ISSN 2410-1303 (online)
Новітні агротехнології, 2024, Т. 12, № 2
doi: 10.47414/na.12.2.2024.305033

УДК 633.63:631.52

Перспективи використання апозиготичного способу репродукції насіння для створення нових гібридів буряків цукрових

М. В. Роїк[1], Н. С. Ковальчук[1]*, О. А. Зінченко[1], В. М. Сінченко[1], Н. С. Бех[1], Я. В. Манзюк[1], Л. Г. Федорощак[2], В. І. Власюк[3]

*[1]Інститут біоенергетичних культур і цукрових буряків (ІБКіЦБ) НААН України, вул. Клінічна, 25, м. Київ, 03110, Україна, *e-mail: natalakovalcuk461@gmail.com*
[2]Ялтушківська дослідно-селекційна станція ІБКіЦБ НААН, с. Черешневе, Барський р-н, Вінницька обл., 23021, Україна
[3]Веселоподільська дослідно-селекційна станція ІБКіЦБ НААН, с. Вереміївка, Семенівський р-н, Полтавська обл., 38250, Україна

Мета. Дослідження теоретичних основ материнського способу репродукції насіння у буряків цукрових при апозиготії для розширення генофонду пилкостерильних ліній, стабілізованих за роздільноквітковістю і стерильністю, вивчення основ феномену високої саморепродукції насіння у заміщених ліній на основі нової гермоплазми диких видів роду *Beta* L. **Методи.** Селекційні – добір масовий та індивідуальний, за роздільноквітковістю, фенотиповими ознаками ядерних генів ЦЧС; цитогенетичні – метод флюорисцентної цитофотометрії з використанням аналізатора плоїдності АП «Partec» для встановлення зв'язку міксоплоїдії клітинних популяцій з репродуктивними ознаками при апозиготії. **Результати.** Розроблено генетичні моделі нових гібридів і створені роздільноквіткові, пилкостерильні, гомозиготні лінії, ідентифіковані за генеративним редукованим партеногенезом. Апозиготичні лінії з різною зародковою плазмою, стабілізовані за рівнем геному із 100 % стерильністю, впроваджуються у селекційний процес буряків цукрових у 2016–2023 рр. Встановлено феномен високої саморепродукції насіння і виділено лінія на основі нової гермоплазми *B. patula* за селекційним номером 19-011 А1 з високим зав'язуванням апозиготичного насіння від 68,8 до 96 %. Досліджується питання про використання апозиготичних ліній з новою зародковою плазмою для створення експериментальних гібридів буряків цукрових із скороченням трудомісткої ланки, селекції закріплювачів стерильності. **Висновки.** Обґрунтовано основні теоретичні підходи і вказано на практичні рішення застосування в селекційному процесі буряків цукрових нового апоміктичного способу репродукції насіння пилкостерильних ліній для спрощення схеми селекції, що визначається посівними якостями насіння, продуктивними властивостями насінників, методами диференціації і добору за типами апозиготії, завдяки яким можливе відтворення та копіювання материнських компонентів або отримання нового гомозиготного матеріалу.

Ключові слова: *апоміксис (апозиготія); алоплазматичні лінії; Beta maritima; Beta patula; аналізатор плоїдності АП «Partec»; зародкові мішки; роздільноквітковість; фенотипи ЦЧС*.

Вступ

Сучасний етап селекції буряків цукрових визначається високою інтенсивністю і швидкою зміною гібридів у виробництві. У зв'язку з цим на перший план виходить необхідність розробки методів, які скорочують довготривалі етапи селекційного процесу, такі як перехід ліній на ЦЧС, створення закріплювачів стерильності. В Інституті біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН були розпочаті дослідження з експериментального отримання апозиготних потомств не шляхом передачі ознаки апозиготії від диких видів до культурних буряків, а методом безпилкового способу репродукції під груповими ізоляторами і на ізольованих ділянках Ялтушківської ДСС [1].

Роїк М. В., Ковальчук Н. С., Зінченко О. А., Сінченко В. М., Бех Н. С., Манзюк Я. В., Федорощак Л. Г., Власюк В. І. Перспективи використання апозиготичного способу репродукції насіння для створення нових гібридів буряків цукрових. *Новітні агротехнології*. 2024. Т. 12, № 2. https://doi.org/10.47414/na.12.2.2024.305033

Дослідниками з апозиготії у буряків цукрових встановлено, що насіннєві потомства від апозиготичної репродукції представлені як гаплоїдним, так і дигаплоїдним насінням [2]. У них спостерігається автосегрегація за маркерними ознаками забарвлення гіпокотелю роздільноквітковістю і стерильністю [3]. У такому разі зародок утворюється із клітин зародкового мішка або із клітин нуцелусу. Апозиготична репродукція насіння у диплоїдних рослин базується на міксоплоїдності соматичних клітин буряків цукрових [4]. Це все й зумовило необхідність проведення додаткових досліджень, (а з деяких питань – і вперше) щодо вирощування насінників буряків цукрових в умовах безпилкового режиму, а також розробку нових методів індукції гаметофітного редукованого партеногенезу з метою збагачення генофонду материнських компонентів нових гібридів і спрощення схеми селекції.

В іноземній літературі зазначено, що співробітником нашого інституту М. В. Фаворським у 1928 р. на Білоцерківській ДСС ВНІЦ вперше був описаний партогенетичний спосіб репродукції насіння буряків цукрових [5]. На жаль ці дослідження в наступні 40 років не були розвинені ні самим Фаворським, ні його колегами із Інституту цукрових буряків.

За літературними джерелами аналіз апоміктичного способу репродукції насіння в Україні був відновлений в 1970–1980-х рр., вчителями нинішніх керівників і виконавців наукового завдання [6]. У цих публікаціях співробітники ВНІЦ, так як і в дослідженнях М. В. Фаворського, описали випадки розвитку в зародкових мішках додаткових (нуцелярних) зародків. Експериментальні роботи за кордоном з проблем апоміксису у буряків цукрових велись польськими дослідниками під керівництвом професора Barbaru Jassem на іншій методичній основі з метою передачі ознаки (генів апоміксису) від диких видів буряків до культурних [7]. Ці дослідження, що тривали не одне десятиліття, закінчились безрезультатно. Встановлено, що нуцелярні зародки виникають із соматичних клітин нуцелусу і є клонами цих клітин [6, 8]. За сучасною класифікацією цей тип формування рослин відноситься до спорофітного типу агамоспермії, проте використання соматичних клонів (нуцелярна ембріонія) в селекції буряків цукрових поки що не можлива, так як це явище зустрічається не часто, а скоріше поряд з розвитком зародків із генеративних клітин зародкових мішків (ЗМ) [6].

У ліцензійній літературі описані методи отримання апоміктичних форм з використанням індукції диплоїдного апоміксису за допомогою високих доз γ-радіації пилку диких форм [4]. Скринінг геномних локусів, асоційованих з гаметофітним апоміксисом, уже описано у рослин родини *Brassicaceae* [9]. Диплоїдний партеногенез має місце в зародкових мішках із відсутністю мейозу, можливий диплоїдний і гаплоїдний партеногенез [9, 10].

Сеілова вперше запропонувала схему отримання самозапилених ліній і їх включення в процес гібридизації у буряків цукрових з використанням фактору апоміксису [6]. У пилкостерильних ліній в процесі однобатьківської репродукції насіння при безпилковому режимі отримано насіння вперше без сумніву апоміктичне при поєднанні апозиготії і ЦЧС [5]. Проте проблема стабілізації апозиготичного потомства з ЦЧС за роздільноквітковістю і стерильністю не була вирішена, апозиготичне потомство не характеризувалося високою продуктивністю насіння. Для вирішення цих проблем необхідно було широкомасштабне дослідження апозиготії і ЦЧС з залученням селекційних матеріалів різної генетичної структури. При використанні апозиготії в селекції роздільноквіткових, пилкостерильних форм буряків цукрових виникли значні труднощі:

– низька насіннєва продуктивність в умовах безпилкового режиму роздільноквіткових, пилкостерильних ліній буряків цукрових;

– міксоплоїдія клітинних популяцій і невідповідність успадкування апозиготичного потомства за селекційно-цінними ознаками роздільноквітковості і стерильності;

– необхідність диференціації апозиготичних потомств за генеративним і соматичним ембріогенезом.

Всі ці питання розглядаються в науковій статті з залученням методів флюоресцентної цитофотометрії та дослідження зв'язку міксоплоїдії клітинних популяцій у буряків цукрових з апозиготичною репродукцією та фенотиповими ознаками ядерних генів роздільноквітковості, стерильності. На Ялтушківської ДСС для впровадження в селекційний процес роздільноквіткових, пилкостерильних ліній з апозиготією поставлено завдання виділити селекуійні номери з високим зав'язуванням насіння. На основі проведених експериментальних досліджень з апозиготії на Ялтушківській ДСС спільно з лабораторією цитогенетики розроблено:

– спосіб стабілізації при апозиготії роздільноквітковості і стерильності в зв'язку із стабілізацією за рівнем плоїдності геному клітинних популяцій буряків цукрових [4].

– спосіб отримання гомозиготних роздільноквіткових ліній на основі апозиготичного потомства багатонасінних гібридних з ЦЧС і генетичного маркування за рецесивними ознаками роздільноквітковості і стерильності антоціанового забарвлення гіпокотелю [11].

Мета досліджень – вивчити основи високої саморепродукції насіння заміщених ліній і селекційних матеріалів з ЦЧС Ялтушківської ДСС, провести аналіз дослідження продуктивних властивостей апозиготичних роздільноквіткових ліній за ознаками цукристості, маси коренеплодів і якості насіння, як компонентів експериментальних гібридів.

Матеріали та методика досліджень

Для експериментальних досліджень використовувався різний за походженням матеріал буряків цукрових з ЦЧС. Серед них апоміктичні потомства А9-А11, походження 77 ЦЧС-ліній і 73 простих стерильних гібридів, які були розмножені в умовах безпилкового режиму на Ялтушківська ДСС. Дослідження проводились впродовж 2016–2023 рр.

Проведено експериментальні дослідження з вивчення генетичних основ мінливості фенотипових ознак, роздільноквітковості, стерильності при апозиготії в зв'язку з мінливістю рівня плоїдності геному із залученням:

– пилкостерильних ліній *А4-7* з апозиготією, стабілізованих за стерильністю, роздільноквітковістю, рівнем плоїдності геному;

– заміщених ліній буряків цукрових на основі стерильних цитоплазм диких видів *Beta maritima* і *Beta patula* з апозиготичною репродукцією насіння і високою насіннєвою продуктивністю;

– багатонасінних гібридних рослин, кращих вітчизняних і зарубіжних гібридів для розширення генофонду материнського компоненту новим гомозиготним роздільноквітковим, пилкостерильним матеріалом.

Отримані експериментальні гібриди з залученням стабілізованих за рівнем геному заміщених ліній з апозиготією на основі стерильних цитоплазм *Beta maritima* і *B. patula.*

Використані для дослідження методи вирощування насінників буряків цукрових за циклом від насіння до насіння викладені в методичних рекомендаціях [1]. У селекційно-тепличному комплексі Ялтушківської ДСС за безпилкового режиму і в умовах групових ізоляторів під час цвітіння, здійснювали добір за ознаками стерильності, роздільноквітковості і способу розмноження «апозиготія». Класифікацію рослин проводили за Оуеном (Owen F. V., 1945). Роздільноквітковість насінників оцінювали візуально за морфологічними особливостями плодів на центральних пагонах [1].

Для стабілізації плоїдності апоміктичних потомств були використані комп'ютерні програми і метод проточної цитофотометрії аналізатора плоїдності АП «Partec» [12]. Метод визначає мінливість за плоїдністю з використанням комп'ютерних технологій в тканинах рослин і не залежить від випадковості стадій поділу клітин, порівняно з цитологічними, за використання даного методу встановлювали зв'язок міксоплоїдії клітинних популяцій з репродуктивними ознаками.

Дослідження якісних показників апозиготичного насіння вивчали згідно ДСТУ 2292-93 [13].

Для дослідження достовірності проведених аналізів проводили обрахунок величини похибки репрезентативності *mp* за методикою статистичного аналізу [14]. Для дослідження середньої похибки репрезентативності *mp* використовували формулу:

$$m = \pm\sqrt{\frac{P(100-P)}{n}},$$

де відсоток роздільноквіткових і стерильних рослин, вирощених в умовах СТК штеклінгів, визначався залежно від генетичного походження матеріалу і ступеня апозиготичної репродукції.

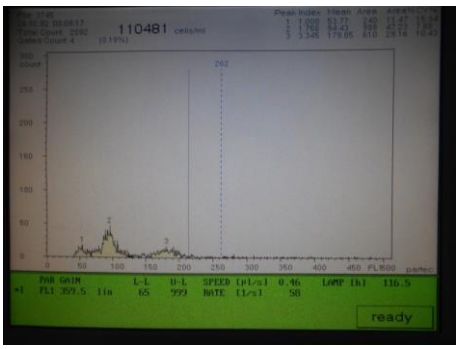
Результати досліджень

Досліджено особливості стабілізації рівня геному у апозиготичних потомств інбредних ліній і простих стерильних гібридів. Доведено, що кількість диплоїдних рослин у інбредних ліній зросла до 92,8 %, а у простих стерильних гібридів до 96,8 %.

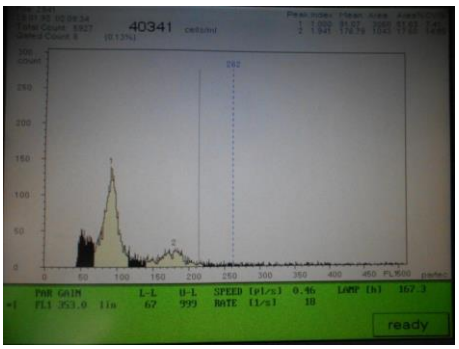
З використанням аналізатора плоїдності (АП) «Partec» встановлено, що геномний статус і співвідношення клітин за плоїдністю у апозиготичних потомств A_1 значно відрізняється

присутністю клітин більш високого рівня плоїдності у пилкостерильних ліній, а тобто можливістю попадання на зародковий шлях тетраплоїдних клітин і формування диплоїдних зародкових мішків (ЗМ).

Диплоїдний, міксоплоїдний стан геному з присутністю гаплоїдних, тетраплоїдних клітин у потомств диплоїдних пилкостерильних ліній зображено на гістограмах ядерної ДНК АП «Partec» (рис.).



а)



б)

Рис. Гістограми ядерної ДНК та визначення плоїдності при апозиготії у селекційних матеріалів різної генетичної структури:
а) динаміка геномної мінливості міксоплоїдів і збільшення відсотку популяції диплоїдних клітин у пилкостерильної лінії *A1 BC4S patula* № 19-011 Ялтушківської ДСС; б) диплоїдний стан геному на гістограмі ядерної ДНК у апоміктичної лінії *A4 BC4S patula* № 19-011 після стабілізації за рівнем плоїдності геному впродовж чотирьох апоміктичних репродукцій

Стабілізовані диплоїдні апоміктичні лінії A_5 із 100 % стерильністю і роздільноквітковістю (РК) 12-157 ЧС і 12-4652-12-12-2-4 ЧС надалі були розмножені впродовж 2016–2023 рр. Аналізуючи результати спостереження 11 апоміктичних репродукцій за селекційно-цінними ознаками на Ялтушківської ДСС, проведено добір в СТК за зеленим забарвленням гіпокотелю і генеративним редукованим партеногенезом (табл. 1).

Таблиця 1

Результати аналізу роздільноквітковості, стерильності і маси зібраного насіння у апозиготичних потомств A_{11}, A_9, A_2 після добору за селекційно-цінними показниками і забарвленням гіпокотелю *r-r-* (2023)

Селекційні матеріали	Походження матеріалів	Висаджено штеклінгів, шт.	Проаналізовано, шт.	Досліджено		Зібрано насіння, кг
				РК, P ± mp, %	стерильних, P ± mp, %	
23-133-1 ЧС *A11* каб 36-37	06-I-22*	344	144	87,4±2,76	92,3±2,76	1,155
23-17221-2-4-6 ЧС *A2* каб39	05-II-22I	173	97	87,7±3,34	98,2±3,34	1,160
23-138-1ЧС *A11 r-r-***, гр. із 1	05-I-22	17	13	91,6±7,69	94,7±7,69	0,050
23-129-1ЧС *A11 r-r-*, гр. із 2-3	05-I-22	44	9	86,5±11,4	93,6±11,4	0,050
23-202-1ЧС *A11* (жовті) гр. із 4	05-I-22	26	6	93,5±10,1	86,6±10,1	0,035
23-143-1ЧС *A11 r-r-*, гр. із 5	05-I-22	22	8	88,4±11,5	92,8±11,5	0,015
23-203 -1 ЧС *A9 r-r-*, гр. із 6-7	05-I-22 Кіборг + Рамзес	40	15	69,2±11,8	93,5±11,8	0,140
23-17225 зап гр. із 18-19	05-III-22	29	11	82,5±11,46	Ферт 94,1±11,46	0,030

Примітки. РК (роздільноквіткові насінні рослини); *r-r-* – добір кореневого матеріалу за зеленим забарвленням гіпокотелю і генеративним редукованим партеногенезом.

Кращі показники роздільноквітковості у пилкостерильних ліній, відібраних за рецесивним забарвленням гіпокотелю *r-r-* мали значення 91,6 і 93,5 % у селекційних номерів: 23- 011 ЧС А2 каб 40; 23-202-1ЧС А11 (жовті) *r-r-*, гр. із 4; 23-138-1ЧС *A11 r-r-*, гр. із 1. За результатами досліджень, вони вимагають нових методів добору в зв'язку із необхідністю подолання епігеномної мінливості за селективними ознаками при апозиготії [3, 15].

У 2019 р. на Ялтушківській ДСС розмножено насіння пилкостерильної лінії *B4CS patula*, переданої для використання в селекції лабораторією цитогенетики ІБКіЦБ, як в умовах безпилкового режиму,

так і з використанням запилювачів – закріплювачів стерильності ЦЧС № 677. Показники експресії ядерних генів роздільноквітковості, стерильності та маса одержаного гібридного і апозиготичного насіння наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Добір за роздільноквітковістю, стерильністю та продуктивністю насінних рослин залежно від способу репродукції насіння у заміщеної лінії із стерильною цитоплазмою (*BC5S patula*) (2021 р.)

Походження селекційних номерів	Насіннєва репродукція	Кількість насінників, шт.	Плідність, %		Стерильність, %		Одержано насіння, кг
			РК	БК	ЧС-О	Ф	
Насінники із коренеплодів, вирощених у селекційному розсаднику							
19-011(*B. patula*)А1	с-е	261	82,8	17,2	93,4	6,6	2,1
19-011чс *(B. patula)*	F_1	236	82,4	17,6	92,5	7,5	2,0
19-011зап.		205	82,9	17,1	6,4	93,6	1,0

Примітки. РК (роздільноквіткові насінні рослини); БК (багатоквіткові насінні рослини); Ф (фенотипи ЧС-1 і ЧС-2 для зручності добору, об'єднані в один клас).

Лінія з новою зародковою плазмою (*BC5S patula)* за селекційним номером 19-011 в умовах групових ізоляторів Ялтушківської ДСС характеризувалась роздільноквітковістю з показниками 82,8 і 82,4 %, стерильністю 93,4 і 92,5 %. Проведено добір роздільноквіткових насінних рослин і видалення багатоплідних, як серед пилкостерильних ліній, так і закріплювача стерильності №677. Результати аналізу продуктивності насінних рослин заміщених ліній і маси отриманого насіння вказують на високий відсоток апозиготичної репродукції з показниками 2,1 кг і 2 кг гібридного і апоміктичного насіння.

Для диференціації апоміктичних потомств більш високого рівня апоміктичної репродукції *«A8–A9»* за генеративним редукованим партеногенезом і включення їх в селекційний процес гомозиготних ліній, стабілізованих за рівнем геному, розроблена схема:

– добору коренеплодів насінних рослин за червоним забарвленням гіпокотелю R*+R+; R+ r-;*

– вирощування в умовах безпилкового режиму (групові ізолятори просторова ізоляція);

– посів апозиготичного насіння;

– добір коренеплодів за зеленим рецесивним забарвленням гіпокотелю і генеративним редукованим партеногенезом.

У селекційному процесі запропоновано використовувати гомозиготні, роздільноквіткові, пилкостерильні лінії, відібрані за рецесивним зеленим забарвленням при апозиготії. Для контролювання динаміки накопичення цукрів у 2023 р. проведені дослідження впродовж терміну вегетації 10.08–10.10.2023. Серед експериментальних матеріалів гібриди *2x* заміщених ліній з кращими багатонасінними запилювачами Веселоподільської ДСС (табл. 3).

Дослідження на ранніх стадіях онтогенезу у селекційних матеріалів з новою зародковою плазмою подані в зрівнянні з показниками продуктивності комерційних гібридів буряків цукрових 'Анічка', 'Булава', 'Злука' та ін. Кращими виявились гібриди на основі зародкової плазми *B. maritima*: 20-16942; 20-16946; 20-16948 з показниками цукристості 15,0–15,2 % впродовж чотирьох місяців вегетації.

Селекційні номери апоміктичних ЦЧС ліній буряків цукрових Ялтушківської ДСС, відібрані у 2021 році з високим циклом апоміктичної репродукції *A10*, показували високі показники продуктивності у 2023 році після повторного добору за ранньою закладкою цукрів (табл. 3). Апоміктичні лінії: 22-203-1 ЦЧС A_8 ('Кіборг' + 'Рамзес'); 22-129-180-1 ЦЧС A_{10} каб.32 переважали за продуктивністю показники кращих комерційних гібридів на ранніх етапах онтогенезу.

Селекційна цінність нових *S*-цитоплазм, як можливої альтернативи нового джерела стерильності Оуена, до цього часу невідомо. Відсутня інформація про створення нових плазмотипів і про їх властивості в гібридних комбінаціях з буряками цукровими. Дослідники ЦЧС вважають, що гермоплазма для європейських селекціонерів буряків цукрових є доступною у зв'язку із значним генетичним різноманіттям в природних умовах і особливим адаптаційним потенціалом дикої форми буряків *Beta vulgaris* ssp. *maritima* L. [16].

Таблиця 3

Дослідження селекційних матеріалів за динамікою накопичення цукрів в експериментальних гібридів на основі нової гермоплазми і апоміктичних потомств різного терміну репродукції Ялтушківської ДСС (2023 р.)

Селекційний номер	Походження селекційних матеріалів (2020)	Середня маса коренеплода, кг	Цукристість, %		Вміст зольних елементів (10.10)	
		10.08	10.08	10.10	K	Na
20-16939	*(BC$_5$S maritima x O-mun №2) x 15972 F1*	0,230	13,0	18,8	3,40	1,54
20-16940	*(BC$_5$S patula x O-mun №2) x 15972 F1*	0,235	13,4	19,3	3,08	1,02
20-16942	*(BC$_5$S maritima x O-mun №2) x 16025 F1*	0,220	15,1	18,6	4,35	1,45
20-16946	*(BC$_5$S maritima x O-mun №2) x 16043 F1*	0,120	15,2	17,9	3,16	1,15
20-16948	*(BC$_5$S maritima x O-mun №2) x 16073 F1*	0,190	15,0	18,9	3,47	1,15
22-17221 A1	*BC$_5$S maritima*	0,220	12,2	16,9	3,31	1,15
22-17222 A1	*BC$_5$S patula*	0,215	11,7	16,9	4,65	1,35
22-17224 A1	*BC$_5$S patula*	0,140	13,0	20,4	3,36	1,29
22-17225 ферт.	*O-mun*	0,170	11,0	17,5	3,98	1,21
22-17226 A1	*BC$_5$S patula*	0,110	11,4	17,6	3,75	1,28
22-203-1чс A_8 ('Кіборг' + 'Рамзес')	Добори за ранньою закладкою цукрів	0,230	14,9	16,9	3,32	1,25
22-011чс B.patula каб. 41-42	ЧС- лінія на основі S цитоплазми *B. patula*	0,191	14,0	17,0	4,50	1,60
22-202-1 чс A_{10} (жовтий)	Добори за ранньою закладкою цукрів	0,195	14,5	15,3	4,44	1,40
22-143-1 чс A_{10} каб.34-36	Добори за ранньою закладкою цукрів	0,190	13,2	16,9	3,41	1,49
22-138-1 чс A_{10} каб. 31	Добори за ранньою закладкою цукрів	0,210	14,1	16,4	3,70	1,51
22-129-180-1 чс A_{10} каб. 32	Добори за ранньою закладкою цукрів	0,225	15,0	18,2	3,32	1,39
'Анічка'	гібрид	0,332	11,3			
'Булава'	гібрид	0,376	12,3			
'Злука'	гібрид	0,364	12,7			

Нами вперше отримані експериментальні гібриди на основі зародкової плазми диких видів роду *Beta*, а саме заміщених ліній із цитоплазматичним геномом *Beta maritima і Beta patula* і доказана ефективність заміщених ліній з апозиготією і можливість їх використання в селекційному процесі буряків цукрових [17, 18]. Дослідження з використання нового способу репродукції насіння у різного за походженням селекційного матеріалу з ЦЧС вказало на деякі проблемні питання:

– низька продуктивність насінників у деяких апозиготичних потомств на основі S цитоплазми Оуена, що змінюється від 40 до 56 г і не перевищує 60 г з одного насінника та високий рівень дегенерації апозиготичних зародків;

– мінливість за фенотиповими ознаками РК і стерильності в апозиготичних потомствах не інтерпретується за законами генетики Менделя, а визначається генетичною неоднорідністю насіння, що пов'язано з різною природою зародків, які розвинулись як із соматичних, так і генеративних клітин [15, 18].

– необхідність диференціації апозиготичного потомства за генеративним редукованим партеногенезом і виділення пилкостерильних ліній з високим зав'язуванням насіння. Так, у заміщеної лінії *22-011чс B. patula* на основі стерильної цитоплазми *B. patula* продуктивність насінників відповідала продуктивності гібридних рослин із зав'язуванням насіння 93–96,6 %, що вказує на можливість добору материнських компонентів.

У селекційному процесі Ялтущківської ДСС важливим з точки зору практичного використання є апозиготичні матеріали, що одночасно володіють як високою стерильністю, так і високою роздільноквітковістю [3, 15]. Також аналіз експериментальних даних дослідників з апозиготії у буряків цукрових вказує на те, що мінливість рівна плоїдності, міксоплоїдія є важливим фактором, якій впливає на характер епігеномної мінливості селекційно-цінних ознак [4].

Висновки

Для диференціації типу апозиготії (генеративний, соматичний ембріогенез) проведено добір за ядерними генами морфологічних маркерних ознак, антоціанового забарвлення *R+r-*, роздільноквітковості *mm* і стерильності *xxzz* для використання в селекційному процесі і створення експериментальних гібридів. Експериментальні дослідження виявили деякі проблемні питання з використання однобатьківського способу репродукції насіння:

– встановлено зв'язок нового способу репродукції насіння з міксоплоїдією клітинних популяцій у апоміктичних потомств пилкостерильних ліній;

– тип апозиготії проявляється в гаметофітному та спорофітному ембріогенезі, що визначає генетичну неоднорідність (різноякісність) апозиготичного насіння;

– спостерігається особливий характер успадкування ознак роздільноплідності і стерильності, що не інтерпретується за законами класичної генетики і визначаються епігеномною мінливістю геномного статусу клітинних популяцій при апозиготії.

Виділено апозиготичну лінію *22-011чс* на основі нової гермоплазми *B. patula* з високим зав'язуванням насіння в умовах безпилкового режиму для використання в селекції за новою програмою гібридизації без застосування закріплювачів стерильності буряків цукрових.

Використана література

1. Роїк М. В., Ковальчук Н. С., Яцева О. А. Оцінка і добір селекційних матеріалів з апозиготією та цитоплазматичною чоловічою стерильністю : методичні рекомендації. Київ, 2014. 19 с.

2. Ковальчук Н. С., Роїк М. В., Яцева Л. А., Недяк Т. М., Потапович О. А., Качаловська С. О. Патент №104295 від 25.01.2016, № 2 Україна, Спосіб одержання гаплоїдних і дигаплоїдних ліній цукрових буряків на основі апозиготії і цитоплазматичної чоловічої стерильності.

3. Роїк М., Ковальчук Н., Зінченко О., Власюк В., Федорощак Л. Насіннєва продуктивність алоплазмотичних ліній на основі стерильних цитоплазм *Beta patula* і *Beta maritima* при апозиготичному способу репродукції насіння. *Наукові праці Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків*. 2022. Вип. 30. С. 14–26. doi: 10.47414/np.30.2022.268940

4. Ковальчук Н. С., Роїк М. В., Качаловська С. О., Яцева О. А., Потапович О. А., Хіміч Н. М. Патент 92392. Україна, МПК 2014.01, A01H 4/00. Спосіб створення апозиготичних роздільноплідних ліній цукрових буряків з ЦЧС / (Україна) заявник та патентовласник Інститут біоенергетичних культур і цуцкрових буряків НААНУ - № u 201403153; заявл. 28.03.2014; опуб. 11.08.2014, Бюл. № 15.–6

5. Szkutnik T. Apomixis in the suger beet/Reproduction system. *Acta Bioloca Cracoviensia Serus Botanica*. 2011. Vol. 52, Iss. 1. P. 87–96. doi: 10.2478/v10182–010–0011-y

6. Seilova L., Sedlovsky A. Sugar beet apomixes and its use in breeding. *Sugar Tech*. 2001. Vol. 2, Iss. 4. P. 31–32.

7. Jassem B. Apomixis in the genus *Beta*. *Apomixis Newsletter*. 1990. Vol. 19. P. 7–23.

8. Роїк М. В., Ковальчук Н. С., Яцева О. А. Апозиготія як метод створення вихідних матеріалів буряків цукрових. *Вісник аграрної науки*. 2014. № 11. С. 45–49.

9. Gerashchenkov G. A., Yasybaeva G. R., Rozhnova N. A., Chemeris A. V. Isolation of Promoters and Fragments of Genes Controlling Endosperm Development Without Fertilization in Arabidopsis and Engineering of the Antisense Constructions. *European Journal of Molecular Biotechnology*. 2015. Vol. 8, Iss. 2. P. 56–62. doi: 10.13187/ejmb.2015.8.5611

10. Yamashita K., Nakazawa Y., Namai K. et al. Modes of inheritance of two apomixis components, diplospory and parthenogenesis, in Chinese chive (*Allium ramosum*) revealed by analysis of the segregating population generated by back-crossing between amphimictic and apomictic diploids. *Breeding Science*. 2012. Vol. 62. P. 160–169. doi: 10.1270/jsbbs.62.160

11. Патент 102476 «Спосіб створення гомозиготних однонасінних пилкостерильних ліній цукрових буряків на основі апозиготичного потомства багатонасінних гібридних рослин з ЦЧС» (Патент 16352/ЗУ/15 Україна, МПК (2016.01) A01H 4/00)

12. Роїк М. В., Ковальчук Н. С. Аналіз мінливості рівня плоїдності геному вихідних селекційних матеріалів цукрових буряків з використанням технології аналізатора плоїдності «Partec» : методичні рекомендації. Київ, 2006. 40 с.

13. ДСТУ 2292-93. Насіння цукрових буряків. Методи визначення схожості, одноростковості та доброякісності. Київ : Держспоживстандарт.

14. Присяжнюк О. І., Каражбей Г. М., Лещук Н. В. та ін. Статистичний аналіз агрономічних дослідних даних в пакеті Statistica 10. Київ, 2016. 54 с.

15. Levites E., Kirikovich S. The heteroallicity instead of heterozygosity in haploids of sugar beet *Beta vulgaris* L. *Bulletin of Science and Practice*. 2017. Vol. 5. P. 32–38.

16. Richardson K. L., Mackey B. E., Hellier B. C. Resistance in *Beta vulgaris* L. subsp. *maritima* (L.) Thell. to the Rz1-breaking strain of rhizomania. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2019. Vol. 66. P. 929–939. doi: 10.1007/s10722-019-00749-x

17. Kovalchuk N., Roik M., Zinchenko O. Alloplasmic lines of beets with new cytoplasm from the wild genus *Beta patula*. *Zemdirbyste-Agriculture.* 2023. Vol. 110, No 3. P. 225–234. doi: 10.13080/z-a.2023.110.026

18. Роїк М. В., Ковальчук Н. С., Балагура О. В. та ін. Дослідження адаптаційного потенціалу нових стерильних цитоплазм *Beta patula* і *B. maritima* L. від диких видів роду *Beta* L.: зимостійкість і показники раннього закладання цукрів в інтродукційних алоплазматичних ліній. *Новітні агротехнології*. 2023. Т. 11, № 1. doi: 10.47414/na.11.1.2023.279933

References

1. Roik, M. V., Kovalchuk N. S., & Yatseva, O. A. (2014). *Evaluation and selection of breeding materials with apozygosity and cytoplasmic male sterility: methodological recommendations*. Kyiv: N. p. [In Ukrainian]

2. Kovalchuk, N. S., Roik, M. V. Yatseva, L. A. Nediak, T. M., Potapovich, O. A., & Kachalovska, S. O. (2016). Patent No. 104295 dated 25.01.2016, No. 2 Ukraine, *Method of obtaining haploid and dihaploid lines of sugarcane beets based on apozygosity and cytoplasmic male sterility*. [In Ukrainian]

3. Roik, M. V., Balahura, O. V., Kovalchuk, N. S., Zinchenko, O. A., Vlasiuk, V. I., & Fedoroshchak, L. S. (2022). Seed productivity of alloplasmic lines of *Beta patula* and *B. maritima* with sterile cytoplasm under the conditions of apozygotic reproduction. *Scientific Papers of the Institute of Bioenergy Crops and Sugar Beet*, *30*, 14–26. doi: 10.47414/np.30.2022.268940 [In Ukrainian]

4. Kovalchuk, N. S., Roik, M. V., Kachalovska, S. O., Yatseva, O. A., Potapovych, O. A., & Khimich, N. M. (2014). Patent 92392. Ukraine, IPC 2014.01, A01H 4/00. The method of creation of apozygotic segregating lines of sugar beets from TsChS / (Ukraine) applicant and patent holder Institute of bioenergy crops and sugar beets of the National Academy of Sciences - No. u 201403153; statement 28.03.2014; published 11.08.2014, Bull. No. 15.–6 [In Ukrainian]

5. Szkutnik, T. (2011). Apomixis in the suger beet/Reproduction system. *Acta Bioloca Cracoviensia Serus Botanica*, *52*(1), 87–96. doi: 10.2478/v10182-010-0011-y

6. Seilova, L., & Sedlovsky, A. (2001). Sugar beet apomixes and its use in breeding. *Sugar Tech*, *2*(4), 31–32.

7. Jassem, B. (1990). Apomixis in the genus *Beta*. *Apomixis Newsletter*, *19*, 7–23.

8. Roik, M. V., Kovalchuk, N. S., & Yatseva, O. A. (2014). Apozygosity as a method of creating raw materials of sugar beets. *Bulletin of Agrarian Science*, *11*, 45–49. [In Ukrainian]

9. Gerashchenkov, G. A., Yasybaeva, G. R., Rozhnova, N. A., & Chemeris, A. V. (2015). Isolation of Promoters and Fragments of Genes Controlling Endosperm Development Without Fertilization in Arabidopsis and Engineering of the Antisense Constructions. *European Journal of Molecular Biotechnology*, *8*(2), 56–62. doi: 10.13187/ejmb.2015.8.5611

10. Yamashita, K., Nakazawa, Y., & Namai, K. (2012). Modes of inheritance of two apomixis components, diplospory and parthenogenesis, in Chinese chive (*Allium ramosum*) revealed by analysis of the segregating population generated by back-crossing between amphimictic and apomictic diploids. *Breeding Science*, *62*, 160–169. doi: 10.1270/jsbbs.62.160

11. Patent 102476 "Method of creation of homozygous single-seeded pollinate lines of sugar beet based on apozygous progeny of multi-seeded hybrid plants with TsChS" (Patent 16352/ZU/15 Ukraine, IPC (2016.01) A01H 4/00) [In Ukrainian]

12. Roik, M. V., & Kovalchuk, N. S. (2006). *Analysis of the variability of the ploidy level of the genome of the initial breeding materials of sugar beets using the technology of the ploidy analyzer "Partec": methodological recommendations.* Kyiv. [In Ukrainian]

13. *DSTU 2292-93. Sugar beet seeds. Methods of determining similarity, singleness and benignity*. Kyiv: Derzhspozhyvstandart. [In Ukrainian]

14. Prysiazhniuk, O. I., Karazhbei, H. M., & Leshchuk, N. V. (2016). *Statistical analysis of agronomic research data in the Statistica 10 package: methodological guidelines*. Kyiv: Nilan-LTD. [In Ukrainian]

15. Levites, E., & Kirikovich, S. (2017). The heteroallicity instead of heterozygosity in haploids of sugar beet *Beta vulgaris* L. *Bulletin of Science and Practice*, *5*, 32–38.

16. Richardson, K. L., Mackey, B. E., & Hellier, B. C. (2019). Resistance in *Beta vulgaris* L. subsp. *maritima* (L.) Thell. to the Rz1-breaking strain of rhizomania. *Genetic Resources and Crop Evolution*, *66*, 929–939. doi: 10.1007/s10722-019-00749-x

17. Kovalchuk, N., Roik, M., & Zinchenko, O. (2023). Alloplasmic lines of beets with new cytoplasm from the wild genus *Beta patula*. *Zemdirbyste-Agriculture, 110*(3), 225–234. doi: 10.13080/z-a.2023.110.026

18. Roik, M. V., Kovalchuk, N. S., Balahura, O. V., Prysiazhniuk, O. I., Boiko, I. I., Zinchenko, O. A., Bekh, N. S., … Fedoroshchak, L. H. (2023). A study on the adaptive potential of new sterile cytoplasm of *Beta patula* and *Beta maritima* L. from wild beets of the genus *Beta* L.: cold resistance and traits of early sugar accumulation in introduced alloplasmic lines. *Advanced Agritechnologies*, *11*(1). 10.47414/na.11.1.2023.279933 [In Ukrainian]

UDC 633.63:631.52

Roik, M. V.[1], Kovalchuk, N. S.[1]*, Zinchenko, O. A.[1], Sinchenko, V. M.[1], Bekh, N. S.[1], Manziuk, Ya. V.[1], Fedoroshchak, L. H.[2], & **Vlasiuk, V. I.[3]** (2024). Prospects of using the apozygotic method of seed reproduction for the development of new sugar beet hybrids. *Advanced Agritechnologies*, *12*(2). https://doi.org/10.47414/na.12.2.2024.305033 [In Ukrainian]

*[1]Institute of Bioenergy Crops and Sugar Beet, NAAS of Ukraine, 25 Klinichna St., Kyiv, 03141, Ukraine, *e-mail: natalakovalcuk461@gmail.com*

[2]Yaltushkiv Experimental Breeding Station of Institute of Bioenergy Crops and Sugar Beet, NAAS of Ukraine, Chereshneve, Bar District, Vinnytsia Region, 23021, Ukraine

[3]Veselyi Podil Experimental Breeding Station of Institute of Bioenergy Crops and Sugar Beet, NAAS of Ukraine, Veremiivka, Semenivska district, Poltava region, 38250, Ukraine

Purpose. To study of the theoretical basis of the apozygotic method of seed reproduction in sugar beet to expand the gene pool of pollen-sterile lines stabilized by separate flowering and sterility and the basis of the phenomenon of high self-reproduction of seeds in substituted lines based on new germplasm of wild species of the genus *Beta* L. **Methods.** Breeding methods: group and individual selection by monogermity and phenotypic characteristics of nuclear genes of CMS; cytogenetic methods: fluorescent cytophotometry with the use of ploidy analyzer Partec to determine the connection between mixoploidy of cell populations and reproductive signs of apozygosity. **Results.** Genetic models of new hybrids were developed and separate-flowered, pollen-sterile, homozygous lines were identified by generative reduced parthenogenesis were developed. Apozygotic lines with different germplasm, stabilized at the genome level, with 100% sterility, were introduced into the breeding process of sugar beet in 2016–2023. The phenomenon of high self-reproduction of seeds was established and a line based on the new germplasm of *B. patula* was selected (selection number 19-011) that has high level (68.8 to 96%) of setting apozygotic seeds. The problem of using apozygotic lines with new germplasm in development of experimental sugar beet hybrids with reduction of the labor-intensive stage, i.e. selection of sterility maintainers was studied. **Conclusions.** The main theoretical approaches were substantiated and practical solutions for the application of a new apomictic method of seed reproduction in pollen sterile lines for further use in the breeding process of sugar beet to simplify the breeding scheme, which is determined by the sowing qualities of seeds, productive properties of seeds, methods of differentiation and selection by types of apozygosity, thanks to which it is possible to reproduce and multiplicate maternal components or obtaining new homozygous material.

Keywords: *apomixis (apozygoty); alloplasmic lines; Beta maritima; Beta patula; ploidy analyzer Partec; embryo sacs; separate flowering; CMS phenotype.*

Надійшла / Received 06.05.2024
Погоджено до друку / Accepted 27.05.2024