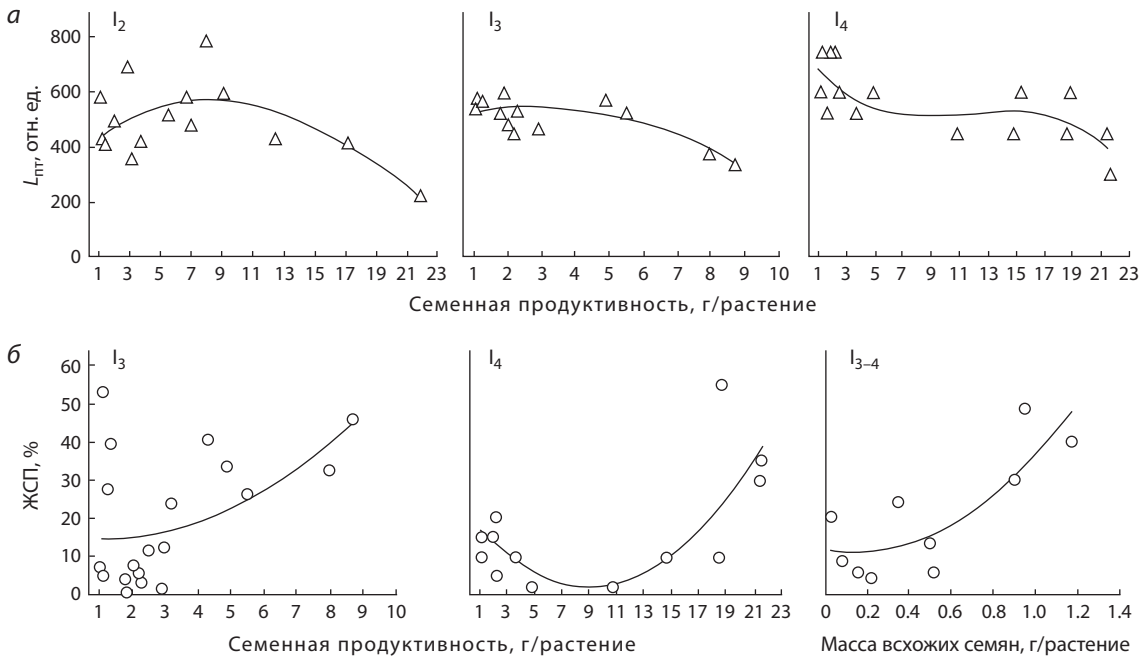


Рис. 3. Взаимосвязь семенной продуктивности с длиной пыльцевой трубки (а) и жизнеспособностью пыльцевых зерен (б) инбредных *mf*-растений свеклы столовой, склонных к самофертильности.

рых в первых трех инбредных потомствах почти вдвое выше. Резкое снижение семенной продуктивности отмечалось в группе *mf*-растений третьего инбридинга, а среди *ms*-растений – при четвертом, где преобладала СН формы. Поэтому отмеченный рост числа СН растений в поколениях четвертого-пятого инбридингов (см. табл. 1) преимущественно связан с наличием в потомствах частично стерильных растений, которые следует браковать, начиная с третьего инбридинга. Особенно это важно при создании *mf*-линии – закрепителя ЦМС.

Как показали исследования, репродуктивный потенциал инбредных растений при многократном самоопылении в большей степени определяется уровнем их самосовместимости, поскольку в инбредных растениях с различным проявлением ЦМС и сочетанием функциональных параметров пыльцы отмечалась как низкая, так и высокая семенная продуктивность. Дальнейший анализ подтвердил отсутствие стабильных корреляционных связей между признаками микрогаметофита и семенной продуктивностью индивидуальных растений каждого инбредного потомства, однако в пределах группы *mf*-растений, склонных к самофертильности, во всех потомствах прослеживалась определенная тенденция – скорость роста пыльцевых трубок продуктивных генотипов в условиях *in vitro* ниже (рис. 3, а). Такая взаимосвязь наблюдалась и в отдельных инбредных семьях, особенно в тех, где семенная продуктивность широко варьировала. Например, в инбредных семьях № 274-2 и 274-4 коэффициент корреляции (*r*) между длиной пыльцевой трубки и семенной продуктивностью растений третьего инбридинга составил –0.64, в других случаях коэффициенты корреляции изменялись от –0.19 до –0.59.

Взаимосвязь между уровнем ЖСП пыльцы и семенной продуктивностью инбредных растений неоднозначна.

Положительная корреляция между этими параметрами (*r* = 0.40...0.49) прослеживается только в поколениях высокой степени инбридинга I_{3-5} *mf*-растений, склонных к самофертильности. При этом лишь в ряде этих потомств уровень ЖСП пыльцы влиял на количество всхожих семян (*r* = 0.53...0.56), с нормально развитыми зародышами, способными развиваться во взрослое растение, формирующее корнеплод (см. рис. 3, б). То есть итог оплодотворения при сопоставимом уровне ЖСП пыльцы инбредных растений с разной выраженностью признака самонесовместимости может быть различным.

Это связано с тем, что элиминация мужских гамет происходит на всем протяжении прогамной фазы оплодотворения. При этом чем более несовместимым является растение, тем раньше наблюдаются нарушения прогамной фазы и тем сильнее они выражены. Отсутствие оплодотворения – основная причина гибели зародыша. Однако развитие зародыша даже без оплодотворения может продолжаться вплоть до стадии шара, но поскольку центральная клетка не функционирует и не образует эндосперм, зародыш погибает. Изучение дальнейших этапов эмбриогенеза в ходе формирования семени показало, что дегенерация зародышей и семян при самоопылении растений свеклы наблюдается на разных стадиях развития, при этом количество дегенерирующих зародышей у самостерильных форм намного больше, чем у самофертильных. Следует отметить, что у семян с недоразвитыми зародышами в результате разрастания околоплодника наблюдается внешнее сходство со всхожими семенами (Жужжалова и др., 2007).

Более объективным критерием ранжирования растений по признаку «самонесовместимость/фертильность» следует считать массу всхожих семян с растения, которую рассчитывают по формуле $M_{всх} = M_0 \cdot V/100$, где M_0 – об-

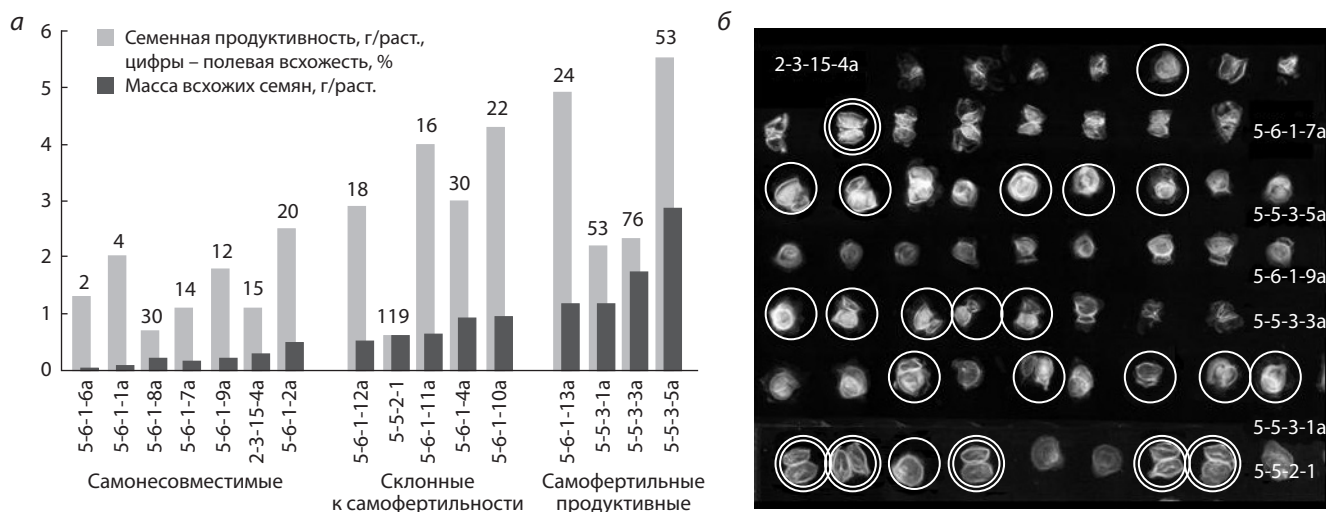


Рис. 4. Распределение инбредных потомств свеклы столовой по показателю «масса всхожих семян» (а) и фрагменты рентгенограмм семян этих потомств (б).

На рентгенограмме окружностями отмечены всхожие односемянные плоды; двойными окружностями – всхожие двусемянные клубочки.

щая масса семян (г), полученных с растения; В – полевая всхожесть, %. К самонесовместимым относят генотипы с $M_{всх} < 0.5$ г/растение; к склонным к самофертильности – $0.5 \leq M_{всх} < 1.0$; к самофертильным – с продуктивностью всхожих семян $M_{всх} \geq 1.0$ г/растение (рис. 4, а). На графике видно, что как среди самонесовместимых, так и среди самофертильных генотипов присутствуют растения, общая семенная продуктивность которых сопоставима, однако полевая всхожесть и, соответственно, масса всхожих семян самофертильных растений с низкой продуктивностью выше, чем самонесовместимых.

Для предварительной оценки степени выраженности самонесовместимости того или иного инбредного потомства свеклы столовой можно использовать метод микрофокусной рентгенографии, который дает возможность определять наличие развитого зародыша в каждом семени еще до прорастивания (Мусаев и др., 2017а, б). Как видно на рентгенограмме (см. рис. 4, б), большинство семян инбредных потомств 274/5-6-1-9а и 274/2-3-15-4а имели полное затемнение внутренней области или только зачатки нежизнеспособного зародыша (светлая зона). При посеве такие семена не давали всходов.

Данные потомства, с учетом семенной продуктивности и полевой всхожести, отнесены к самонесовместимым (см. рис. 4, а). Семенные потомства 274/5-5-3-3а и 274/5-5-3-1а отнесены к самофертильным, поскольку при невысокой общей семенной продуктивности (около 2 г) они характеризовались высокой полевой всхожестью (76 и 53 % соответственно), о чем свидетельствуют и результаты рентгенограммы. Кроме того, по рентгенографическим снимкам можно охарактеризовать индивидуальные растения и потомства по таким признакам, как многоплодность и раздельноплодность, что важно при отборе форм для селекции (см. рис. 4, б).

Использование sibсовых скрещиваний для поддержания ценных инбредных линий. Sibсовые (сестринские) скрещивания в пределах отдельных потомств *mf*-форм способствуют снижению влияния инбредной

депрессии на функциональные параметры микрогаметофита. Так, жизнеспособность пыльцы растений потомств исходной инбредной формы 274-5-6-1 увеличилась на 4–32 % в зависимости от потомства (за исключением 274-5-6-1-11а). У большинства образцов увеличилась также скорость роста пыльцевой трубки, длина которой в 1.2–2 раза превысила таковую инбредных растений. Исключение составили только два потомства 274-5-6-1-11а и 274-5-6-1-12а, у которых изменение этого показателя было в пределах ошибки опыта (Прил. 3).

Между показателями «ЖСП пыльцы» и «длина пыльцевых трубок» растений инбредных и sibсовых потомств отмечена тесная взаимосвязь ($r = 0.88$ и $r = 0.64$ соответственно), в отличие от семенной продуктивности, поскольку ее повышение при получении sibсов обусловлено не только снижением инбредной депрессии, но и отсутствием негативного влияния самонесовместимости. Тем не менее, как и в инбредных потомствах, отмечается обратная зависимость между длиной трубки и семенной продуктивностью ($r = -0.47$).

При sibсовых скрещиваниях продуктивность растений у большинства потомств достоверно увеличивалась (в 1.4–6.6 раза и более) или оставалась на уровне инбредных растений. Существенно повысилось качество полученных семян, их полевая всхожесть в расчете на посевную единицу (клубочек) в большинстве потомств составила более 40 %. При этом 42 % sibсовых потомств отличались многосемянностью клубочков (полевая всхожесть >100 %), тогда как среди инбредных потомств доля многоплодных образцов не превышала 10 % от числа изученных. Это надо учитывать при создании фертильных линий, особенно закрепителей стерильности, растения которых должны обладать раздельноплодностью.

Заключение

Сложность получения самофертильных константных линий для селекции свеклы столовой на гетерозис обусловлена гаметофитным контролем признака самонесо-

вместимости и изменчивостью его проявления в растениях инбредных потомств. Репродуктивная способность растений свеклы столовой при самоопылении также зависит от уровня инбредной депрессии, влияющей на функциональные параметры микрогаметофита и развитие зародыша семени.

Использование метода рекуррентной селекции по признакам «семенная продуктивность», «длина пыльцевых трубок» и «полевая всхожесть» повышает выход форм с потенциально высокой самосовместимостью в потомстве. Для воспроизводства и поддержания ценного линейного материала, не позднее третьего инбридинга, следует проводить sibсовы скрещивания, отбирая из перспективных инбредных потомств *mf*-формы, наиболее склонные к самоферильности.

Список литературы / References

- Архипов М.В., Алексеева Д.И., Батыгин Н.Ф., Великанов Л.П., Гусакова Л.П., Дерунов И.В., Желудков А.Г., Николенко В.Ф., Никитина Л.И., Савин В.Н., Пономаренко Е.Н., Якушев В.П. Методика рентгенографии в земледелии и растениеводстве. М., 2001. [Arkhipov M.V., Alekseeva D.I., Batygin N.F., Velikanov L.P., Gusakova L.P., Derunov I.V., Zheludkov A.G., Nikolenko V.F., Nikitina L.I., Savin V.N., Ponomarenko E.N., Yakushev V.P. X-ray Technique in Agriculture and Crop Production. Moscow, 2001. (in Russian)]
- Балков И.Я. Селекция сахарной свеклы на гетерозис. М., 1978. [Balkov I.J. Sugar Beet Selection for Heterosis. Moscow, 1978. (in Russian)]
- Буренин В.И. Использование инбридинга у свеклы. Сахарная свекла. 2015;1:11-14. [Burenin V.I. The use of inbreeding in beet. Sakharnaya Svekla = Sugar Beet. 2015;1:11-14. (in Russian)]
- Буренин В.И., Пивоваров В.Ф. Свекла. СПб., 1998. [Burenin V.I., Pivovarov V.F. Beta Vulgaris. St. Petersburg, 1998. (in Russian)]
- Вавилов Н.И. Ботанико-географические основы селекции. Теоретические основы селекции. Т. 1. М.; Л., 1935. [Vavilov N.I. Botanical and Geographical Basis of Breeding. In: Theoretical Bases of Selection. Vol. 1. Moscow; Leningrad, 1935. (in Russian)]
- Жужжалова Т.П. Влияние инбридинга на формирование генеративных органов сахарной свеклы. Малецкий С.И. (ред.). Энциклопедия рода *Beta*: биология, генетика и селекция свеклы. Новосибирск: Сова, 2010;164-189. [Zhuzhzhhalova T.P. The effect of inbreeding on the formation of generative organs in sugar beet. In: Maletsky S.I. (Ed.). Encyclopedia of the Genus *Beta*: Biology, Genetics, and Breeding of Sugar Beet. Novosibirsk: Sova Publ., 2010;164-189. (in Russian)]
- Жужжалова Т.П., Знаменская В.В., Подвигина О.А., Ярмолюк Г.И. Репродуктивная биология сахарной свеклы. Воронеж, 2007. [Zhuzhzhhalova T.P., Znamenskaya V.V., Podvigina O.A., Yarmolyuk G.I. Reproductive Biology of Sugar Beet. Voronezh, 2007. (in Russian)]
- Заячковский В.А., Старцев В.И., Балашова Н.Н. Разработка элементов гетерозисной селекции столовой свеклы. Гавриш. 1999; 3:24-25. [Zayachkovskiy V.A., Startsev V.I., Balashova N.N. Development of elements of heterosis-assisted breeding of beetroot. Gavrish. 1999; 3:24-25. (in Russian)]
- Козарь Е.Г., Федорова М.И., Ветрова С.А., Заячковский В.А., Степанов В.А. Оценка функциональных параметров микрогаметофита инбредных растений свеклы столовой. М., 2017. [Kozar E.G., Fedorova M.I., Vetrova S.A., Zayachkovskiy V.A., Stepanov V.A. Assessment of Functional Parameters of Microgametophytes of Inbred Beetroot Plants. Moscow, 2017. (in Russian)]
- Коновалов А.А., Малецкий С.И. Расщепление по S-локусам при инбридинге у сахарной свеклы. Генетика. 1990;26(8):1440-1447. [Konovalov A.A., Maletsky S.I. Segregation for S loci during inbreeding in sugar beet. Genetika = Genetics. 1990;26(8):1440-1447. (in Russian)]
- Корнеева М.А., Власюк Н.В. Влияние инбридинга на качество пыльцы опылителей сахарной свеклы разной степени гетерозиготности. Актуальные проблемы генетики. 2003;1:106-107. [Korneeva M.A., Vlasyuk N.V. The effect of inbreeding on the quality of pollen from sugar beet pollinators of varying degrees of heterozygosity. In: Current Issues in Genetics. 2003;1:106-107. (in Russian)]
- Корнеева М.А., Голиченко Т.В. Степень завязываемости семян при самоопылении растений сахарной свеклы в условиях теплиц и поля. Приемы повышения продуктивности сахарной свеклы и семенников. Киев, 1989. [Korneeva M.A., Golichenko T.V. Seed Productivity in Self-Pollination of Sugar Beet Plants in Greenhouses and Fields. Methods of increasing the productivity of sugar beet and seed plants. Kiev, 1989. (in Russian)]
- Красочкин В.Т. Корнеплодные растения. Культурная флора СССР. Т. 19. Л., 1971. [Krasochkin V.T. Root crops. In: Cultural Flora of the USSR. Vol. 19. Leningrad, 1971. (in Russian)]
- Лапин А.А., Быковский Д.В., Давыдов Ю.А., Зеленков В.Н. Свекольный сок – источник антиоксидантов. Картофель и овощи. 2007;6:27. [Lapin A.A., Bykovskiy D.V., Davydov U.A., Zelenkov V.N. Beet juice is a source of antioxidants. Kartoffel i Ovoshchi = Potatoes and Vegetables. 2007;6:27. (in Russian)]
- Логвинов В.А., Красильников Е.А., Волгин В.В., Логвинова А.П., Кудрявцева Н.В. Самосовместимость сахарной свеклы в процессе инбридинга. С.-х. биология. 1993;3:22-25. [Logvinov V.A., Krasilnikov E.A., Volgin V.V., Logvinova A.P., Kudryavtseva N.V. Self-compatibility of sugar beet in the process of inbreeding. Selskokhozyaystvennaya Biologiya = Agricultural Biology. 1993;3:22-25. (in Russian)]
- Лялько И.И., Сидоренко А.С., Шевцов И.А. Получение закрепительной стерильности для гетерозисной селекции сахарной свеклы. Вестн. аграр. науки. 1997;10:52-54. [Lyalko I.I., Sidorenko A.S., Shevtsov I.A. Raise of sterility fixers for heterosis selection of sugar beet. Vestnik Agrarnoy Nauki = Bulletin of Agrarian Science. 1997;10:52-54. (in Russian)]
- Малецкий С.И. Варьирование цитоплазматически контролируемой стерильности пыльцы у сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) и ее связь с гетероплазмией митохондрий в клетках. Генетика. 1995;31(11):1461-1467. [Maletsky S.I. Variation of cytoplasmically controlled sterility in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) pollen and its relationship with mitochondrial heteroplasmy in cells. Genetika = Genetics. 1995;31(11):1461-1467. (in Russian)]
- Малецкий С.И. (ред.). Энциклопедия рода *Beta*: биология, генетика и селекция свеклы. Новосибирск: Сова, 2010;542-554. [Maletsky S.I. (Ed.). Encyclopedia of the Genus *Beta*: Biology, Genetics and Breeding of Sugar Beet. Novosibirsk: Sova Publ., 2010; 542-554. (in Russian)]
- Малецкий С.И., Денисова Э.В., Лутков А.Н. Получение самоопыленных линий у самонесовместимых растений сахарной свеклы. Генетика. 1970;6(6):180. [Maletsky S.I., Denisova E.V., Lutkov A.N. Raise of self-pollinated lines from self-incompatible sugar beet plants. Genetika = Genetics. 1970;6(6):180. (in Russian)]
- Мусаев Ф.Б., Архипов М.В., Прияткин Н.С., Староверов И.Е., Потрахов Н.Н. Метод микрофокусной рентгенографии для анализа качества семян овощных культур. Сб. статей междунар. науч. конф. «Тенденции развития агрофизики: от актуальных проблем земледелия и растениеводства к технологиям бу-

- душего», посвящ. 85-летию Агрофизического НИИ. М., 2017а; 332-336.
- [Musaev F.B., Arkhipov M.V., Priyatkin N.S., Staroverov I.E., Potrakhov N.N. The microfocal radiography method for analyzing the quality of vegetable seeds. In: Trends in the Development of Agrophysics: from Topical Issues of Agriculture and Crop Production to Future Technologies: Proceedings of the Int. Sci. Conf. dedicated to the 85th anniversary of the Agrophysical Research Institute. Moscow, 2017a;332-336. (in Russian)]
- Мусаев Ф.Б., Бухаров А.Ф., Козарь Е.Г., Белецкий С.Л. Современный инструментальный метод контроля качества семян. Овощи России. 2017б;4(37):73-77. DOI 10.18619/2072-9146-2017-4-73-77.
- [Musayev F.B., Bukharov A.F., Kozar E.G., Beletsky S.L. A modern instrumental method of seed quality control. Ovoshchi Rossii = Vegetable crops of Russia. 2017b;4(37):73-77. DOI 10.18619/2072-9146-2017-4-73-77. (in Russian)]
- Мусаев Ф.Б., Прозорова О.А., Архипов М.В., Великанов Л.П., Потрахов Е.Н., Бессонов В.Б. Рентгенографический анализ качества семян овощных культур. Овощи России. 2012;4(17):43-47.
- [Musaev F.B., Prozorova O.A., Arkhipov M.V., Velikanov L.P., Potrakhov E.N., Bessonov V.B. X-ray analysis of the quality of vegetable seeds. Ovoshchi Rossii = Vegetable Crops of Russia. 2012;4(17):43-47. (in Russian)]
- Ошевнев В.П., Грибанова Н.П. Селекция самосовместимых опылителей О-типа у сахарной свеклы. Малецкий С.И. (ред.). Энциклопедия рода *Beta*: биология, генетика и селекция свеклы. Новосибирск: Сова, 2010;542-554.
- [Oshevnev V.P., Gribanova N.P. Breeding of self-compatible O-type pollinators in sugar beet. In: Maletsky S.I. (Ed.). Encyclopedia of the Genus *Beta*: Biology, Genetics and Breeding of Sugar Beet. Novosibirsk: Sov Publ., 2010;542-554. (in Russian)]
- Слепцов И.В., Воронов И.В., Журавская Е.Р., Поскачина Е.Р. Выделение и идентификация бетацианиновых пигментов из *Beta vulgaris* и *Amaranthus retroflexus*. Химия растит. сырья. 2015;3:111-115. DOI 10.14258/jcprm.201503757.
- [Sleptsov I.V., Voronov I.V., Zhuravskaya E.R., Poskachina E.R. Isolation and identification of betacyanin pigments from *Beta vulgaris* and *Amaranthus retroflexus*. Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya = Chemistry of Plant Materials. 2015;3:111-115. DOI 10.14258/jcprm.201503757. (in Russian)]
- Федорова М.И., Буренин В.И. Биология, генетика и селекция столовой свеклы. Малецкий С.И. (ред.). Энциклопедия рода *Beta*: Биология, генетика и селекция свеклы. Новосибирск: Сова, 2010;588-597.
- [Fedorova M.I., Burenin V.I. Biology, genetics, and breeding of table beet. In: Maletsky S.I. (Ed.). Encyclopedia of the Genus *Beta*: Biology, Genetics and Breeding of Sugar Beet. Novosibirsk: Sov Publ., 2010;588-597. (in Russian)]
- Федорова М.И., Ветрова С.А., Козарь Е.Г. Особенности фенотипического проявления признака ЦМС семенных растений свеклы столовой. Овощи России. 2011;3(12):18-23.
- [Fedorova M.I., Vetrova S.A., Kozar E.G. Features of the phenotypic manifestation of the CMS symptom in beetroot seed plants. Ovoshchi Rossii = Vegetable Crops of Russia. 2011;3(12):18-23. (in Russian)]
- Федорова М.И. Степанов В.А. Основные направления и методы селекции корнеплодных растений. Селекция и семеноводство корнеплодных овощных культур: Сб. науч. тр. М., 2005;13-17.
- [Fedorova M.I., Stepanov V.A. The main directions and methods of breeding of root plants. In: Breeding and Seed Production of Root Vegetable Crops. Moscow, 2005;13-17. (in Russian)]
- Chantha S.C., Herman A.C., Platts A.E., Vekemans X., Schoen D.J. Secondary evolution of a self-incompatibility locus in the Brassicaceae genus *Leavenworthia*. PLoS Biol. 2013;11(5). DOI 10.1371/journal.pbio.1001560.
- Chen Q. Meng D., Gu Z., Li W., Yuan H., Duan X., Yang Q., Li Y., Li T. SLFL genes participate in the ubiquitination and degradation reaction of S-RNase in self-compatible peach. Front. Plant Sci. 2018;9:227. DOI 10.3389/fpls.2018.00227.
- Darmency H., Klein E.K., De Garande T.G., Gouyon P.H., Richard-Molard M., Muchembled C. Pollen dispersal in sugar beet production fields. Theor. Appl. Genet. 2009;118(6):1083-1092. DOI 10.1007/s00122-009-0964-y.
- Entani T., Iwano M., Shiba H., Che F.S., Isogai A., Takayama S. Comparative analysis of the self-incompatibility (*S*-) locus region of *Prunus mume*: identification of a pollen-expressed F-box gene with allelic diversity. Genes Cells. 2003;8(3):203-213. DOI 10.1046/j.1365-2443.2003.00626.x.
- Escobedo J., Pedreño M.A., García-Carmona F., Muñoz R. Characterization of the antiradical activity of betalains from *Beta vulgaris* L. roots. Phytochem. Anal. 1998;9(3):124-127. DOI 10.1002/(SICI)1099-1565(199805/06)9:3<124::AID-PCA401>3.0.CO;2-0.
- Footo H.C., Ride J.P., Franklin-Tong V.E., Walker E.A., Lawrence M.J., Franklin F.C. Cloning and expression of a distinctive class of self-incompatibility (*S*) gene from *Papaver rhoeas* L. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1994;91(6):2265-2269. DOI 10.1073/pnas.91.6.2265.
- Knox R.B., Heslop-Harrison J. Pollen wall proteins: localization and enzymatic activity. J. Cell Sci. 1970;6:1-27.
- Kubo K.I., Entani T., Takara A., Wang N., Fields A.M., Hua Z., Toyoda M., Kawashima S.-I., Ando T., Isogai A. Collaborative non-self recognition system in S-RNase-based self-incompatibility. Science. 2010;330(6005):796-799. DOI 10.1126/science.1195243.
- Lewis D., Crowe L.K. Unilateral interspecific incompatibility in flowering plants. Heredity. 1958;2:233-256. DOI 10.1038/hdy.1958.26.
- Lundqvist A., Osterbye V., Larsen K., Ib Linde Laursen. Complex self-incompatibility systems in *Ranunculus acris* L. and *Beta vulgaris* L. Hereditas. 1973;74:161-168.
- Mabry T.J. Betalains. In: Bell E.A., Charlwood B.V. (Eds.). Encyclopedia of Plant Physiology (Secondary Plant Products). Vol. 8. Berlin; Heidelberg; New York: Springer-Verlag, 1980;513-533.
- Magassy I. Recent experimental results on self-incompatibility and self-compatibility in beet (*Beta vulgaris*). Acta Agron. J. 1965;13(3/4):241-262.
- Owen F.V. Inheritance of cross- and self-sterility and self-fertility in *Beta vulgaris* L. J. Agric. Res. 1942;64:679-698.
- Pialetti M. Betalains. Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments. New York: Acad. Press, 1976;1:560.
- Ramanauskas K., Igić B. The evolutionary history of plant T2/S-type ribonucleases. Peer J. 2017;5:3790. DOI 10.7717/peerj.3790.
- Tesoriere L., Allegra M., Butera D., Livrea M.A. Absorption, excretion, and distribution of dietary antioxidant betalains in LDLs: potential health effects of betalains in humans. Am. J. Clin. Nutr. 2004;80(4):941-945. DOI 10.1093/ajcn/80.4.941.
- Yamane H., Ikeda K., Ushijima K., Sassa H., Tao R. A pollen-expressed gene for a novel protein with an F-box motif that is very tightly linked to a gene for S-RNase in two species of cherry, *Prunus cerasus* and *P. avium*. Plant Cell Physiol. 2003;44(7):764-769. DOI 10.1093/pcp/pcg088.

ORCID ID

M.I. Fedorova orcid.org/0000-0002-7533-5185
E.G. Kozar orcid.org/0000-0002-1319-5631
S.A. Vetrova orcid.org/0000-0002-9897-0413
V.A. Zayachkovskiy orcid.org/0000-0001-9821-5381

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 21.09.2018. После доработки 21.03.2019. Принята к публикации 22.03.2019.