

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГАПЛОИДНЫХ РАСТЕНИЙ ТОМАТА

С. В. ИВАНОВА. Е. В. КУЧКОВСКАЯ

(Кафедра генетики)

Установлены стабильные различия гаплоидов и диплоидов томата сорта Микадо по большинству количественных признаков вегетативной и генеративной сферы растений и большое фенотипическое сходство по качественным признакам (габитусу куста, форме листьев, цветков и плодов). Анализ пыльцы гаплоидных растений показал ее неоднородность по размерам и высокую стерильность. Число хлоропластов в замыкающих клетках устьиц отражает уровень пloidности и может служить косвенным методом диагностики гаплоидных растений.

Явление гаплоидии относится к геномным мутациям и представляет собой уменьшение числа хромосом в 2 раза по отношению к исходному уровню пloidности. Первое гаплоидное растение экспериментально получено у *Datura stramonium* в 1922 г. К настоящему времени гаплоидия описана почти у всех культурных растений. Количество видов, у которых получены гаплоиды, достигает 200. Поскольку у гаплоидов, полученных из диплоидных форм, все гены находятся в одной дозе (гемизиготное состояние), в фенотипе проявляются и рецессивные аллели. Это дает возможность селекционеру оценить и отобрать нужные рекомбинантные генотипы и сравнительно быстро, путем колхицинирования, перевести их в гомозиготное состояние [2, 6–7, 9, 12].

С помощью гаплоидии ставят и решаются также многие задачи теоретического плана: генетический анализ, замещение и добавление хромосом, получение аллоплазматических гибридов и др. Ее используют для преодоления межвидовой несовместимости, кроме того, гаплоидия может быть источником генетической изменчивости, что подтверждают анеуплоиды и транслокации, полученные на основе гаплоидов. Факторами, обеспечивающими эту изменчивость, возможно, являются аномалии мейоза, вызванные отсутствием половинного набора хромосом, типичного для диплоида [3, 10, 11, 14].

Для распознавания и выявления гаплоидов используют разные методы диагностики [5, 13]. Цитологический анализ является прямым методом определения

плоидности. Он дает точные результаты, но трудоемкий и требует высокой квалификации [8]. Сравнительное изучение гаплоидных и диплоидных растений разных культур, проведенное многими исследователями, позволило выделить признаки, по которым эти два уровня плоидности четко отличаются друг от друга. Среди них анатомические признаки: число устьиц, размеры устьиц, материнских клеток пыльцы, соматических клеток, крахмальных зерен [11–12].

Цель нашего исследования — определить стабильность плоидности и морфометрических показателей вегетативных и генеративных частей растений в процессе онтогенеза и при размножении; оценить рекомбинационные процессы в мейозе у гаплоидов по результатам гибридологического анализа F_1 и F_2 от скрещивания с диплоидными формами, маркированными рецессивными генами 12 хромосом.

Методика

В опытной теплице Тимирязевской сельскохозяйственной академии на кафедре генетики велась работа по изучению некоторых особенностей вегетативной сферы гаплоидов томата, мейоза. Гаплоиды томата получены на основе сорта Микадо профессором В. С. Тырновым. Размножаются путем черенкования. Растения выращивали в сосудах с землей (6 л) в теплице, зимой при искусственном досвечивании и обогреве калорифером, поддерживающим температуру 18° С.

В качестве контроля использовали диплоидные растения сорта

Микадо. Сравнительное изучение гаплоидных и диплоидных растений проводилось по морфологическим признакам вегетативных частей и генеративной сферы. Изучали следующие показатели: высоту растений, число листьев, количество листьев на главном побеге, число боковых побегов, размеры замыкающих клеток устьиц и число хлоропластов в них. Для характеристики генеративной сферы определяли: число и размеры компонентов цветка (чашелистиков, лепестков, тычинок и пестиков), фертильность пыльцы, ее размеры и количество (пыльцевая продуктивность) в одном пыльнике.

Генеративную сферу исследовали по следующей схеме: у 6 растений гаплоидов и 6 растений диплоидов отбирали каждый первый цветок из первых 3 кистей. При изучении устьичного аппарата брали по 3 высеки с 1-, 3- и 5-го листьев у 3 растений гаплоидов и 3 растений диплоидов. С каждого листа высеки фиксировали отдельно. Затем под микроскопом проводили измерение размеров замыкающих клеток устьиц (длину и ширину), а также подсчитывали в них число хлоропластов.

Фертильность пыльцы определяли ацетокарминовым методом на свежем материале. Пыльник клали на предметное стекло и раздавливали его в капле ацетокармина, затем удаляли ткани пыльника, накрывали покровным стеклом и осторожно прогревали на спиртовке, после этого просматривали под микроскопом. Фертильными считаются пыльцевые зерна, равномерно окрашенные в розовый цвет. Стерильные

пыльцевые зерна не окрашиваются ацетокармином или их окраска неравномерна, содержимое их отходит от оболочки и послынная сморщена. Из каждого пыльника для определения фертильности просматривали 300 зерен пыльцы.

На том же препарате, где определяли фертильность, проводили замеры диаметра пыльцевых зерен. Для этого использовали микроскоп и окуляр микрометр. Диаметр измеряли у 50 пыльцевых зерен. Затем значения усредняли и умножали на 2,9 для перевода величины из размерности окуляр-микрометра в мкм. Для гаплоидов находили средневзвешенные значения диаметра, учитывая фертильность.

Методика фиксации высечек на устьичный анализ

Отбор высечек можно проводить в любое время. Высечки диаметром 5 мм заливают ледяной уксусной кислотой и оставляют на сутки, затем уксусную кислоту сливают и добавляют смесь, состоящую из одной части спирта и одной части уксусной кислоты, в которой выдерживают высечки примерно 1 ч. Затем их промывают 2 раза 70% спиртом. Хранят высечки в 70% спирте. Перед анализом высечки на несколько минут заливают раствором йода прямо на предметном стекле. Нижняя сторона эпидермиса должна быть сверху. Хлоропласты при этом окрашиваются в черный цвет и хорошо различимы при объективе 40х.

Пыльцевую продуктивность устанавливали по методике определения пыльцеобразующей способности у томатов [4].

Для выявления влияния плоидности на женские гаметы проводили скрещивание гаплоидов сорта Микадо с 7 диплоидными линиями, маркированными по всем 12 хромосомам.

Гибриды выращивали на стеллаже до созревания всех плодов. Анализ F_1 проводили отдельно по каждому растению. Он включал в себя: подсчет числа хромосом, описание вегетативной и генеративной сферы, определение фертильности пыльцы и характеристику плодов (размер, массу, количество камер и семян в плоде).

Весной 1998 г. семена с гибридов F_1 были высеяны на стеллаже для проведения гибридологического анализа. Последний проводили на стадии сеянцев (2–3 настоящих листа).

Результаты и их обсуждение.

Морфологические признаки вегетативных и генеративных частей

По морфологическим признакам гаплоидные растения не отличались от исходного сорта Микадо. В различных вегетативных поколениях сохранились рецессивная мутация «с» (картофельный лист), сложная кисть, фасциированные цветки, плоды, частично сросшиеся доли листа.

Эти признаки проявлялись и в осенних и в весенне-летних условиях вегетации, поэтому можно говорить о том, что они стабильны и для их реализации достаточно одной дозы генов, содержащихся в гаплоидном наборе хромосом (фото 1, 2). Однако высота растений, общее количество листьев, их величина были



Фото 1. Гаплоидное и диплоидное растение томата сорта Микадо.

меньше, чем у гаплоидов, что связано с аддитивным действием генов, определяющих эти признаки. Данные табл. 1 позволяют заключить, что количество и ли-

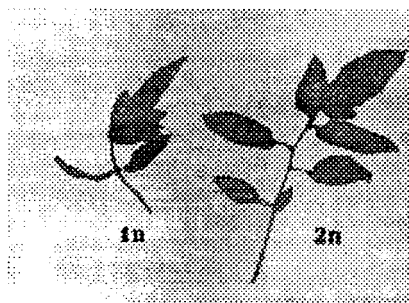


Фото 2. Третий лист у гаплоидов томата.

нейные размеры частей цветка не имели по кистям достоверных различий как на гаплоидном, так и на диплоидном уровне пloidности.

Таблица 1

Характеристика генеративной сферы гаплоидов и диплоидов томата (1997 г.)

Пloidность	№ кисти	Число			Длина, мм				Количество пыльцы (1 н)
		чашелистиков	лепестков	тычинок	чашелистиков	лепестков	тычинок	пестика	
1n	I	13,7	12,8	20,1	12,2	8,1	4,8	8,0	17800
	II	12,5	12,0	20,3	12,8	11,7	6,1	8,8	23300
	III	13,5	15,7	27,7	10,8	8,8	5,8	7,7	19200
X _{ср}		13,23	13,5	22,7	11,9	9,5	5,6	8,2	20100
		8-21	9-21	10-38	9-16	5-15	4-7	4-10	8800-31600
2n	I	10,5	11,7	13,0	15,3	11,5	7,5	10,0	28500
	II	10,0	10,1	13,0	16,2	13,0	8,6	10,6	28700
	III	12,5	14,0	17,5	15,2	13,3	8,0	10,3	21300
X _{ср}		11,0	11,9	14,8	15,6	12,6	8,0	10,3	26167
		7-14	7-17	10-21	11-24	9-17	5-9	9-12	16300-37400

Из табл. 2 видна высокая степень фасциации цветков. Если у большинства форм и сортов томата цветки имеют 5-6 лепестков, чашелистиков и тычинок, то у сорта Микадо эти показатели значительно выше за счет срастания пестиков и объединения в одном цветке нескольких.

У гаплоидных растений степень фасциации еще выше. Максимальное количество тычинок в одном цветке достигает 42, что соответствует, примерно, 7 цветкам. Результат такого объединения хорошо виден и на плодах (фото 3, 4).

Характеристика цветка гаплоидов и диплоидов томата сорта Микадо (1995-1997 гг.)

Год изучения	Плоидность	Число			Длина, мм				Количество пыльцы (1п)
		чашелистиков	лепестков	тычинок	чашелистиков	лепестков	тычинок	пестика	
1995	1n	12,2	13,6	21,5	10,2	13,1	6,5	9,8	27716
		6-18	8-20	8-12	5-15	5-17	4-8	8-12	14580-30500
	2n	8,6	9,6	8,6	17,0	19,3	9,3	12,6	37435
		8-10	8-11	6-12	13-20	18-20	8-10	12-13	21000-53500
1996	1n	12,1	13,1	18,7	10,1	10,5	7,3	9,0	24186
		8-21	8-23	8-34	5-14	8-14	5-9	7-11	20087-27750
	2n	12,5	15,7	21,0	13,2	12,8	9,0	10,2	27770
		8-16	9-25	11-30	6-21	10-17	8-10	9-12	22942-31556
1997	1n	13,2	13,5	22,7	11,9	9,5	5,6	8,2	20100
		8-21	9-21	10-38	9-16	5-15	4-7	4-10	8800-31600
	2n	11,0	11,9	14,8	15,6	12,6	8,0	10,3	26167
		7-14	4-17	10-21	11-24	9-17	5-9	9-12	16300-37400

Однако количество частей цветка не является постоянным признаком. Это хорошо заметно при сравнении средних значений гаплоида и диплоида (табл. 2): в 1995 и 1997 гг. более фасцированными оказались гаплоиды, а в 1996 г. — наоборот.

Что же касается линейных размеров цветка, то здесь прослеживается более четкая закономер-

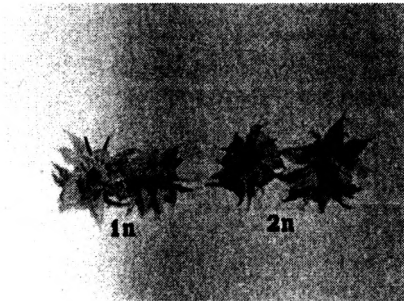


Фото 3. Фасциация цветков гаплоидных и диплоидных растений томата.

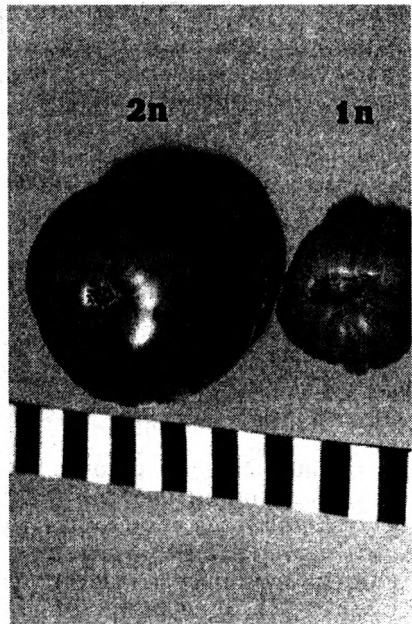


Фото 4. Плоды у гаплоидов и диплоидов.

ность: у гаплоидов они в среднем на 30% меньше, чем у диплоидов. Это может служить подтверждением известных данных об уменьшении линейных размеров растений при переходе на гаплоидный уровень.

Характеристика пыльцевых зерен

Для характеристики пыльцы гаплоидов томата определяли диаметр пыльцевых зерен и фертильность (табл. 3 и 4). Результаты анализа позволяют заключить, что диаметр фертильной пыльцы гаплоидов и диплоидов

одинаков и не имеет существенных различий по кистям. Незначительное увеличение диаметра пыльцы у гаплоидов от 1-й кисти к 3-й, вероятно, связано с постепенным улучшением условий формирования и развития анализируемых цветков, а значит, и пыльцы (см. табл. 3).

Важно отметить, что у гаплоидов преобладают стерильные зерна с меньшим диаметром и поэтому средневзвешенный диаметр пыльцевых зерен у них значительно меньше, чем у диплоидов. И эти различия были постоянны в течение 3 лет исследований (табл. 4).

Таблица 3

Характеристика пыльцы гаплоидов и диплоидов томата (1997 г.)

Плоидность	№ кисти	Диаметр пыльцы, мкм	Фертильность, %
1n	I	ф. 24,07; ст. 13,2	11,56
	II	ф. 24,94; ст. 14,2	12,04
	III	ф. 25,23; ст. 15,8	12,68
X _{ср}		15,2 (11,7–29,0)	8,0 (1,6–33)
2n	I	ф. 24,07	79,18
	II	ф. 24,48	85,04
	III	ф. 23,80	83,48
X _{ср}		23,1 (14–27)	91,7 (57–97)

Таблица 4

Характеристика пыльцы гаплоидов (числитель) и диплоидов (знаменатель) томата (1995–1997 гг.)

Год изучения	Диаметр пыльцы, мкм	1n/2n	Фертильность, %	1n/2n
1995	<u>17,1 (8,7–23,1)</u>	0,7	<u>9,0 (0–29)</u>	0,097
	23,0 (14,5–28,9)		93,0 (92–95)	
1996	<u>17,0 (15,3–23,2)</u>	0,7	<u>7,4 (2,2–14)</u>	0,098
	24,1 (15,0–24,9)		75,2 (50–95,8)	
1997	<u>15,2 (11,7–29,0)</u>	0,7	<u>8,0 (1,6–33)</u>	0,087
	23,1 (14,0–27,0)		91,7 (57–96,5)	

По пыльцевой продуктивности одного пыльника гаплоиды и диплоиды почти не различаются (см. табл. 2).

Показатель фертильности у гаплоидов значительно ниже, чем у диплоидов (табл. 4). Однако, если исходить из общепринятого мнения, что фертильными мужские гаметы могут быть только при зуплоидном наборе хромосом, то процент фертильных пыльцевых зерен у гаплоидов выше, чем можно ожидать от нередуцированных гамет (5×10^{-5}). По-видимому, его фактический уровень определяется формированием в мейозе большого количества диад и отдельных монад, обеспечивающих завязывание небольшого количества семян и у гаплоидов.

Характеристика устьичного аппарата гаплоидов томата

В опытах 1995 г. на сравнительно небольшом экспериментальном материале были получены данные по устьичному аппарату гаплоидов: число хлоропластов в замыкающих клетках устьиц было в 2 раза меньше, чем в по-

добных структурах диплоидов, существенно различались и размеры замыкающих клеток.

В 1996 г. было проведено изучение этих показателей у диплоидов и гаплоидов по расширенной программе. Проанализированы листья 3 ярусов каждого растения. Из табл. 5 и 6 видно, что размеры замыкающих клеток устьиц и число хлоропластов в них у гаплоидов значительно меньше, чем у диплоидов. Средние значения этих показателей по ярусам листьев и по растениям в пределах гаплоидной группы очень близкие. То же самое можно сказать и о диплоидах.

Наиболее просто из этих показателей определяется число хлоропластов в замыкающих клетках устьиц. Различия между гаплоидами и диплоидами существенны, на высоком уровне значимости, независимо от того, с какого листа берется проба. В связи с этим в 1997 г. исследования были продолжены, в которых изучалось только количество хлоропластов в замыкающих клетках устьиц (табл. 7—9). Метод подсчета числа хлоропластов настолько прост, что его может

Таблица 5

Характеристика устьичного аппарата диплоидов томата (1996 г.), (ед. окуляр-микрометра)

№ растения	Д	Ш	Х	Площадь
1	9,6±0,2	6,3±0,3	11,5±0,4	36,3
2	9,1±0,3	6,1±0,3	10,7±0,5	33,3
3	9,0±0,1	6,0±0,2	10,3±0,3	32,4
Средние по растениям	9,2	6,1	10,8	34,0
Средние, мкм	26,7	17,7	10,8	283,5

Здесь и в табл. 6 Д — длина, Ш — ширина, Х — число хлоропластов, шт.

Характеристика устьичного аппарата гайлоидов томата (1996 г.)

№ растения	1-й лист			2-й лист			3-й лист			Среднее по растениям		
	Д	Ш	Х	Д	Ш	Х	Д	Ш	Х	Д	Ш	Х
1	8,0±0,2	6,0±1	6,0±0,1	6,3±0,3	4,9±0,2	8,3±0,3	6,9±0,2	5,7±0,1	6,3±0,2	7,0	5,5	6,3
2	6,0±0,3	5,2±0,2	7,0±0,1	7,2±0,3	4,4±0,2	6,3±0,3	7,1±0,2	6,3±0,2	6,3±0,2	6,8	5,3	6,6
3	6,2±0,2	5,0±0,1	7,0±0,1	7,2±0,1	4,4±0,1	6,7±0,2	8,1±0,3	5,0±0,2	8,0±0,3	7,2	4,8	6,9
4	7,7±0,2	6,3±0,2	8,3±0,3	6,6±0,2	4,7±0,1	5,8±0,2	6,5±0,2	5,4±0,2	7,0±0,3	7,2	4,8	6,9
Среднее по листу:												
ед. ок.-микро-метра	6,9	5,6	7,0	6,9	4,8	6,5	7,1	5,6	6,9	7,0	5,3	6,6
мкм	20,0	16,2	7,0	20,0	13,9	6,5	20,1	16,2	6,9	20,0	15,4	6,6
Площадь, мкм ²		208,3			166,8			209,0			184,8	
V, %										14,6	17,5	19,6

Число хлоропластов в замыкающих клетках устьиц гаплоидов
и диплоидов томата в 1-, 3-, 5-м листьях (1997 г.)

Число хлоропластов	Количество клеток							
	Гаплоиды				Диплоиды			
	1	3	5	всего	1	3	5	всего
2	—	—	2	2	—	—	—	—
3	—	—	1	1	—	—	—	—
4	5	10	26	41	—	—	—	—
5	6	33	24	63	—	2	2	4
6	44	63	112	219	—	6	2	8
7	24	32	54	110	3	6	—	9
8	61	37	122	220	27	32	42	101
9	8	11	21	40	19	21	19	59
10	10	10	22	42	72	67	46	185
11	—	3	5	8	18	91	17	46
12	2	1	3	6	78	92	34	204
13	—	1	1	2	7	10	6	23
14	—	—	—	—	16	29	12	57
15	—	—	—	—	1	1	10	12
16	—	—	—	—	1	4	6	11
17	—	—	—	—	1	1	10	12
18	—	—	—	—	1	1	8	10
Среднее	7,3	6,8	7,0	7,0	10,8	10,9	11,1	11,0

Таблица 8

Сравнительная характеристика устьичного аппарата гаплоидов
и диплоидов томата (1995-1997 гг.)

Год изучения	Плоидность	Размер замыкающих клеток устьиц, мкм		Число хлоропластов в замыкающих клетках устьиц, шт.	1n/2n
		длина	ширина		
1995	1n	14,5	11,6	6,0	0,5
	2n	26,0	17,3	12,0	
1996	1n	20,3	14,6	6,8	0,6
	2n	25,8	17,1	10,8	
1997	1n	—	—	7,0	0,6
	2n	—	—	11,0	

провести любой человек, владеющий микротехникой, и он позволяет получить достаточно точные данные. Этим методом можно про-

верить плоидность на ранних этапах онтогенеза, что дает основание рекомендовать его как косвенный метод диагностики гаплоидов.

Сравнительная характеристика гаплоидов
и диплоидов томата сорта Микадо

Показатель	Год	Плоидность		1n/2n	
		1n	2n		
Пыльца, мкм	1995	17,05	23,0	0,7	
	1996	16,6	23,2	0,7	
	1997	15,2	23,1	0,7	
Количество пыльцы	1995	21716	37435	0,6	
	1996	24186	27770	0,9	
	1997	20100	26167	0,8	
Фертильность, %	1995	9,0	93,0	0,097	
	1996	7,4	75,2	0,098	
	1997	8,0	91,7	0,087	
Размер замыкаю- щих клеток устьиц, мкм:	длина	1996	14,5	26,0	0,6
		1997	20,3	25,8	0,8
	ширина	1995	11,6	17,3	0,7
		1996	14,6	17,1	0,9
	Число хлоро- пластов, шт.	1995	6,0	12,0	0,5
		1996	6,8	10,8	0,6
1997		7,1	11,0	0,6	

Анализ гибридов F_1

Известно, что мужские гаметы фертильны только при нормальном наборе хромосом. Для выяснения уровня хромосом, при котором женские гаметы фертильны, мы провели опыление гаплоидов маркерными линиями, содержащими рецессивные гены в разных хромосомах. Предполагали, что женские гаметы могут быть анеуплоидными, тогда соответствующие гены отца в F_1 должны проявляться как гемизиготные.

В скрещивании принимали участие Мо 657 (yg-2, alb, rvt, gs, c), Мо 378 (d, a, l, c), Мо 638 (v-2, clau, c, a, u, y, r, gs, gf), Мо 328 (a, lut, c), Мо 940 (d, c, a, l, r, y), Мо 634 (per, fla, c, r, l, alb), Мо 656 (yg-2, d, c, m-2, a, y, wf, at, sp, u).

Было опылено 500 цветков гаплоидных растений Микадо, завязалось 137 семян, из них всхожими оказалось 90, дали плоды 69. Среди погибших, возможно, были анеуплоидные растения, так как последние обладают более низкой жизнеспособностью (табл. 10). Удалось подсчитать хромосомы в корешках у 30 растений ($2n=24$).

Среди выживших растений одно в комбинации $1n \times Mo$ 634 дало желтые плоды. К сожалению, число хромосом у него определить не удалось. По-видимому, здесь скорее всего моносомик по 3-й хромосоме, так как ген r (желтая окраска плода) находится в 3-й хромосоме. Не исключена и сегментальная делеция (фото 5). Других рецессивных признаков мы не наблюдали, но растения

Анализ данных по количеству растений F_1

Комбинация	Количество посеянных семян	Количество полученных растений	Количество растений, давших плоды
1n×Mo 328	6	2	1
1n×Mo 378	14	11	10
1n×Mo 634	17	11	6
1n×Mo 638	46	28	14
1n×Mo 656	8	5	5
1n×Mo 657	36	26	26
1n×Mo 940	12	7	7
1n (самоопыление)	14	9	8

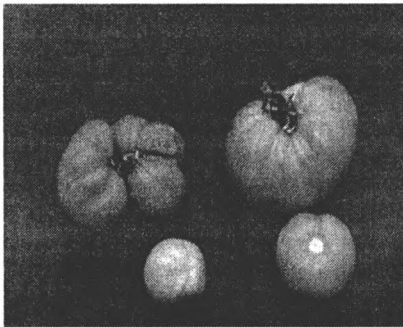


Фото 5. Плод гаплоида (слева вверху), плоды гибрида 1n×Mo 634 (справа вверху и внизу).

в каждой комбинации были неоднородные (табл. 11).

Растения гибридов F_1 по высоте превосходили мутантные линии и материнские линии гаплоида (эффект гетерозиса). У всех растений наблюдается картофельный лист (ген *c* есть и у матери и у отца). Строение кисти у комбинаций 1n×Mo 940, 1n×Mo 656, 1n×Mo 638, 1n×Mo 378, 1n×Mo 638 сложное, у комбинации 1n×Mo 657 простое, кисть идентична мутантной линии Mo 657. У сорта Микадо кисть сложная. По форме

Таблица 11

Средние значения признаков плодов томата F_1 от скрещивания гаплоидов с маркерными линиями

Комбинация	Число растений F_1	Масса одного плода, г	Диаметр плода, см	Количество камер, шт.
1n×Mo 656	5	31,0 (22–43)	3,4 (3,8–4,8)	6,6 (5–9)
1n×Mo 940	7	25,9 (16–33)	3,8 (3,2–4,3)	4,4 (4–5)
1n×Mo 638	14	19,8 (13–38)	3,5 (2,3–4,7)	4,1 (2–6)
1n×Mo 378	10	18,9 (10–27)	3,4 (2,6–4,1)	3,6 (2–5)
1n×Mo 657	26	8,2 (5–19)	2,4 (1,8–3,6)	3,0 (3–4)
1n×Mo 634	4	50,0 (14–120)	4,8 (3,3–6,9)	7,0 (3–15)
1n	8	31,3 (23–68)	4,2 (3,7–7,1)	8,4 (4–16)
2n Микадо (самоопыление)	3	55,5 (42–66)	5,4 (4,9–5,9)	8,3 (7–10)

плодов гибриды отличаются большим разнообразием.

Плод материнского гаплоидного растения округло-плоский, плохо выполнен, многокамерный. Плоды мутантных линий мелкие, округлые, многокамерные.

Плоды гибридов F_1 среднего размера, выполненные, количество камер варьирует. Размах варьирования зависит от мутантной линии. У комбинации $1n \times Mo$ 657 и $1n \times Mo$ 378 количество камер 3–4 и 2–5. Самые мелкие плоды в комбинации $1n \times Mo$ 657 от 5 до 19 г. У сорта Микадо плоды довольно крупные (от 42 до 66 г и больше), хорошо выполнены, округло-плоские, многокамерные (фото 6).

Анализ расщепления F_2

Анализ расщепления гибридов F_2 был проведен по генам,

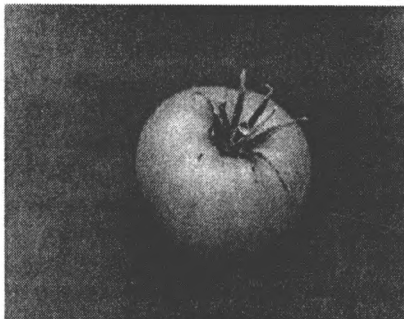


Фото 6. Плод диплоидного растения Микадо.

проявляющимся на стадии проростков. Он показал, что наследование маркерных признаков идет в соответствии с законами Менделя (моногибридное расщепление 3:1, дигибридное расщепление 9:3:3:1). В качестве примера приводим данные в табл. 12.

Таблица 12

Анализ расщепления при помощи χ^2

Фенотипические классы	Ожидаемая доля	Численность факт., p	Численность теор., q	Отклонение $d=p-q$	d^2_i	$d^2/q, \chi^2$
D-	3	143	146	3	9	0,06
dd	1	52	49	-3	9	0,18
Сумма	4	195	195	0	0	0,24
A-	3	154	146	8	64	0,43
aa	1	41	49	-8	64	1,3
Сумма	4	195	195	0	0	1,73
Rvt-	3	116	120	-4	16	0,13
rvt rvt	1	44	40	4	16	0,39
Сумма	4	160	160	0	-	0,52
Yg-2-	3	119	120	-1	1	0,008
yg-2 yg-2	1	41	40	1	1	0,024
Сумма	4	160	160	0	-	0,03
Rvt- Yg-2	9	81	90	-9	81	0,9
Rvt- yg-2 yg-2	3	38	30	8	64	2,1
rvt rvt Yg-2-	3	35	30	5	25	0,78
rvt rvt yg-2 yg-2	1	6	10	-4	16	1,6
Сумма	16	160	160	0	-	5,4

$\chi^2_{теор.} = 3,84$ при $P_{0,05}$, число степеней свободы равно 1.

$\chi^2_{теор.} = 7,81$ при $P_{0,05}$, число степеней свободы равно 3.

По всем парам маркерных признаков, гены которых локализованы в разных хромосомах, наблюдается свободное комбинирование. Влияния гаплоидии на рекомбинаогенез на хромосомном уровне не обнаружено. Квазисцепление не наблюдалось.

Выводы

1. Гаплоидные растения сорта Микадо проявляют высокое фенотипическое сходство с исходными диплоидными родителями, так что для реализации качественных признаков, по-видимому, достаточно одинарного набора хромосом.

2. По большинству количественных признаков вегетативной и генеративной сферы гаплоиды значительно уступают диплоидам. Степень уменьшения различна по признакам.

3. В результате нарушения в мейозе пыльца у гаплоидов сильно варьирует по размерам и в основном стерильна. Ацетокарминовым методом выявляется более высокий процент фертильных растений у гаплоидов, чем можно предположить исходя из частоты нередуцированных гамет. По-видимому, это связано с появлением пыльцевых зерен из диад, образованных в результате совмещения I и II делений мейоза.

4. Число хлоропластов в замыкающих клетках устьиц четко отражает уровень пloidности, благодаря чему можно проверять пloidность на ранних этапах онтогенеза, что может служить косвенным методом диагностики гаплоидов. По сравнению с дру-

гими косвенными методами (например, по размеру пыльцы, клеток) он более надежен и прост.

5. Полученный желтый плод в комбинации $1n \times 634$ позволяет предположить образование анеуплоида (моносомика по 3-й хромосоме), так как ген *r* (желтая окраска плода) находится в 3-й хромосоме.

6. Наблюдается свободное комбинирование маркерных генов (*per*, *fla*, *m-2*, *d*, *v-2*, *l*, *a*, *rvt*, *yg-2*, *lut*, *alb*). Экспрессивность генов нормальная. Квазисцепления не обнаружено.

7. Отрицательного влияния гаплоидии на частоту образования жизнеспособных гамет и зигот у гибридов F_1 не обнаружено.

ЛИТЕРАТУРА

1. Богданов Ю. Ф., Гришаева Т. М., Коломиец О. Л. и др. Цитогенетические закономерности синхронизации мейотических хромосом у животных и растений. — Генетика, 1996, т. 32, № 11, с. 1474–1493. — 2. Гареев М. Е. Экспериментальная гапло- и полиплоидия томатов. Автореф. канд. дис. М.: ИОГЕН АН СССР, 1973. — 3. Дворянкина А. Г. Гаплоидия у клещевины как метод создания гомозиготных форм в целях селекции. Автореф. канд. дис. Краснодар, Кубан, СХИ, 1972. — 4. Иванова С. В., Долгодворова Л. И., Кирицова М. В. Цитогенетическая характеристика мейотантов томата. — Изв. ТСХА, 1996, вып. № 3, с. 54–63. — 5. Кириллова Г. А. Получение индуцированных мутаций у томата путем использования гаплоидных

форм. Автореф. канд. дис. Л.: ЛГУ, 1996. — 6. *Лаптев Ю. П.* Гетероплоидия в селекции растений. М.: Колос, 1984. — 7. *Ницше В., Венцель Г.* Гаплоиды в селекции растений. М.: Колос, 1980. — 8. *Слива Н. Ю.* Разработки лабораторных технологий получения андрогенных растений белокачанной капусты с использованием культуры пыльников. Автореф. канд. дис. М.: 1992. — 9. *Соколов В. А., Шумный В. К.* Результаты и перспективы использования гаплоидов в генетике и селекции растений. — Вавиловское наследие в современной био-

логии. М.: Наука, 1989, с. 247–269. — 10. *Тырнов В. С.* Генетическое исследование гаплоидии у кукурузы. Автореф. канд. дис. Саратов. ун-тет, 1970. — 11. *Хохлов С. С., Гришина Е. В. и др.* Гаплоидия у покрытосеменных растений. Изд-во Саратов. ун-та, 1970, ч. 1. — 12. *Хохлов С. С., Тырнов В. С., Гришина Е. В. и др.* Гаплоидия и селекция. М.: Наука, 1976. — 13. *Chase S. S.* Bot. Rev., 1969, vol. 35, № 2, p. 161–167. — 14. *Melsher G. Z.* Pflanzenzucht, 1972, Bd 67, N 1, S. 19–32.

*Статья поступила 18 мая
1999 г.*

SUMMARY

Stable differences of haploids and diploids in Mikado variety of tomato in most quantitative characters of vegetative and generative sphere of plants and great phenotypic resemblance in qualitative characters (habitus of bush, shape of leaves, flowers, fruits) have been ascertained. Analysis of pollen of haploid plants has shown its nonuniformity in size and high sterility. The number of chloroplasts in guard cells of stoma shows the level of fruitfulness and may be an indirect method of diagnostics of haploid plants.