

# РАЗРАБОТКА ЭЛЕМЕНТОВ МЕТОДИКИ АПОМИКТИЧЕСКОГО РАЗМНОЖЕНИЯ СЕЛЕКЦИОННО ЦЕННЫХ ОБРАЗЦОВ КАПУСТЫ КОЧАННОЙ

*Кондратенко С.И.<sup>1</sup> – канд. биол. наук, зав. отделом селекции и теоретических основ создания сортов и гибридов овощных культур*

*Чернышенко Т.В.<sup>1</sup> – канд. с.-х. наук, зав. лаб. селекции двулетних культур*

*Артемьева А.М.<sup>2</sup> – ведущий научный сотрудник отдела генетических ресурсов овощных и бахчевых культур ВНИИР, канд. с.-х. наук, куратор коллекции капусты*

<sup>1</sup> Институт овощеводства и бахчеводства НААН Украины  
62478, пос. Селекционное Харьковской обл., Украина  
E-mail: [ovoch-iob@online.ua](mailto:ovoch-iob@online.ua); [kondratenkosi@mail.ru](mailto:kondratenkosi@mail.ru)  
Тел.: +38(057)748-91-91

<sup>2</sup> ГНУ Всероссийский НИИ Растениеводства  
им. Н.И. Вавилова Россельхозакадемии  
РФ, 190000, Санкт-Петербург,  
ул. Большая Морская, 42-44  
E-mail: [a.artemyeva@vir.nw.ru](mailto:a.artemyeva@vir.nw.ru)  
Тел.: +7(812)314-49-18

**Выявлены экзогенные факторы, влияющие на проявление апомиксиса у капусты кочанной. Апомиктическое развитие семенных зародышей было получено у трех сортов капусты белокочанной – Яна, Лазурная и Леся украинской селекции. Удалось индуцировать незавершенный органогенез партеногенетических семян у четырех сортов капусты кочанной. Проявление нерегулярного апомиксиса было вызвано синергическим действием фитогормональных регуляторов и чужеродной пыльцы при условии одновременного нанесения водной смеси гиббереллина и цитокинина на основание пестика, а чужеродной пыльцы (китайской редьки Лоба) – на рыльца пестиков кастрированных бутонов капусты за 2-3 суток до их раскрытия.**

## **Ключевые слова:**

*капуста кочанная, апомиксис, экзогенные факторы.*

## **Введение**

**А**помиксис – природное явление, заключающееся в развитии зародыша из яйцеклетки или другой клетки зародышевого мешка при отсутствии опыления. Такой тип апомиксиса называется партеногезом или апогамией и встречается в природе с достаточно низкой частотой проявления ( $10^{-6}$ ) [1]. В последнее время исследователями предпринимаются попытки индуцировать нерегулярный апомиксис у важнейших сельскохозяйственных растений. К сожалению, у большинства из них почти полностью отсутствует способность к апогамии. Согласно литературным данным у капусты кочанной удалось получить пар-

теногенетические семена после экзогенной обработки неоплодотворенных завязей фитогормонами или их синтетическими аналогами, действие которых заключалось в стимуляции митотического деления и удвоения числа хромосом неоплодотворенных яйцеклеток [2, 3]. Этими же авторами было показано, что на фенотипическое проявление партеногеза в значительной степени влияет генотип растения, фаза развития зародышевого мешка, вид фитогормонов, их весовые соотношения в апомиктическом агенте для обработки и нормы расхода данного агента на одну неоплодотворенную яйцеклетку [2-4]. Учитывая литературные данные, в задачу наших исследований входила эксперимен-

тальная проверка уже предложенных методик индуцирования нерегулярного апомиксиса капусты кочанной и возможная их оптимизация в случае получения отрицательного результата при использовании на наших растительных объектах.

**Материалы и методы**

Для получения апомиктических семян капусты кочанной использовались элементы методик, предложенные в работах [2, 4]. В качестве объектов исследований были использованы семенники капусты белокочанной сортов Лазурная, Лика, Леся, Белоснежка, Яна, Харьковская зимняя и капусты краснокочанной сорта Палета. В опыте изучались семенники капусты на начальном периоде фазы цветения (распускание цветков на главном стебле и осях первого порядка верхнего яруса). Для получения апомиктических семян первоначально проводилась процедура кастрации бутонов полностью сформированных цветков за 2-3 суток до их раскрытия. Кастрированные бутоны обрабатывали модифицированными вариантами апомиктического агента (АГ), в основе которого было обязательное присутствие водной смеси регуляторов роста – гиббереллина (ГК<sub>3</sub>) и цитокинина (БАП) с добавлением других биологически-активных веществ. Перед нанесением АГ у кастрированных бутонов обрабатывали рыльца и пестики 96%-водным раствором этилового спирта для удаления на их поверхности случайно попавшей пыльцы капусты. Затем с помощью микропипетки на основание пестиков наносили 10 мкл АГ. Процедуру кастрации проводили в утренние часы суток (7-10 ч.). Обработанные, таким образом, репродуктивные побеги с кастрированными бутонами изолировали от остальных пергаментными изоляторами до времени полной потери восприимчивости рыльца к пыльце капусты на

8-10 суток. На семенниках, с обработанными АГ бутонами, оставляли стебли, на которых проходило свободное опыление цветков капусты насекомыми. После удаления изоляторов проводили фенологические наблюдения за ростом стручков и формированием апомиктических семенных зародышей в течение всего периода роста семенников до полного вызревания семян капусты, которые образовывались в результате свободного внутрисортного опыления.

**Результаты и их обсуждение**

В 2006 году были начаты исследования по индукции нерегулярного апомиксиса на экспериментальной базе Института овощеводства и бахчеводства НААН. При использовании методических рекомендаций по обработке АГ кастрированных бутонов цветков, предложенных в работах [2, 4], по истечении срока вызревания семенников в наших опытах наблюдали формирование только бессемянных стручков у всех изученных сортов капусты кочанной. Согласно данным вышеуказанных литературных источников на капусте белокочанной удалось получить патреногенетические семе-

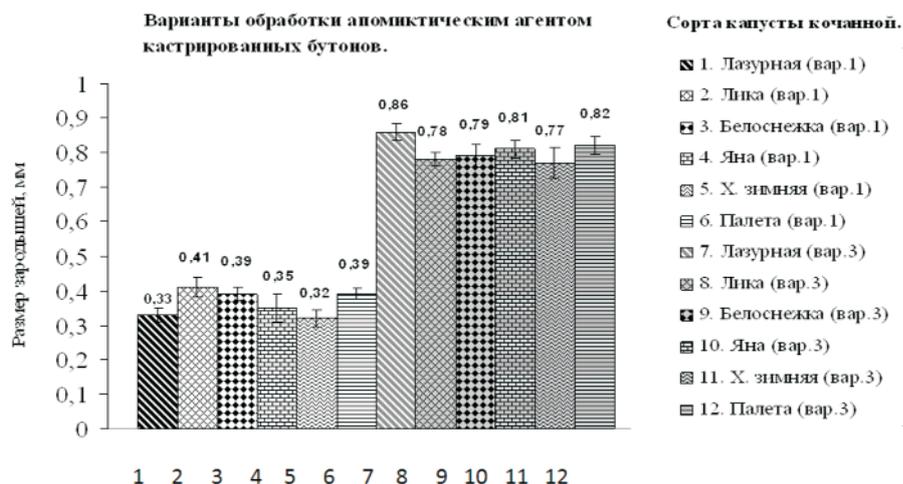
на при обработке АГ, содержащем водный раствор гиббереллина (ГК<sub>3</sub>) [2] или гиббереллина (ГК<sub>3</sub>) и цитокинина (БАП) [4].

В 2007 году были расширены поисковые работы по оптимизации компонентного состава АГ. В отличие от предыдущего года в работе использовали следующие варианты обработки кастрированных бутонов:

- 1) АГ № 1 – водная смесь ГК<sub>3</sub> и БАП (контроль);
- 2) АГ № 2 – водная смесь ГК<sub>3</sub>, БАП и препарата Марс-ЕI;
- 3) АГ № 1 с дополнительным одновременным нанесением на рыльце инородной пыльцы несовместимых с капустой кочанной видов растений семейства крестоцветные;
- 4) АГ № 2 с дополнительным одновременным нанесением на рыльце инородной пыльцы несовместимых с капустой кочанной видов растений семейства крестоцветные.

В результате проведенных исследований были выделены, как наиболее перспективные для дальнейшей работы 3-й и 4-й варианты обработки, при использовании которых был обнаружен эффект кратковременного роста апомиктических семенных

**Рис. 1. Результаты биометрических измерений (в световом поле бинокля) длины 10 рендомизировано отобранных апомиктических зародышей капусты кочанной разных сортов, проведенные в конце периода созревания семенников (данные 2007 года).**



зародышей в стручках всех задействованных в эксперименте сортов генотипов капусты кочанной. После эмпирического перебора был обнаружен вид растения семейства *Brassicaceae* – подвид китайской редьки Лоба (*Convar lobo Sazon*) вида *Raphanus sativus* L., пыльца с которой обеспечивала вышеуказанный прирост. В частности, в наших экспериментах использовали сорт Трояндовая селекции ИОБ НААН вышеуказанного подвида редьки.

На рис. 1 представлены результаты биометрических измерений длины семенных апомиктических зародышей у сортов капусты кочанной, которые были задействованы в 1-м и 3-м вариантах опыта. Из полученных данных следует, что синергическая обработка АГ № 1 и пыльцой редьки Лоба (3-й вариант) стимулирует частичный рост зародышей, увеличивая их размер в 1,8-2 раза, по сравнению с обработкой только АГ № 1 (1-й вариант). На рис. 2 показаны фотографии сформированных стручков с недоразвитыми зародышами, которые были получены во 2-м и 4-м вариантах обработки семенников сорта капусты краснокочанной Палета.

В общем, если использовали для обработки АГ № 1 или АГ № 2 (1-й и 2-й варианты обработки), то при этом наблюдали исключительно партенокарпический рост стручков без роста зародышей. Использование препарата Марс-Е1 в смеси с фитогормональными регуляторами было обусловлено его функциональной особенностью, как пленкообразующего и водоудерживающего вещества для сохранения на более длительное время на поверхности пестика капли водной смеси ГК<sub>3</sub> и БАП [5]. Однако в дальнейших опытах было обнаружено негативное действие данного препарата на органогенез семенных зародышей, поэтому он был исключен из работы.

В 2008 году использовали следу-

ющие варианты обработки кастрированных бутонов:

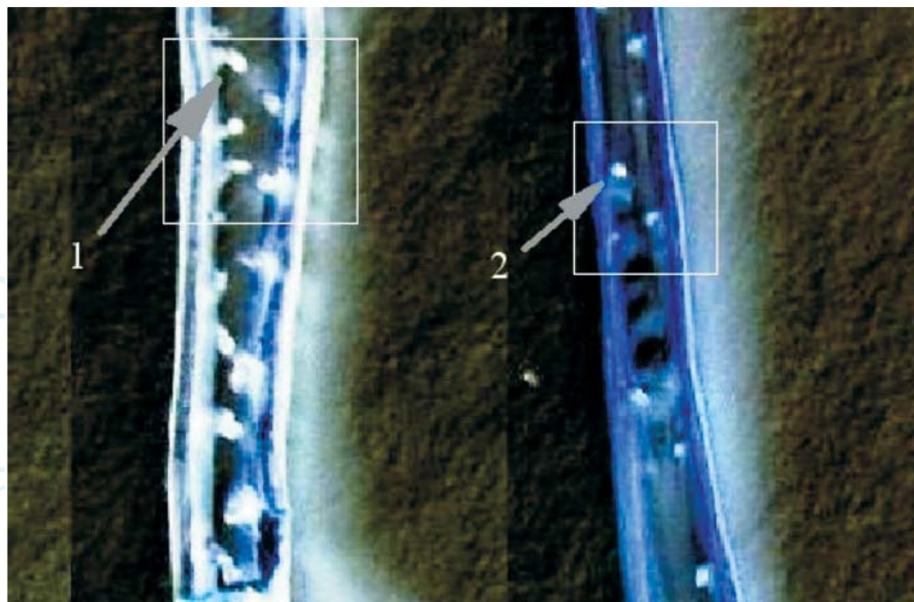
- 1) АГ № 1 – водная смесь ГК<sub>3</sub> и БАП (контроль);
- 2) АГ № 2 – АГ №1 с дополнительным одновременным нанесением на рыльце пыльцы редьки сорта Трояндовая;
- 3) АГ № 3 – водная смесь ГК<sub>3</sub>, БАП и регулятора ДГ-475(12) с дополнительным одновременным нанесением на рыльце пыльцы редьки сорта Трояндовая.

При использовании 1-го варианта обработки мы наблюдали только партенокарпический рост стручков. По результативности выделили 2-й и 3-й варианты обработки. Как и в опыте 2007 года, при применении 2-го варианта у сортов Лика, Белоснежка, Яна, Харьковская зимняя обнаружен эффект кратковременного роста апомиктических зародышей. В отличие от предыдущих лет исследований были увеличены репрезентативные выборки бутонов по каждому сорту капусты кочанной (на одном семеннике 10-15 образцов в

2006-2007 годах и 50-70 образцов в 2008 году). В результате во 2-м варианте обработки у сорта капусты белокочанной Леся было обнаружено формирование апомиктических семян (14 образцов, частота образования 25,6 %) и у сорта Лазурная – 2 образца (частота образования 2,9 %). Применение АГ № 3, также, оказалось эффективным на сорте капусты краснокочанной Палета (прирост семенных зародышей в 3-3,5 раза больший по сравнению с вариантом обработки АГ № 1). Данный экспериментальный факт свидетельствует о довольно существенном влиянии генотипа сорта на фитогормональный состав АГ, обнаружено избирательное позитивное действие на данный сорт капусты препарата ДГ-475 (12), который является химическим соединением, производным пиридина. ДГ-475 (12) ранее использовали мы в опытах по культуре протопластов капусты белокочанной *in vitro*, как регулятор, инициирующий и поддерживающий митотическую активность соматических клеток [6]. Аналогично

**Рис. 2. Временная стимуляция формирования апомиктических зародышей в 4-м варианте и ее отсутствие во 2-м варианте опыта по индукции нерегулярного апомиксиса (растения репродуктивной фазы развития сорта капусты краснокочанной Палета, данные 2007 года):**

- 1) 4-й вариант обработки (нанесение на пестики АГ № 2 и пыльцы дикой редьки на рыльце кастрированных бутонов);
- 2) 2-й вариант обработки (нанесение на пестики АГ № 2).



предыдущим годам исследований, в 2008 году АГ № 1 не обнаружил высокой стимулирующей активности, поэтому в дальнейшем был исключен из работы.

В 2009 году использовали такие же модификации компонентного состава АГ, как и в 2008 году (только 2-й и 3-й варианты обработки). Получены партеногенетические семена сорта капусты белокочанной – Яна (4 семени, частота образования 3,2%). Позитивное регуляторное действие на формирование апомиктических семян имела синергическая обработка кастрированных бутонов АГ №3 и пыльцой растений редьки сорта Трояндовая.

Опыты 2010 года оказались неудачными вследствие неблагоприятных климатических условий, которые сложились в период вызревания семенников капусты. В течение мая-июня месяца были отмечены высокие дневные температуры воздуха до 40°C. При такой высокой температуре пыльца китайской редьки Лоба теряла свою фертильность, что негативно сказалось на завязывании партеногенетических семян капусты кочанной.

Как правило, полностью сформированные партеногенетические семена завязывались в проксимальной части (по отношению к столбику) за-

вязи в количестве 1-2 экземпляров на стручок (рис. 3.). Все апомиктические семена показали 100 % всхожесть в лабораторных условиях при проращивании в чашках Петри на влажных фильтровальных мостиках.

**Рис. 3. Сформированное партеногенетическое семя в проксимальной части завязи (сорт капусты белокочанной Лазурная, опыт 2008 года)**



### Заключение и выводы

В результате проведенных исследований выявлены экзогенные факторы, влияющие на проявление нерегулярного апомиксиса у капусты кочанной. Из семи изученных сортов партеногенетические семена были получены у трех сортов капусты кочанной – Яна, Лазурная и Леся с разной частотой формирования в зависимости от генотипа сорта. Действием экзогенных факторов удалось индуцировать незавершенный органогенез партеногенетических семян у всех остальных сортов капусты кочанной. Проявление нерегулярного апомиксиса было вызвано синергическим воздействием фитогормональных регуляторов и чужеродной пыльцы при условии одновременного нанесения водной смеси гиббереллина и цитокинина на основание пестика, а чужеродной пыльцы (китайской редьки Лоба) – на рыльца пестиков кастрированных бутонов капусты за 2-3 суток до их раскрытия.

### Литература

1. Тырнов В.С. Гаплоидия у растений: научное и прикладное значение // М.:Наука.-1998.-53с.
2. Eenink A.H. Matromorphy in Brassica oleracea L. IV. Formation of homozygous and heterozygous diploid products of gametogenesis and qualitative genetical research on matromorphic plants // Euphytica – 1974. – V. 23. – P. 719-724.
3. Бабицкий А. Эволюция и репродуктивная память // Reports and Abstracts of the VIII Geneticist's and Breeder's Congress of Moldova «Genetics and breeding of Plants, Animals and Microorganisms». – Chishinau (Moldova), 2005. – С 696-701.
4. Способ получения гомозиготных диплоидов сельскохозяйственных культур: Патент. Российская Федерация. А01Н 1/04, А 01Н 43/40, 61/00 / В.Г. Курбатов – № 2035134; Заявл. 23.01.91; Оpubл. 20.05.95, Бюл. № 14.
5. Кондратенко С.И., Чернищенко Т.В., Баштан Н.А., Дульнев П.Г. оценка регуляторного эффекта биологично-активных соединений, производных пиридина и полиэтиленгликоля на вегетирующих растениях капусты белокочанной // овощеводство и бахчеводство. – Харьков: ИОБ УААН. – 2005. – Вып. 50. – С. 342-351.
6. Kondratenko S.I. Effect of plant extract and new synthetical substitutes of phytohormones on plant regeneration from protoplasts of cabbage (Brassica oleracea var. capitata) // Horticulture and Vegetable Growing. – Babtai: Lithuanian Institute of Horticulture. – 2001. – V.20(3), №1. – P. 343-349.