**Лекция 7**

**ПОЛИПЛОИДИЯ**

Одним из методов создания популяций для отбора является индуцированное изменение числа хромосом у селектируемой культуры — **полиплоидия**. Это может быть кратное увеличение числа хромосом внутри вида — **авто‑ полиплоидия**, некратное изменение их числа — **анеуплоидия** или гетероплоидия, объединение геномов различных видов — **аллополиплоидия**. Все эти виды изменения числа хромосом используются в селекции. Но, когда говорят о полиплоидии в селекции, имеют в виду, как правило, автополи- и анеуплоидию.

Специфическим является метод **гаплоидии —** получения и использования гаплоидов — растений с одинарным (n) числом хромосом, который используется в различных селекционных программах.

**КРАТКАЯ ИСТОРИЯ ПОЛИПЛОИДИИ**

Первым индуцированным автополиплоидом была, водоросль спирогира. В 1890 г. русский ботаник И. И. Герасимов, воздействуя на этот объект низкой температурой и наркотическими веществами, добился увеличения размера клеточных ядер. Позднее было установлено, что эти изменения клеток связаны с увеличением числа хромосом, и по предложению Г. Винклера их стали называть полиплоидией.

В дальнейшем полиплоиды получали эпизодически у разных объектов с помощью различных воздействий, в частности из клеток каллуса, который образуется на срезе побега. И только после обнаружения в 1937 г. Альбертом Френсис Блексли и Освальдом Эйвери полиплоидизирующего действия алкалоида колхицина стало возможным массовое получение полиплоидов, поскольку колхицин обеспечивал надежный эффект удвоения числа хромосом. Колхицин добывается из цветущего осенью растения безвременник осенний (*Colhicum autumnale* L.). Колхицин блокирует в делящихся клетках действие веретена деления, хромосомы не расходятся к полюсам, в результате чего число их в клетке удваивается.

**ПОЛИПЛОИДЫ В ПРИРОДЕ. ДОСТОИНСТВА ПОЛИПЛОИДОВ**

Спонтанные полиплоиды широко распространены в природе, образуя иногда в пределах рода целые ряды видов, отличающихся числом хромосом.

Эволюционное становление высших растений тесно связано с явлением полиплоидии. Практически половина возделываемых человеком культурных растений является полиплоидами. При этом число хромосом у разных видов одного рода кратно одному общему числу, получившему **название основное число хромосом**, и обозначаемому **как *х****.* Такие виды составляют полиплоидные ряды. Примером может служить род *Triticum* L. Входящие в него виды имеют число хромосом кратное семи (основное число):

*Т. monococcum* (2n = *2х* = 14)

*Т. durum* (2n *= 4х =* 28)

*Т. Timopheevii* (2n = *4х* = 28)

*Т. Dicoccum* (2n *= 4х=* 28)

*Т. aestivum* (2n *- 6х =* 42)

*Т. speltа* (2n = *6х* = 42)

У большинства родов в природе основное число хромосом редко превышает 12. Примером высокого основного числа хромосом являются виды родов *Populus* (тополиные) и *Salix* (ивовые), у которых х= 19.

Многие культурные растения являются полиплоидами (как авто-, так и алло-): мягкая и твердая пшеницы, овес посевной, просо, картофель, люцерна, яблоня, слива, банан, земляника и др.

Внутри рода виды с большим числом хромосом урожайнее, чем виды с меньшим их числом и имеют более крупные плоды. (*можно сравнить, например, мягкую пшеницу и однозернянку, овес посевной и овес песчаный, сливу и терн)*. Это говорит о хозяйственном преимуществе полиплоидов. А большой процент полиплоидных видов в периферии центров произрастания диплоидных видов с нетипичными для них климатическими условиями — об их высокой адаптивности. Во многих случаях у полиплоидов отмечается увеличение содержания ценных веществ: витаминов, алкалоидов. Поэтому усилия селекционеров по созданию полиплоидных сортов связано с осознанием этих закономерностей.

Экспериментально полученные полиплоиды отличаются более крупными размерами органов растений, в частности, цветков (что представляет интерес для декоративных культур) и плодов. Что касается адаптивности, то никакого особенного выигрыша в селекции на адаптивность экспериментальная полиплоидия не дала, т.к. речь не идет о каких-то чрезвычайно экстремальных условиях.

**УРОВЕНЬ ПЛОИДНОСТИ. ПЛОИДНОСТЬ, ИСПОЛЬЗУЕМАЯ В СЕЛЕКЦИИ**

Далеко не все экспериментально полученные полиплоиды отличаются ценными хозяйственными свойствами. В связи с этим говорят об оптимальном уровне плоидности, и таковым, например, для ржи является тетраплоид. То же наблюдается у турнепса, клевера лугового. Дальнейшее увеличение числа хромосом у этих культур ведет к снижению продуктивности и урожайности.

Оптимальный уровень плоидности может рассматриваться и с позиции содержания полезных веществ. Так, для перечной мяты (содержание масла), сахарной свеклы (содержание сахара), опиумного мака (содержание морфина в комплексе алкалоидов) оптимальный уровень плоидности — триплоид.

Отмечено высокое содержание витамина С в плодах триплоидной яблони, сочетание большой массы корня и высокого содержания сахара в нем у триплоидной сахарной свеклы, высокая сахаристость у триплоидного арбуза.

*У видов, имеющих высокий уровень плоидности, хотя бы и достигнутый за счет объединения геномов разных видов (мягкая и твердая пшеницы, слива и др.), получение полиплоидов выигрыша не дает, они отличаются более низкой урожайностью по сравнению с исходными формами. С другой стороны, культуры-самоопылители с невысоким числом хромосом (горох, ячмень) также не дают высокоурожайных тетраплоидов по причине низкой завязываемости семян.*

В селекции практикуется создание тетраплоидов и триплоидов, более высокая степень плоидности обычно успеха не имеет.

Автополиплоиды с нечетным числом геномов создаются путем гибридизации. Так, триплоиды получаются от скрещивания диплоидов и тетраплоидов. Однако получение их не всегда возможно: у ржи, например, триплоидные зародыши погибают на ранних этапах развития.

СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ ПОЛИПЛОИДОВ

Существует ряд способов получения тетраплоидов — речь идет о тетраплоидах как о наиболее типичном случае. Другие автополиплоиды, получают путем скрещивания.

Наиболее часто обрабатывают колхицином проростки семян или точки роста молодых растений. Его используют на свекле, гречихе и некоторых других объектах. Обычно готовят маточный 2%/ный раствор колхицина и по мере надобности разбавляют его до концентрации рабочего раствора. При обработке проростков семян используют 0,01...0,2%-ный, а при обработке точек роста — 0,5...2%/ный водный раствор колхицина.

Проросшие семена погружают в раствор колхицина таким образом, чтобы раствор смачивал ростки, но не попадал на корешки. Корешки под действием колхицина погибают, и растение дальше не может развиваться. Технически это осуществляется следующим способом. Семена проращивают на сетке, а затем переворачивают ростками вниз, корешками кверху и помещают ростки в раствор колхицина, залитый, например, в чашку Коха, а корешки защищают от высыхания, прикрыв стеклом или чашкой Петри.

При обработке точек роста используют капельный метод когда с интервалами в 3...4 ч, на точку роста наносят каплю раствора колхицина, лучше с прилипателем. Обработку проводят в течение нескольких дней.

Другой метод - метод тампонов отличается тем, что на точку роста помещают тампон, смоченный раствором колхицина.

Во всех случаях обработку ведут при умеренной температуре, достаточно высокой влажности воздуха и не на прямом солнечном свету.

Необходимо, чтобы обнаруженные полиплоиды подтвердили свою природу на поздних этапах онтогенеза. Поэтому идентификация полиплоидов ведется в два этапа — по косвенным признакам и путем подсчета числа хромосом. Причина такой двухэтапной оценки заключается в трудоемкости цитологической оценки путем подсчета хромосом, поэтому проводят ее на материале, который уже первоначально зарекомендовал себя как полиплоидный.

Первичная оценка ведется по косвенным признакам. Растения-полиплоиды имеют более крупные и более темные листья, иногда гофрированные. Далее о полиплоидной природе можно судить по числу хлоропластов в клетках устьиц, что уже требует применения микроскопа, потом — по величине пыльцевых зерен и количеству пор в пыльце. Во всех этих случаях полиплоиды имеют более высокие показатели, чем диплоиды.

НИЗКАЯ СЕМЕННАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ — ОСНОВНОЙ НЕДОСТАТОК ПОЛИПЛОИДОВ. СПОСОБЫ ЕЕ ПОВЫШЕНИЯ

Первично полученные полиплоиды называют сырыми полиплоидами. Они обладают самым большим недостатком автополиплоидов — низкой семенной продуктивностью, что связано с нарушениями в мейозе. У тетраплоидов метафазе мейоза могут образоваться два бивалента гомологичных хромосом, и это благоприятный случай: расхождение хромосом дает жизнеспособные диплоидные гаметы.

Но могут образоваться квадриваленты (в ядре образуется вместо двух четыре гомологичные хромосомы). Нормальное распределение хромосом обеспечивается расхождением их попарно, что происходит не всегда: к одному полюсу могут отойти три хромосомы, к другому — одна. Наконец, при образовании тривалента и унивалента тоже возможно несбалансированное расхождение хромосом. Поскольку в геноме присутствует несколько групп гомологичных хромосом, то вероятность получения сбалансированных гамет значительно меньше.

Значение пониженной семенной продуктивности полиплоидов для той или иной сельскохозяйственной культуры неодинаково.

Если это вегетативно размножаемая культура, например какая-либо из плодовых растений, пониженная семенная продуктивность не имеет никакого значения.

Роль ее у культур, размножаемых семенами, определяется тем, являются ли семена продукционной частью урожая, как у ржи и гречихи, или служат только посевным материалом (турнепс- кормовая репа). Понятно, что пониженная семенная продуктивность у тетраплоидной гречихи и ржи чревата недобором урожая.

Во втором случае важны коэффициент размножения и норма высева. При очень большом коэффициенте размножения и невысокой норме высева у турнепса недобор определенного количества семян несущественен. Однако если взять клевер, для которого проблема семян стоит остро даже у диплоидных сортов, пониженная семенная продуктивность — серьезный порок. Кроме того, у клевера полиплоидия удлиняет трубку венчика цветка, что создает дополнительные препятствия для опыления насекомыми.

Равный по массе урожай семян диплоидного и тетраплоидного клеверов, который может быть достигнут селекцией тетраплоидного клевера, еще не означает их равной семенной продуктивности. Масса 1000 семян у тетраплоида больше, семена крупнее, а значит, количество семян в одном килограмме или иной единице массы у тетраплоида меньше.

Мейотические тетраплоиды (т. е. полученные при воздействии колхицина на мейоз), меньше снижают семенную продуктивность, чем митотические, потому, что не разошедшиеся в мейозе хромосомы и в дальнейшем образуют пары, биваленты. Но получение мейотических полиплоидов затруднено тем, что необходимо воздействовать колхицином на археспориальную ткань в период образования гамет, а она хорошо защищена от внешних воздействий. Кроме того, надо, чтобы диплоидными оказались и женские, и мужские гаметы.

Можно использовать половинчатое решение, применяя **унивалентные скрещивания — диплоидов и тетраплоидов**. Они дают, как уже отмечено, триплоиды, которые в первом поколении семян не образуют, поскольку триваленты родительских хромосом не могут разделиться в анафазе мейоза поровну и гаметы оказываются несбалансированными — нежизнеспособными. Если семена тем не менее образуются, значит это не триплоид, а тетраплоид, возникший в результате спонтанного появления у диплоида нередуцированных гамет (в мейозе не произошло расхождения хромосом к полюсам).

Увеличить семенную продуктивность сырых тетраплоидов можно путем неоднократного отбора, направленного на увеличение этого признака. Но такой отбор успешен при условии непрерывной рекомбинации генетического материала, свойственной перекрестникам. Вот почему полиплоидная селекция оказалась успешной только у перекрестноопыляющихся культур. Чтобы убедиться в этом, достаточно перечислить культуры, у которых получены тетраплоидные сорта: рожь, гречиха, клевер, турнепс.

Полиплоиды легко получаются и у самоопылителей. Известны тетраплоидные ячмень, горох. Но сортов, которые бы использовались в производстве, среди них нет, слишком они низкоурожайны из-за пониженной семенной продуктивности. Таким образом, с полиплоидами дело обстоит совершенно иначе, чем с мутациями.

Мутационная селекция, за редким исключением, дает сорта только самоопылителей. Выявление и стабилизация мейоза мутантов у перекрестноопыляющихся культур сложно.

Селекция полиплоидов дает сорта преимущественно перекрестников.

**ТРИПЛОИДЫ**

Триплоиды, как было отмечено, тоже используются в современной селекции. Часто это многолетние вегетативно размножаемые культуры (плодовые, лесные породы), для которых бесплодие триплоидных форм не имеет значения.

Но среди используемых в производстве триплоидов также есть одно-, двулетние культуры, размножаемые семенами. Это всегда гибриды тетраплоидов и диплоидов, каждый раз получаемые заново. Особенным успехом пользуется триплоидная сахарная свекла и триплоидный арбуз. Выигрыш здесь в более высоких сборах сахара с гектара у сахарной свеклы, в более высокой сахаристости арбуза (триплоидный арбуз ценен еще и отсутствием семян).

Идея создания триплоидных гибридов сахарной свеклы принадлежит русскому ученому А. Н. Луткову. Первым был Кубанский полигибрид 9, а затем появился ряд других триплоидных гибридов.

Триплоидный арбуз был получен японским генетиком Кихара.

Получение семян триплоидов и возделывание их имеют некоторые особенности. Так, высадка корней сахарной свеклы для получения триплоидных семян производится в отношении 3:1 тетраплоида к диплоиду, поскольку пыльца диплоида более активна. В результате перекрестного опыления, которое идет не только между диплоидами и тетраплоидами, но и внутри этих групп, получается смесь триплоидных, диплоидных и тетраплоидных семян **— анизоплоидная популяция**. При посеве таких семян процент триплоидных растений постепенно возрастает в силу того, что триплоиды отличаются большей мощностью и при прорывке (**шаровке)** остаются в посеве, в то время как диплоидные и тетраплоидные растения элиминируются. Считается, что приемлемым показателем является уже 50%/ное присутствие триплоидных семян в популяции. К концу вегетации триплоидные растения занимают примерно 3/4 посева.

При выращивании триплоидных арбузов цветки их приходится опылять пыльцой диплоидов — без этого плоды не развиваются.

**УСПЕХИ ПОЛИПЛОИДНОЙ СЕЛЕКЦИИ**

Селекция автополиплоидов дала сельскому хозяйству целый ряд сортов ржи, гречихи, клевера и других культур, не считая тетра- и триплоидных сортов яблонь, груш, бананов.

Первая тетраплоидная рожь была создана русской исследовательницей Л. П. Бреславец, а первый коммерческий сорт Стил — шведскими селекционерами. Впоследствии появились и другие сорта, в том числе и созданные путем гибридизации тетраплоидов. Первый сорт тетраплоидного клевера Тетраалсайк был выведен в Швеции. Сейчас тетраплоидных клеверов довольно много: ТетраВИК, Темп, Тетраплоидный ВИК, Тимирязевец и др. Тетра- и триплоидных сортов яблонь и груш довольно много в США, Канаде и других странах. Сорт триплоидого банана Кавендиш занимает основные площади под этой культурой.

Нельзя отдать абсолютного предпочтения полиплоидным сортами и гибридам перед диплоидными. Успехи селекции в выведении то тех, то других меняют соотношение их в сортименте. В 1960–1970/х гг. селекция тетраплоидов ржи испытала настоящий взлет. Но тетраплоидные сорта не вытеснили диплоиды. Напротив, успехи селекции диплоидных потеснили тетраплоидные сорта. Тем временем развернулась селекция гетерозисных гибридов ржи, которые в Германии, например, заменили обычные сорта.

Многое зависит и от культуры. Триплоидные гибриды сахарной и кормовой свеклы вытесняются межлинейными гетерозисными гибридами, тетраплоидный клевер и тетра-, триплоидные плодовые сохраняют и укрепляют свои позиции.

Хороший пример динамики площадей под влиянием успехов селекции представляет амфидиплоид ржи и пшеницы — **тритикале.** После получения первых коммерческих сортов эта культура заняла в мире примерно 1 млн га.

**ГАПЛОИДИЯ. УСПЕХИ ЕЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ**

Гаплоиды — организмы, которые содержат одинарное число хромосом. Нормальный мейоз у них невозможен, поскольку отсутствуют гомологи в хромосомном наборе и, следовательно, мейоз протекает с нарушениями: биваленты в метафазе не образуются, а значит, не могут возникнуть и нормальные гаметы. Гаплоиды не образуют семян. Но если их полиплоидизировать, плодовитость восстанавливается и при этом образуются гомозиготы.

Это обстоятельство и применяется в селекции: за очень короткое время можно получить «чистые линии» у перекрестников и использовать их в качестве самоопыленных линий, что практикуется сейчас в селекции гетерозисных гибридов.

В обычной селекции самоопылителей, где работа с гибридными поколениями требует получения чистолинейного материала, гаплоиды позволяют избавиться от гетерозигот уже в первом поколении.

Есть еще одно важное преимущество использования гаплоидов в селекции растений: применение гаплоидии позволяет существенно сократить объем гибридной популяции без ущерба для результативности отбора.

*Чтобы продемонстрировать это, воспользуемся обычной моделью — дигибридным скрещиванием. Если это гаплоид, он способен образовать после полиплоидизации четыре генотипа, т. е. столько, сколько видов гамет дает дигибрид. Если же это — диплоид, то согласно решетке Пеннета, в F2 она имеет 4 \* 4 = 16 клеток. Но это не значит, что диплоид способен в F2 дать 16 генотипов. Здесь генотипы повторяются. Во-первых, вся диагональ сверху справа до снизу слева заполнена одним генотипом — гетерозиготой. Во-вторых, есть повторения (по одному разу) других генотипов. И только вторая диагональ заполнена неповторяющимися генотипами.*

*Можно убедиться, что и три- и тетра- и скрещивания с большим числом локусов дают такую же картину. Число «независимых» генотипов в скрещиваниях разной аллельности подчиняется формуле Н = х/2 + 1, где х — степень гибридности. Отсюда число генотипов у дигаплоида в F2 после полиплоидизации равно 2Н – 1.*

*Таким образом, гаплоидия позволяет обходиться гораздо более малочисленными популяциями. И, действительно, сорта ячменя, полученные с помощью гаплоидов, это подтверждают. Популяция, из которой были получе ны первые в СССР дигаплоидные сорта Исток и Одесский 115, состояла всего из 41 элитной линии.*

Гаплоиды могут быть успешно применены и при отдаленной гибридизации, если родительские формы кратно отличаются числом хромосом. Так, перевод картофеля на гаплоидный уровень позволил получить гибриды в достаточном количестве при скрещивании *S.* *tuberosum*, тетраплоидом, имеющим 48 хромосом с S. rybinii (24 хромосомы).