

УДК 633.63..631.581.3

# МЕТОДИ СТВОРЕННЯ ГОМОЗИГОТНИХ ЛІНІЙ У СЕЛЕКЦІЙНИХ МАТЕРІАЛАХ ЦУКРОВИХ БУРЯКІВ (*BETA VULGARIS*) З АПОЗИГОТИЧНИМ СПОСОБОМ РЕПРОДУКЦІЇ НАСІННЯ

РОЇК М.В.,

академік НААН, д.с.-г. наук, ІБКіЦБ;

КОВАЛЬЧУК Н.С.,

зав. лаб. цитогенетики, с.н.с., ІБКіЦБ;

ЗІНЧЕНКО О.А.,

ст. н. спів., уч. секретар

адміністративного управління ІБКіЦБ;

ФЕДОРЩАК Л.Г.,

зав. лаб. апоміксису і поліплоїдії

Ялтушківської ДСС;

ВЛАСЮК В.І.,

зав. лаб. адаптивної селекції

Веселоподільської ПДОСС;

ЯВНЮК О.М.,

н. с. лаб. апоміксису і поліплоїдії

Ялтушківської ДСС.

Інститут біоенергетичних культур  
і цукрових буряків НААН, вул. Клінічна,  
25, Київ, 03110, УкраїнаТел. (044) 275-50-00, факс (044) 275-  
50-00. E-mail: sugarbeet@ukr.net; www.  
sugarbeet.com.ua

**Постановка проблеми.** В Україні цукрові буряки (цукор) залишаються постійною складовою харчового балансу, а також однією з перспективних біоенергетичних культур. Серед перспективних напрямків — міжвидова гібридизація, яка є основою для виведення нових сортів із 20–30-х років минулого століття, в зв'язку з ростом нових вірусних захворювань та зміною кліматичних умов. Використання генетичного потенціалу диких видів роду *Beta* L для створення нових сортів енергетичних цукрових буряків забезпечує тривалий процес реципропних схрещувань, вивчення особливостей репродуктивних процесів нових гібридів.

Апоміксис і амфікисис — утворюють єдину систему репродукції у рослин, але часто відіграють неоднозначну роль для еволюції видів у природі [1]. За літературними джерелами відомо, що однобатьківська репродукція насіння у рослин знаходиться під складним генетичним контролем, але основи його спадковості й мінливості залишаються недослідженими [2]. Більшість дослідників з апозиготії в рослин вважають, що в даному разі зародок без запліднення та запліднення виникає не в результаті об'єднання генеративних клітин, а завдяки

клонуванню материнської тканини насінневого зачатку [2, 3]. З використанням ембріологічних досліджень встановлено, що залежно від способу формування зародкових мішків, природа розвитку апозиготичного зародка визначається типом апоміксису: диплоспорія, апоспорія, адвентивна ембріонія, партеногенез [4, 5, 6].

Здатність рослин до різних способів насінневої репродукції розглядається вченими на даний час як внутрішньопопуляційний поліморфізм репродуктивних ознак [7].

При апозиготії, а саме диплоспорії, зародковий мішок розвивається з нередукованого мегаспороцита. У деяких мейоз може бути замінений мітозом або ж відсутній другий поділ [6]. Низька насіннева продуктивність характерна багатьма іншими видами, незалежно від типів апозиготії й є одним із невіршених завдань для широкого використання нового способу репродукції насіння в селекції рослин [4, 8, 9]. Так у більшості видів нуцелярна й інтегументальна ембріонія поєднується з генеративним партеногенезом і зародками, що потрапляють в зародковий мішок із зовні. Присутність одночасно гаплоїдного зародка з редукованих клітин і адвентивного із соматичних цілком можлива [1, 6].

Серед основних відмінностей:

- різна плодючість клітин зародкових мішків (апоспоричних і мейотичних);
- відмінність в структурі геному зародка (з материнським геномом, як при адвентивній ембріонії або рекомбінантним, із редукованих і нередукованих клітин зародкового мішка).

На прикладі апозиготичних ліній з ЦЧС *S. vulgaris* типу цукрових буряків і алоплазматичних ліній з новими стерильними цитоплазмами від диких видів *Beta maritima* і *Beta patula* розглянуті цитогенетичні особливості генезису клітин нездорілих апоміксису зародків, індукованих *in vitro* на стадії ембріонального розвитку 12 днів, 20 днів, 22 днів.

Незважаючи на великий інтерес до вивчення генетичних основ і молекулярних механізмів апоміксису, представлення про природу цього явища до цих пір залишаються дослідженими недостатньо в плані внутрішньоклітинної геномною мінливості, диференціації зародків за природою апозиготії, способів стабілізації геному для використання в селекційному процесі.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Партеногенез — це розвиток зародка із незаплідненої яйцеклітини, можливий диплоїдний і гаплоїдний партеногенез [10]. Диплоїдний партеногенез має місце в зародкових мішках із відсутністю мейозу (диплоспоричний партеногенез) і при апоспорії (апоспоричний партеногенез). Гаплоїдний партеногенез спостерігається в редукованих зародкових мішках, клітини якого утворились в результаті мейотичного поділу. Доведено, що гаплоїдні зародки, якщо не відбувається диплоїдизація — не дієздатні, їх частка всього 1–2%. За літературними даними, він описаний у цілому ряду видів (*Datura*, *Nicotiana*, *Triticum*, *Oryza*, *Hordeum*, *Brassica*, *Crepis*, *Solanum*, *Zea*, *Gossypium* і ін.) [11]. Проте відсоткова частка гаплоїдного партеногенезу та гаплоїдних зародків у деяких видів із апозиготією і новими інтродукційними цитоплазмами від диких видів, як, наприклад, у алоплазматичної лінії *Triticum aestivum* може досягати 90% [11].

Практичне значення апоміксису — велике, завдяки можливості зберігати гібридні (F1) та гетерозисні властивості в господарсько-цінних рослин протягом багатьох років і в цілому ряді поколінь. [1, 2, 3].

Вперше утворення апоміксисних зародків у цукрових буряків спостерігав М. В. Фаворський (1928) [12]. В Інституті біоенергетичних культур і цукрових буряків апоміксичний спосіб репродукції насіння був досліджений у селекційних матеріалів з ядерною і цитоплазматичною чоловічою стерильністю, анеуплоїдних форм цукрових буряків і самозапилених ліній [13]. Перші публікації про розмноження шляхом апоміксису диких видів роду *Beta* L. належать К. Вароска (1966) [14]. Малецька К. І. (2009) довела, що апоміксичне розмноження в пилкостерильних ліній цукрових буряків за умов безпилкового режиму не є соматичним клонуванням і випадком нуцелярної ембріонії, а, в основному, природою зародків є гаметофітний редукований і нередукований партеногенез [15]. На таку особливість розвитку зародків при апозиготії звернена увага польської вченої Tereza Szkućnik (2011) в докторській дисертації з використанням генетики ізоферментів [8].

Богомолів (2017) спостерігав у цукрових буряків гаметофітний апоміксис як результат відсутності процесу мейозу при індукції апозиготії з використанням диких

видів *B. corolliflora* L. ( $2n=36$ ) *B. trigina* L. ( $2n=56$ ), опромінених високими дозами радіації [16]. У  $\gamma$ -ліній однопорядковий зародковий мішок формувався із мегаспороциту, що подібний до диплоспориї, де всі ядра мають нередуковане число хромосом. Бомолов вперше отримав районовані гібриди з використанням апоміктичних роздільноплідних пилкостерильних ліній цукрових буряків із продуктивними можливостями, що успішно конкурували з державними стандартами [16].

Досліджено, що залежно від способів індукції гаплоїдного партеногенезу в цукрових буряків, вихід гаплоїдів не буває більше 1–3% і змінюється від генотипу 0 до 13% [17]. Жужжалова й ін. (2016) дослідили, що серед найбільш ефективних технологій стимуляцію розвитку гаплоїдів від 3,0% до 9,8% забезпечувало рідке живильне середовище з включенням цитокініну БАП 1,0 мг/л [18].

Гаплоїдні проростки в насінні цукрових буряків, зав'язаному апозиготичним способом, вперше виділила Малецька [15]. Вихід гаплоїдів за даними дослідників змінюється від 5–6 до 10–12%, але включає тривалий процес стабілізації плідності, як соматичних, так і генеративних клітин досліджуваного матеріалу. В ІБКІЦБ із залученням 150 пилкостерильних ліній і безпилкового режиму доведено, що суспензії листків у рослин-апоміктів включають гаплоїдні, диплоїдні й тетраплоїдні, а також диплоїдні, тетраплоїдні та октоплоїдні фракції на гістограмах розподілу інтерфазних ядер за вмістом ДНК на АП "Partec" [19].

Досліджено, що насіння селекційних матеріалів цукрових буряків, яке зав'язано без заплінення, завдяки поліембріонії характеризується генетичною різноманітністю та наявністю 2–3 проростків у деяких роздільноплідних плодів [15, 20]. Ембріологічні дослідження показали їх природу, як із соматичних клітин (адвентивна ембріонія), так і генеративних клітин зародкового мішка [20]. Левітес і ін. (2016) встановили, що поліморфізм ферментів, виявлений у таких рослин, зв'язаний з редетермінацією ферментного локуса і мінливістю експресії за структурою ізоферментів при апозиготії в цукрових буряків [21].

Аналіз експериментальних даних дослідників з апозиготії у цукрових буряків вказує на те, що мінливість рівня плідності, міксоплоїдія є важливим фактором, який впливає на характер епігенетичної мінливості селекційно-цінних ознак у рослин, а саме – роздільноплідності та стерильності материнських компонентів [7, 17, 21]. Лише проблема диференціації потомств за типом апозиготії, соматичний і генеративний редукований апоміксіс у матеріалів із ЦМС та прийоми стабілізації рівня плідності геному за умов високих показників генетичної детермінації однобатьківської репродукції насіння, дозволять реалізувати проблему використання апозиготичного способу репродукції насіння для отримання константного потомства й закріплення гетерозису.

А тому метою наукової статті є дослід-

ження ефективності гаплоїдного редукованого партеногенезу, індукції ліній подвоєних гаплоїдів в умовах *in vitro* у регенерантів ембріокультури при апозиготії й ЦМС, залежно від генотипу та плазмотипу насінних рослин-донорів цукрових буряків. Для досягнення даної мети в експериментальних дослідженнях поставлені наступні завдання:

- дослідити морфогенетичні особливості індукції біотехнологічних ліній у культурі незрілих апоміктичних зародків.

- вивчити мінливість рівня плідності геному в регенерантів незрілих апоміктичних зародків, залежно від різного походження селекційного матеріалу з використанням комп'ютерних програм АП "Partec".

- виділити гомозиготні лінії на основі диференціації й добору *in vitro* гаплоїдів, і подвоєних гаплоїдів, без дії мутагенної речовини колхіцину.

З використанням культури незрілих апоміктичних ембріонів в короткий термін можливо отримати лінії подвоєних гаплоїдів, що характеризуються повною гомозиготністю, а саме — ідентичністю генів гомологічних хромосом, контролюючи рівень плідності геному рослин-регенерантів.

**Матеріали і методи.** Вихідним матеріалом для досліджень використані:

- пилкостерильні роздільноплідні лінії з апозиготичною репродукцією насіння А4–7 Ялтушківської ДСС за селекційними номерами: 13–136 р.4, 11, 12; 13–138 р.1, 2, 5, 7, 8;

- алоплазматичні лінії на основі нових стерильних цитоплазм від диких видів *Beta maritima* та *Beta patula*, з високою апоміктичною репродукцією насіння за селекційними номерами: В3СS *maritima* (Греція) А2:18, В4СS *patula* А2:18, В3СS *maritima* (Туреччина) А1:18, В6СS *patula* А2:18 р.5.

Коренеплоди реципрокних потомств В3СS *maritima* (Туреччина) А1:18 і В6СS *patula* А2:18 р.5 з новими інтродукційними цитоплазмами, донори незрілих апоміктичних зародків, вирощені в природно-кліматичних умовах Веселоподільської ДСС. Безпилковий режим репродукції насіння роздільноплідних пилкостерильних ліній цукрових буряків був забезпечений просторовою ізоляцією в умовах вегетаційних судів ІБКІЦБ.

Алоплазматичні лінії, створені в лабораторії цитогенетики за генетичною моделлю, що контролює цитоплазматичний тип стерильності експресію рецесивних алелей ядерних генів закріплювачів стерильності: забарвлення гіпокотелю *g-g-*, дворічного циклу розвитку *b-b-*, роздільноплідності *mm*, стерильність *hxzz* [22].

**Безпилковий режим для індукції апозиготичного насіння.** Метод безпилкового режиму включає вирощування рослин цукрових буряків із фенотипом ЧС-0 на ізоляційних ділянках у селекційно-тепличному комплексі. У серпні місяці висівають насіння ЧС-ліній за циклом (від насінини до насінини). В травні наступного року під час цвітіння насінників у кожній рослині визначають фенотип за ознаками пилку до розкриття квіток. На репродукцію залишають

рослини з повністю стерильним пилком — фенотип ЧС-0 за Оуеном (1945). Для контролю апозиготичного способу розмноження на окремі гілки насінників ставлять пергаментні ізолятори. Під час цвітіння в травні-червні температура піднімалася від 38 °С до 51 °С у денні години. Відбирають для дослідження ембріонального розвитку зародків та індукції ембріокультури від 100–150 насінників кожної апоміктичної лінії не менше десяти за ознакою роздільноквітковості та стерильності пилків [19].

Для безпилкового способу репродукції відбирали насінні рослини ЧС-0 типу й бракували ЧС-I і ЧС-II типу за Оуеном (1945) [23].

**Оцінка ембріонального розвитку апоміктичних зародків.** Серед насінних рослин цукрових буряків, донорами незрілих зародків відбирали кращі за розвитком генеративних пагонів роздільноплідні пилкостерильні біотипи. Проводили відмітку цвітіння й фіксацію насінневих зачатків для дослідження особливостей ембріонального розвитку на 12 добу, 22 добу, 28 добу, 32 добу з використанням модифікованої за терміном фіксації методики Ширяєвої Е.І (1983) для цукрових буряків [24].

Фіксацію апоміктичних зародків проводили в оцетоалкоголі 3:1. Промивали в проточній воді 12 годин, готували зрізи та переносили на предметні скельця в розчин гліцерину й йоду. Методика дозволяє спостерігати розвиток зародків на 5 добу від початку цвітіння з формовання зародка на стадії "шароподібній", «серце» стадія спостерігається на 8 добу, а на 10–12 добу сім'ядолі й гіпокотель збільшуються в довжину і зародок приймає "торпеда" або «с=к». На 16 добу зародок досягає « $\frac{1}{2}$ » зародкового мішка, а на 20–22 добу « $\frac{3}{4}$ » зародкового мішка. На 24 добу зародок розвивається до халазального кінця насінневого зачатку й завершує розвиток на 28 добу. Для цитологічного аналізу був використаний мікроскоп МБС-1 при збільшенні об'єктів 12,5x7. Фотографування мікрооб'єктів було здійснено за допомогою цифрової камери Sigeta з комп'ютерною програмою TourView.

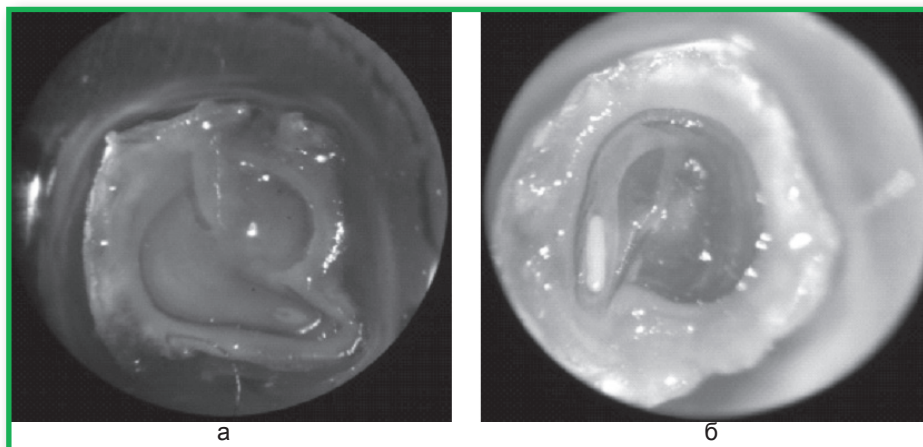
**Методика отримання культури незрілих ембріонів у селекційних матеріалів цукрових буряків із цитоплазматичною чоловічою стерильністю й апозиготією.**

Відбирали коренеплоди, насінних рослин-донорів незрілих апоміктичних зародків, серед пилкостерильних ліній цукрових буряків і алоплазматичних ліній з присутністю алеля маркерного червоного забарвлення гіпокотеля R+.

Для індукції культури незрілих апоміктичних зародків, склад живильних середовищ підбирали з використанням різного співвідношення цитокінінів, ауксинів, вуглеводів, амінокислот на основі макро й мікро солей Gamborga (5) [25]. Враховували термін ембріонального розвитку апоміктичних зародків від початку цвітіння насінних рослин.

Відбирали насінневі зачатки на стадіях ембріонального розвитку апоміктичних зародків від 12 доби до 32 доби. Для акти-





**Рис. 1** 36. 12,5\*7 Стадії ембріонального розвитку апоміктичних зародків, донорів ембріокультури: а) розвиток на стадії «серце» в алоплазматичній лінії ВЗСS *maritima* (Греція) А2:18 р.1 на 20 добу; б) «сім'ядолі=корінцю» в лінії 13–136 р.5 на 22 добу.

візації ростових процесів сформовані ембріоструктури переносили на середовище за прописом Гамборга з додаванням БАП 0,3 мг/л і гібереліну 1 мг/л [26].

Регенеранти II-го пасажу кожного генотипу окремо аналізували як за маркерним забарвленням (R+r-), так і за рівнем плоідності геному з використанням комп'ютерних програм АП «Partec». Для визначення плоідності використані листки нових регенерованих *in vitro* пагонів. Відібрані за морфологічними ознаками розвитку листя, регенераційною здатністю експериментальні номери визначали за плоідністю. Стабілізовані за рівнем геному клони 2x (100од; 200од), тиражували і відбирали за морфологічними ознаками впродовж III–IV пасажів. Для вкорінення використовували середовище з додаванням нафтил-оцтової та індолил-масляної кислоти [26]. Стабілізуючий добір розвинених пагонів *in vitro* забезпечує вирівненість експериментального матеріалу за морфологічними ознаками й високою регенераційною здатністю.

Для встановлення достовірності проведених досліджень і правильно підібраної вибірки для аналізу проводили обрахунок

величини похибки репрезентативності  $m$ , що у відсотках дозволяє контролювати суттєвість досліду за методикою статистичного аналізу [7]. Середня похибка репрезентативності  $m$  у відсотках визначалась за формулою:

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

де відсоток регенерантів з ембріокультури, визначених за типом морфогенезу залежно від гормонального складу культуральних середовищ, або за рівнем плоідності геному%, з використанням цитофотометричних методик; кількість висаджених насінневих зачатків.

**Результати експериментальних досліджень.** У алоплазматичній лінії ВЗСS *maritima* (Греція) А2:18 спостерігали розвиток апоміктичних зародків на стадії «серце» на 20 добу, що відстає від гібридного на 12 діб (рис. 1а).

В апоміктичній лінії Ялтушківської ДСС (А6) 13–138 р.1, при значній дегенерації

насінневих зачатків у безпилковому режимі, розвиток апоміктичних зародків на 22 добу спостерігали на стадії «сім'ядолі = корінцю» (рис. 1б), що відстає від гібридного на 10 діб.

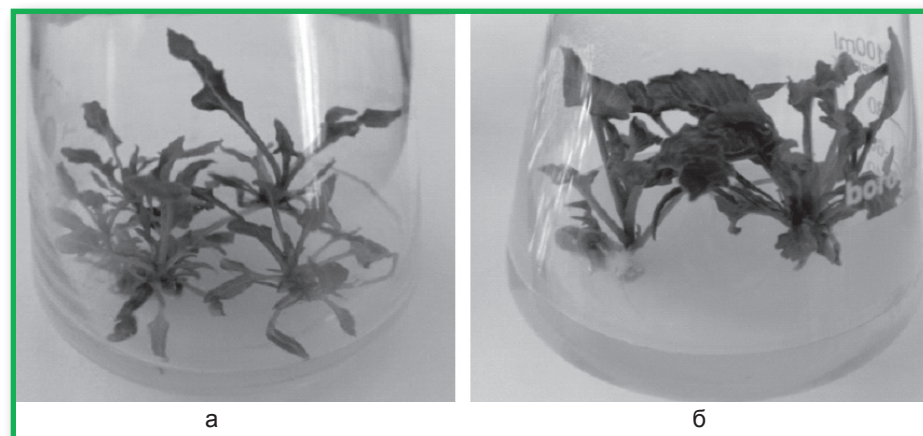
При цьому розвиток гібридного зародка за терміном 22 добу відповідає його повному розвитку й заповнює  $\frac{3}{4}$  зародкового мішка. Так, на 12 добу ми спостерігали ембріональний розвиток апоміктичних зародків на стадії «шар», «булава», а на 20–22 добу — на стадії «серце», «сім'ядолі=корінцю», «проембрію», залежно від генотипу насінних рослин-донорів.

За умов температури +33 °C *in vitro* ізольовані недозрілі зародки сформували первинні листочки, корінці й утворили калюс залежно від складу культуральних середовищ. Аналізували три варіанти середовищ із різним співвідношенням цитокинінів, ауксинів та сахарози. Особливості індукції морфогенетичних процесів в ембріокультурі при апозиготії через пряму регенерацію, організовану зображено на рис. 2.

Диференціацію регенерантів ембріокультури було проведено за розробленим способом одержання гаплоїдних і дигаплоїдних ліній цукрових буряків при апозиготії і ЦЧС [27]. Гаплоїдні пагони, як і з рецесивним забарвленням *r-*, так і з присутністю доміантного алеля R+ червоного антоціанового забарвлення, регенерують у недозрілих апоміктичних ембріонів із клітин зародкового мішка. Міксоплоїдні (n, 2n, 4n) рослини з присутністю на гістограмах АП «Partec» фракції гаплоїдних інтерфазних ядер, сформовані в результаті тканинної диференціації, завдяки раніше дослідженому явищу ендомітозу при апозиготії в багатьох квіткових рослинах [21, 28]. Результати аналізу регенераційного потенціалу й мінливості за рівнем плоідності геному пагонів II-го пасажу, занесено в табл. 1.

Мінливість рівня плоідності геному за гістограмами розподілу інтерфазних ядер за вмістом ДНК у регенерантів ембріокультури при апозиготії і ЦМС зображено на рис. 3.

Аналізуючи дані табл. 1, спостерігаємо низький відсоток розвитку апозиготичних зародків *in vitro* на 22 добу ембріонального розвитку, що відповідає стадії «серце», «торпедо», « $\frac{1}{2}$  зародкового мішка в пилкостерильних ліній цукрових буряків з апозиготією відносно кількості висаджених насінневих зачатків. Показники регенерації пагонів у II-му пасажі змінюються від 8,84% до 16,07%, а відсоток гаплоїдів ідентифікованих за гістограмами ядерної ДНК АП «Partec» із присутністю фракції гаплоїдних і диглоїдних клітин (50 од., 100 од.) від 1,8% до 6,7%. У реципрокних потомств з інтродукційними новими стерильними цитоплазмами, відсоткова частка регенерованих пагонів змінюється від 8,6% до 67,9% і суттєво перевищує показники пилкостерильних ліній цукрових буряків, але залежить від генотипу донорних насінних рослин і генетичної детермінації апозиготичного способу репродукції насіння. Вихід гаплоїдів із зеленим *r-* забарвленням може досягати 14,3%. Виділені за гістограмами ядерної ДНК ди-

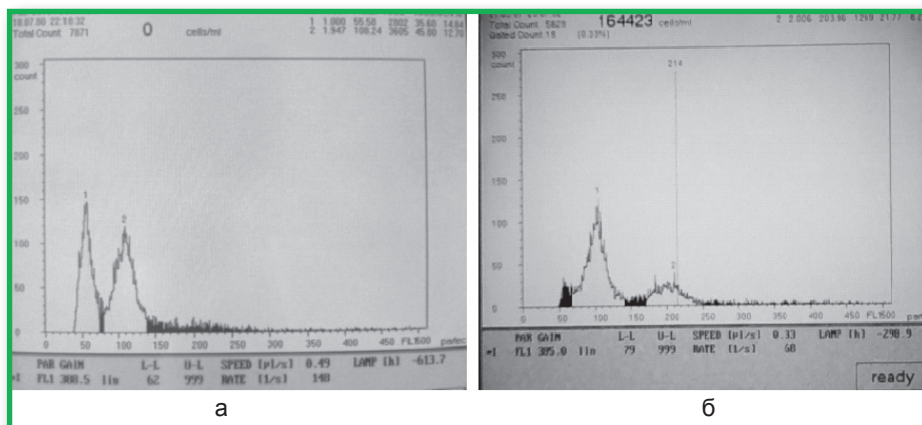


**Рис. 2** Індукція ембріокультури при апозиготії та ЦМС: а) пряма регенерація проростків у культурі недозрілих апоміктичних зародків; б) розвиток пагонів із морфогенного калюсу в культурі недозрілих зародків у лінії.

плоїдні рослини (100 од.; 200 од.) з домінантним червоним забарвленням R+ можуть бути ідентифіковані з використанням молекулярних маркерів або ізoferментного аналізу за подібністю генетичного матеріалу до вихідної материнської форми.

Важливою ознакою генеративного редукованого партеногенезу є присутність фракції гаплоїдних інтерфазних ядер на гістограмах АП «Partec». За даними табл. 2, ефективність даного способу добору визначається за сумарною ваговою часткою як гаплоїдних, так і міксоплоїдних регенерантів.

Раніше встановлено, що явище міксоплоїдії в цукрових буряків із ЦЧС детермінується особливістю поділу соматичних клітин при апозіготії. Фракція диплоїдних ядер у гаплоїдних пагонів (50 од.; 100 од.) на гістограмах ДНК — це клітини, які перебувають в активному поділі. Частка ідентифікованих регенерантів за генеративним редукованим партеногенезом у пилкостерильних ліній цукрових буряків з апозіготиєю змінювалась від 1,8% до 10,0% і від 7,0% до 13,4% та, насамперед, залежала від генетичної детермінації апозіготичної



**Рис. 3** Гістограми розподілу інтерфазних ядер за вмістом ДНК у регенерантів ембріокультури цукрових буряків при апозіготії й ЦЧС: а) гістограми гаплоїдних пагонів на АП «Partec» з розподілом інтерфазних ядер на каналах (50 од.; 100 од.); б) гістограма стабілізованих за рівнем геному диплоїдів (100 од.; 200 од.).

репродукції насіння в умовах безпилкового режиму. Мінливість за відсотковим значенням гаплоїдів і міксоплоїдів від 16,0% до 62,2%, характерна для селекційних ма-

теріалів із стерильною цитоплазмою Beta patula, що може в даному випадку залежати від поліембріонії в селекційного номера B4CS patula A2:18.

**Таблиця 1.**

**Мінливість плоїдності регенерантів культури недозрілих апоміктичних зародків цукрових буряків і алоплазматичних ліній за вмістом ДНК в інтерфазних ядрах**

№ п/п	Польовий номер	Термін фіксації діб	Генотип рослин донорів	Висаджено насінневих зачатків, шт.	Регенеровано пагонів II пасаж** шт., $P \pm mp$	Із них за плоїдністю, залежно від кількості висаджених насінневих зачатків* шт., (%)						
						зелених, г-			червоних, R+			
						x	2x	x, 2x, 4x	x, 2x, 4x	2x	2 x, 4x, 8x,	
1	B3CS maritima (Греція) A2:18 p.7											
	p. 1***	22	R+-	210	23,3±2.3	14 (6,7)	-	13 (6,2)	4 (1,9)	18 (8,6)	-	
	p. 2	28	R+-	150	18,7±3.18	5 (3,3)	-	11 (7,3)	5 (3,3)	7 (4,7)	-	
2	B4CS patula A2:18 p.3											
	p. 1	12	R+-	250	34,8±3.02	14 (5,6)	-	28 (11,2)	20 (8,0)	25 (10,0)	-	
	p. 2	22	R+-	75	16,0±4.2	6 (8,0)	-	1 (1,3)	5 (6,7)	-	-	
	p. 3	32	R+-	84	67,9±5.1	12 (14,3)	-	22 (26,2)	18 (21,4)	27 (32,1)	5 (6,0)	
3	B3CS maritima (Туреччина) A1:18 p.4											
	p. 1	12	R+-	250	4,0±1.2	15 (6,0)	-	45 (18,0)	10 (4,0)	17 (6,8)	13 (5,2)	
	p. 2	22	R+-	171	45,0±3.8	14 (8,2)	-	22 (12,9)	-	29 (17,0)	12 (7,0)	
	p. 3	32	R+-	150	46,0±4.1	9 (6,0)	-	25 (16,7)	9 (6,0)	26 (17,3)	-	
4	B6CS patula A2:18 p.5											
	p.2	12	R+-	175	86±2.6	-	-	5 (2,9)	5 (2,9)	-	5 (2,9)	
	p.5	22	R+-	112	23,0±4.0	-	-	18 (16,1)	-	-	8 (7,1)	
5	13-138 A6:18 p.7											
	p.1	22	R+-	112	16,1±3.5	2 (1,8)	-	-	-	8 (7,1)	8 (7,1)	
	p.5	22	R+-	215	8,8±1.9	8 (3,7)	-	11 (5,1)	-	-	-	
	p.8	22	R+-	150	10,0±2.5	3 (2,0)	-	12 (8,0)	-	-	-	
	13-136 A6:18 p.7											
	p.4	22	R+-	105	13,3±3.3	7 (6,7)	-	7 (6,7)	-	-	-	
	p.12	22	R+-	100	12,0±3.2	2 (2,0)	-	5 (5,0)	-	-	5 (5,0)	

**Примітка:** \*Аналіз проведений на АП «Partec» за вмістом ДНК в інтерфазних ядрах; \*\* термін розмноження клонів 12–14 днів в умовах *in vitro*; \*\*\* номер рослини-донора насінневих зачатків.



Таблиця 2.

Ефективність способу індукції гаплоїдів і міксоплоїдів в культурі недозрілих апоміктичних зародків у селекційних матеріалах із ЦМС різного походження

№ п/п	Селекційний номер, термін репродукції	Польовий номер	Висаджено насіннєвих зачатків шт.	Показники ефективності генеративного партеногенезу* за гістограмами АП "Partec"				Всього, Р ±mр
				х		х,2х, 4х**		
				шт	%	шт.	%	
1	В3CSmaritima (Греція) А2:18	p.1	210	14	6,7	17	8,1	14,8±2.7
		p.2	150	5	3,3	16	10,6	13,9±2.8
2	В4CS patula А2:18	p.1	250	14	5,6	48	19,2	24,8±1.9
		p.2	75	6	8,0	6	8,0	16,0±4.2
		p.3	84	12	14,6	40	47,6	62,2±5.3
3	В3CSmaritima (Туреччина) А1:18	p.1	250	15	6,0	55	22,0	28,0±2.8
		p.2	171	14	8,2	22	12,9	21,1±3.1
		p.3	150	9	6,0	34	22,7	28,7±3.7
4	В6CS patula А2:18	p.1	175	-	-	10	5,7	5,7±1.8
		p.2	112	-	-	18	16,1	16,1±3.5
5	13-138 А6:18	p.1	112	2	1,8	-	-	1,8±1.3
		p.5	215	8	3,7	11	5,1	8,8±1.9
		p.8	150	3	2,0	12	8,0	10,0±2.5
6	13-136 А6:18	p.4	105	7	6,7	7	6,7	13,4±3.3
		p.12	100	2	2,0	5	5,0	7,0±2.5

Примітки: \* ефективність гаплоїдного редукованого партеногенезу, за відсотковим співвідношенням пагонів із фракцією гаплоїдних інтерфазних ядер;

\*\* міксоплоїди х, 2х, 4х є регенерантами редукованих клітин зародкового мішка, завдяки ендомітозу та соматичній поліплоїдизації при апомітозі.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДжЕРЕЛ

- Hojsgaard D., Klatt S., Baier R., Carman J. G., Hörandl E. Taxonomy and Biogeography of Apomixis in Angiosperms and Associated Biodiversity Characteristics. // CRC Crit Rev Plant Sci. 2014; 33(5):414–427 (doi:10.1080/07352689.2014.898488).
- Okada T., Ito K., Johnson S. D., et al. Chromosomes Carrying Meiotic Avoidance Loci in Three Apomictic Eudicot Hieracium Subgenus Pilosella Species Share Structural Features with Two Monocot Apomicts / Plant Physiol. 2011; 157:1327–1341(doi:10.1104/pp.111.181164).
- 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: 160–169 (doi:10.1270/jsbs.62.160).
- Hand M. L., Vit P., Krahulcová A., Johnson S. D., Oelkers K., Siddons H., Chrtěk J.J.R., Fehrer J., Koltunow A. M. Evolution of apomixis loci in *Pilosella* and *Hieracium* (Asteraceae) inferred from the conservation of apomixis-linked markers in natural and experimental populations. // Heredity (Edinb). 2014; 114(1): 17–26 (doi:10.1038/hdy.2014.61).
- Г. А. Герашенков, Н. А. Рожнова, Скрининг геномных локусов, ассоциированных с гаметофитным апомиксисом у растений *Voechera holboellii* (семейство Brassicaceae)/Фактори експериментальної еволюції організмів /2013; Т. 12:107–111 (http://nbuv.gov.ua/UJRN/feeo\_2013\_12\_27).
- Naumova T. N., Hayward M. D., Wagenvoort M. Apomixis and sexuality in diploid and tetraploid accession of *Brachiaria decumbens* Sex Plant Reprod. — 1999; Vol.12:43–52. https://doi.org/10.1007/s004970050170.
- Малецький С. І. Епигеномна і епіпластомна изменчивість у гаплоїдних і дигаплоїдних рослин сахарної свекли (*Beta vulgaris* L.) / Юданова С. С., Малецька Е. І. // Сельськогосподарська біологія, 2015; 50(5):579–589 (doi:10.15389/agrobiology.2015.5.579Rus).
- Tereza Szkutnik, Apomixis in the suger beet/Reproduction system/ Acta biologica cracoviensis Serus Botanica, 2011; Vol.52/1:87–96, (https://doi.org/10.2478/v10182-010-0011-y).
- А. С. Кашин, М. И. Цветова, Ю. А. Демочко, Цитологические особенности генезиса клеток апикальных меристем при гаметофитном апомиксисе (на примере

- автономных апомиктов Asteraceae) / ISSN0564–3783. Цитология и генетика. 2011; № 2:28–38 (http://nbuv.org.ua/UJRN/KLG\_2011\_45\_2\_7).
- Gerashchenkov G., Rozhnova N., Gulnar R., Yasybaeva, Chemeris A. 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): Is. 2 (doi:10.13187/ejmb.2015.8.56)
- Т. Н. Наумова Апомиксис и амфимиксис у цветковых растений // Цитология и генетика / ISSN0564–3783, 2008: 51–63 (http://dspace.nbuv.gov.ua/handle/123456789/8094)
- Фаворский Н. В. Материалы по биологии и эмбриологии сахарной свеклы /Н.В. Фаворский/Труды НИС. 1928; вып. 2:41–45.
- Ширяева Э. И., Ярмолюк Г. И., Кулик А. Г., Червякова В. А. Апомиксис у самоопыленных линий сахарной свеклы и использование его в селекции на гетерозис // Цитология и генетика. 1989; Т. 24. № 3. С. 38–44.
- Barocka, K-H: Die Sektion Corollinae der Gattung Beta L. Z. Pflanzenzucht., Hamburg 56, 1966:379–388.
- Maletskaya E. I. Haploids in Apozygotic Seed Progenies of Sugar Beet (*Beta vulgaris* L.) / Maletskaya E. I., Yudanov S. S., Maletskii S. I. / Sugar Tech. — 2009; 11(1):61–65 (doi:10.1007/s12355-009-0010-z).
- Богомолов М. А., Апомиксис у сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.). Технология высоких урожаев 2018;11:27–33. http://saharmag.com/netcat\_files/userfiles/other/Bogomolov.pdf.
- Murovec J., Bohanec B. Haploids and doubled haploids in plant breeding. In: Plant breeding / I. Abdurakhmonov (ed.). InTech d.o.o., Croatia, 2012:87–106 (doi:10.5772/1389).
- Жужалова Т. П. Гаплоидный партеногенез in vitro у сахарной свеклы (*Beta vulgaris*): факторы диагностические признаки/ О. А. Подвигина, В. В. Знаменская, Е. Н. Васильченко, Н. А. Карпаченко, О. А. Землянухина/Сельскохозяйственная биология — 2016; 51(5): 636–644 (doi:10.15389/agrobiology.2016.5.636eng).
- Роїк М. В. Апомітозія як метод створення вихідних матеріалів буряків цукрових. / Н. С. Ковальчук, О. А. Яцева / Вісник аграрної науки. 2014; 11:45–49. (http://nbuv.gov.ua/UJRN/vaan\_2014\_6\_11).
- Жужалова Т. П. Генетическая разнокачественность семян и методы ее преодоления. / О. А. Подвигина.//Сахарная свекла. —2011, Вып. 7. С. 14–17.
- Levites, E., & Kirikovich, S. The heteroallicity instead of heterozygosity in

За даними табл. 2, стабільні показники 13,9%; 14,8% і 21,1%; 28,7% за гаметофитним редукованим партеногенезом характерні для контрольних генотипів алоплазматичних ліній із стерильною цитоплазмою *Beta maritima* походженням із Греції та Туреччини.

Одним із основних етапів створення гомозиготних ліній in vitro, як і в випадку індукції гіногенетичних гаплоїдів, є поліплоїдизація та стабілізація гаплоїдних біотехнологічних ліній за рівнем плоідності геному. Даний етап включає пересадку на культуральні середовища відібраних селекційних номерів із використанням поліплоїдизуючої речовини. У випадку індукції ембріокультури апоміктичних зародків і клонування на звичайному культуральному середовищі для цукрових буряків були виділені лінії подвоєних гаплоїдів у всіх досліджуваних селекційних номерів без дії колхіцину. Стабілізовані за вмістом ДНК в інтерфазних ядрах і вкорінені пагони перенесені в ґрунт в умовах селекційно-тепличного комплексу Ялтушківської ДСС.

ВИСНОВКИ

1. На даний час роль нової системи розмноження насіння в роздільноплідних пилкостерильних ліній цукрових буряків досить незначна, поки не встановлені основні технології диференціації рослин за природою апоміктичних зародків, а також прийоми стабілізації рівня плоідності геному для контрольованої передачі селекційно-цінних ознак потомству.

2. Факультативну апомітозію в цукрових буряках запропоновано використовувати як високоефективний спосіб індукції гомозиготних ліній in vitro.

3. Отримані гомозиготні лінії для використання в наукових дослідженнях і селекції цукрових буряків.

haploids of sugar beet *Beta vulgaris* L. *Bulletin of Science and Practice*, 2017; 5:32–38. ([http://www.bulletennauki.com/levites/\\_2017\\_15\\_05](http://www.bulletennauki.com/levites/_2017_15_05))

22. Ройк Н. В. Новые стерильные цитоплазмы от дикой свеклы *Beta vulgaris* ssp *maritima* L. происхождения из Греции и Турции. /Ройк Н.В., Ковальчук Н. С., Потапович О. А. // Сахарная свекла. — 2013.-Вип. 4. С. 31–35.

23. Owen F. V. Cytoplasmically inherited male sterility in sugar beet / *Agric. Res.* 1945; 71(10): 423–440.

24. Ширяева Э. И. Цитозембриологические исследования в селекции сахарной свеклы. Методические указания. Киев. ВНИС. 1983. 34.

25. Gamburg O. L., Eveleigh D. Culture method and detection of gluconate in suspension cultures of wheat and barley / *Can. J. Biochem.* 1968;46:417–421.

26. Slavova J. Effective method for sugar beet haploids obtained from unpolluted ovules. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 2014; 7(2):34–35 (doi:10.1080/13102818.1993.10818689).

27. Ковальчук Н. С. Патент на винахід 104295 (Україна). Спосіб одержання гаплоїдних і дигаплоїдних ліній цукрових буряків на основі апозіготії та цитоплазматичної чоловічої стерильності/ Ройк М. В., Яцева О. А., Недяк Т. М., Потапович О. А., Качаловська С. О. — 2016р. (<http://uapatents.com/6-104295-sposib-oderzhannya-gaploidnih-i-digaploidnih-linij-cukrovikh-buryakiv-na-osnovi-apozigotii-ta-citoplazmatichno-cholovicho-sterilnosti.html>).

28. Кунах В. А. Миксоплоїдія у диких та культивованих видів хрестоцвітних, здатних до гібридації з ріпаком *Brassica Napus*/ В. С. Адонін, С. П. Ожередов, Я. Б. Блюм / *Цитология и генетика*. 2008; 3:81–86. (<http://dspace.nbuv.gov.ua/handle/123456789/8096>).

## REFERENCES

1. Hojsgaard D., Klatt S., Baier R., Carman J. G., Hörandl E. Taxonomy and Biogeography of Apomixis in Angiosperms and Associated Biodiversity Characteristics. *CRC Crit Rev Plant Sci.* 2014. 33 (5):414–427. doi:10.1080/07352689.2014.898488.

2. Okada T., Ito K., Johnson S. D., et al. Chromosomes Carrying Meiotic Avoidance Loci in Three Apomictic Eudicot Hieracium Subgenus Pilosella Species Share Structural Features with Two Monocot Apomicts / *Plant Physiol.* 2011; 157:1327–1341 (doi:10.1104/pp.111.181164).

3. Yamashita K, Nakazawa Y, Namai K., Amagai M, Tsukazaki H, Wako T, Kojima A. 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. *Breed. Sci.* 2012;62(2):160–9. doi:10.1270/jsbbs.62.160.

4. Hand ML, Vit P, Krahulcová A, Johnson SD, Oelkers K, Siddons H, Chrtek JJR, Fehrer J, Koltunov AM. Evolution of apomixis loci in *Pilosella* and *Hieracium* (Asteraceae) inferred from the conservation of apomixis-linked markers in natural and experimental populations. *Heredity* (Edinb). 2014; 114(1):17–26. doi:10.1038/hdy.2014.61.

5. Gerashenkov G. A., Rozhnova N. A., Screening of genome loci associated with gametophyte apomixes at *Boechea holboellii* plants (Brassicaceae family) / *Factors in Experimental Evolution of Organisms*. 2013; 12:107–111 ([http://nbuv.gov.ua/UJRN/feeo\\_2013\\_12\\_27](http://nbuv.gov.ua/UJRN/feeo_2013_12_27)).

6. Naumova T. N., Hayward M. D., Wagenvoort M. Apomixis and sexuality in diploid and tetraploid accession of *Bracharia decumbens*. *Sex Plant Reprod.* 1999;12:43–52. <https://doi.org/10.1007/s004970005170>.

7. Maletskii SI, Yudanova SS, Maletskaya EI. Analysis of epigenomic and epiplastome variability in the haploid and dihaploid sugar beet (*Beta vulgaris* L.) plants. *Agric. Biol.* 2015;50(5):579–89. doi:10.15389/agrobiology.2015.5.579.

8. Tereza Szkutnik, Apomixis in the sugar beet// *Reproduction system/ Acta biologica cracoviensis Serus Botanica*.2011; 52(1): 87–96 (<https://doi.org/10.2478/v10182-010-0011-y>).

9. Kashin A. S., Tsvetova M. I., Demochko Y. A., Cytogenetic peculiarities of cell genesis in apical meristems under gametophytic apomixes (using autonomous apomicts of the Asteraceae as an example). *Cytology and Genetics*. 2011; 2:28–38 ([http://nbuv.org.ua/UJRN/KLG\\_2011\\_45\\_2\\_7](http://nbuv.org.ua/UJRN/KLG_2011_45_2_7)).

10. Gerashchenkov G., Rozhnova N., Gulnar R. Yasybaeva, Chemeris A. 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;8: Is. 2. doi:10.13187/ejmb.2015.8.56.

11. Naumova TN. Apomixis and amphimixis in flowering plants. *Cytol. Genet.* 2008;42(3):179–88.

12. Favorsky N. V. Матеріали по біології і ембріології сахарної свеклы / *N.V Favorsky / Proceedings of the Sugar Research Institute*. 1928:41–45.

13. Shiryayeva E. I., Yarmolyuk G. I., Kulik A. G., Chervyakova V. A. Apomixis in self-pollinated sugar beet lines and its use in selection for heterosis. *Cytology and Genetics*. 1989 T. 24 (3), 38–44.

14. Barocka, K-H/: Die Sektion Corollinae der Gattung Beta L. Z. Pflanzenzucht., Hamburg 56, 1966:379–388.

15. Maletskaya EI, Yudanova SS, Maletskii SI. Haploids in apozygotic seed progenies of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Sugar Tech.* 2009;11(1):60–64. doi:10.1007/s12355-009-0010-z.

16. Bohomolov MA. Apomixis in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). Review of domestic and foreign studies. *Tekhnologia vysokikh urozhaev* 2018;11:27–33. [http://saharmag.com/netcat\\_files/userfiles/other/Bogomolov.pdf](http://saharmag.com/netcat_files/userfiles/other/Bogomolov.pdf).

17. Murovec J, Bohanec B. Haploids and doubled haploids in plant breeding. *Plant Breed.* 2012;87–106. doi:10.5772/29982.

18. Zhuzhzhhalova TP, Podvigina OA, Znamenskaya VV, Vasil'chenko EN, Karpechenko NA, Zemlyanukhina OA. Sugar beet (*Beta vulgaris* L.) haploid parthenogenesis in vitro: factors and diagnostic characters. *Agric. Biol.* 2016;51(5):636–44. doi:10.15389/agrobiology.2016.5.636eng.

19. Royik N. V. Apozygosis as a method of creating original breeding materials of sugar beet *Bulletin of agricultural science*. N. S. Kovalchuk, O.A Yatseva. *Bulletin of agricultural science*. 2014;11:45–49 ([http://nbuv.gov.ua/UJRN/vaan\\_2014\\_6\\_11](http://nbuv.gov.ua/UJRN/vaan_2014_6_11)).

20. Zhuzhzhhalova T. P. (2011). Genetic diversity of seeds and methods of overcoming it. *Sugar beet*, 7, 14–17.

21. Levites E., Kirkovich S. The heteroallcity instead of heterozygosity in haploids of sugar beet *Beta vulgaris* L. *Bull. Sci. Pract.* 2017;(5):32–8. [https://www.academia.edu/33122753/Bulletin\\_of\\_Science\\_and\\_Practice\\_5\\_2017.pdf](https://www.academia.edu/33122753/Bulletin_of_Science_and_Practice_5_2017.pdf).

22. Kovalchuk N, Roik N, Potapovich O. New sterile cytoplasm from wild beet *Beta vulgaris* SSP *maritima* L. from Greece and Turkey. *Sakharonaya svekla*, 2013;4:31–<http://sugarbeet.ru/pdf/2013/042013.pdf#page=31>

23. Owen F. V. Cytoplasmically inherited male sterility in sugar beet. *Agric. Res.* 1945; 71(10):423–440.

24. Shiryayeva E. I. Cytoembryological studies in sugar beet breeding. *Methodical guidelines* Kiev: All-Ukrainian Sugar Research Institute. 1983:34.

25. Gamburg OL, Miller RA, Ojima K. Nutrient requirement of suspension cultures of soybean root cells. *Exp. Cell Res.* 1968;50(1):151–8. doi:10.1016/0014-4827(68)90403-5.

26. Slavova J. Effective method for sugar beet haploids obtained from unpolluted ovules. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2014; 7(2):34–35. doi:10.1080/13102818.1993.10818689

27. Kovalchuk N. S. Roik M. V. Yatseva O. A., Nedyak TM, Potapovich O. A., Kachalovska S. O. Method of obtaining haploid and dihaploid lines of sugar beet on the basis of apozygosis and cytoplasmic male sterility. 2016р. (<http://uapatents.com/6-104295-sposib-oderzhannya-gaploidnih-i-digaploidnih-linij-cukrovikh-buryakiv-na-osnovi-apozigotii-ta-citoplazmatichno-cholovicho-sterilnosti.html>)

28. Kunakh VA, Adonin VI, Ozheredov SP, Blume Ya B. Mixoploidy in wild and cultivated species of Cruciferae capable of hybridizing with rapeseed *Brassica napus*. *Cytol. Genet.* 2008;42(3):204–9. doi:10.3103/S0095452708030079.

## АНОТАЦІЯ

**Методи створення гомозиготних ліній у селекційних матеріалів цукрових буряків (*Beta vulgaris*) з апозіготичним способом репродукції насіння**

Ройк М. В., Ковальчук Н. С., Зінченко О. А., Федорошчак Л. Г., Власюк В. І., Явнюк О. М.

**Мета.** Встановити цитогенетичні аспекти ембріологічних процесів у культурі недозрілих апоміктичних зародків, селекційних матеріалів цукрових буряків з цитоплазматичною стерильністю для диференціації й добору за гаметофітним редуктивним партеногенезом. **Методи.** Цитологічні, біотехнологічні, флуорисцентної цитофотометрії, польові, лабораторні. **Результати.** На прикладі апозіготичних ліній з ЦЧС *S. vulgaris* типу цукрових буряків і алоплазматичних ліній з новими стерильними цитоплазмами від диких видів *Beta maritima* і *Beta patula* розглянуті цитогенетичні особливості генезису клітин недозрілих апоміктичних зародків, індукованих in vitro на стадії ембріонального розвитку 12 днів, 20 днів, 22 днів. Показники ефективності гаплоїдного редуктивного партеногенезу in vitro у алоплазматичних ліній значно перевищували кращі технології у пилкостерильних ліній цукрових буряків від 3,79% до 6,25% і мали значення 62,2%; 24,8%; 16,7%. Стабілізація рівня плоідності геному до диплоїдного проведена у відібраних селекційних номерів без дії колхіцину, на основі оцінки й добору за рівнем плоідності геному з використанням комп'ютерних програм аналізатора плоідності (АП) "Partec". **Висновки.** Встановлено ефективність індукції гаплоїдного редуктивного партеногенезу in vitro у селекційних матеріалів цукрових буряків з ЦЧС і апозіготією, залежно від генетичного потенціалу цитоплазм із врахуванням сумарного відсоткового співвідношення гаплоїдів (50 од; 100 од) та миксоплоїдів (50 од; 100 од; 200 од). Створені гомозиготні лінії методом стабілізації за рівнем плоідності геному гаплоїдних і миксоплоїдних мікропагонів впродовж III–IV пасажів, без використання колхіцину та вдосконалені технології вкорінення у відкритому ґрунті для використання в селекційному процесі цукрових буряків.

**Ключові слова:** апоміксис (апозіготія), гаплоїди, подвоєні гаплоїди, цукрові буряки, алоплазматичні лінії, *Beta maritima*, *Beta patula*, аналізатор плоідності (АП) "Partec".

## ABSTRACT

**Methods of creating homozygous lines as breeding genotypes in sugar beet (*Beta vulgaris*) with apozygotic method of seed reproduction**

M. V. Roik, N. S. Kovalchuk, O. Zinchenko, L. Fedoroshchak, V. Vlasjuk, O. Yavniuk Institute of Bioenergy Crops and Sugar Beet NAAS, 25 Klinichna St., Kyiv, 03110, Ukraine. Tel. (+38044) 275-50-00, Fax (044) 275-50-00 E-mail: sugarbeet@ukr.net. www.sugarbeet.com.ua

**Purpose.** Investigation of cytogenetic aspects of embryological processes in the culture of immature apomictic embryos, breeding genotypes of sugar beet with cytoplasmic sterility for differentiation and selection by gametophyte reduced parthenogenesis. **Methods.** Cytological, biotechnological, fluorescent cytophotometry, field, laboratory. **Results.** The cytogenetic features of genesis of immature apomictic embryos cells induced in vitro on the 12th, 20th and 22th days of development have been investigated on the basis of CMS apozygotic lines of *Beta vulgaris* and alloplasmic lines of wild species *Beta maritima* and *Beta patula*. Indicators of efficiency of haploid reduced parthenogenesis in vitro in alloplasmic lines significantly exceeded the best technologies in pollen-sterile lines of sugar beet from 3.79% to 6.25% and had a value of 62.2%, 24.8%, and 16.7%, respectively. Stabilization of genome ploidy to diploid was carried out in selected breeding numbers without colchicine, based on evaluation and selection of genome ploidy using software of ploidy analyzer (AP) Partec. **Conclusions.** The efficiency of haploid reduced parthenogenesis induction in vitro in apozygotic CMS breeding genotypes of sugar beet as affected by genetic potential of cytoplasm and taking into account the total percentage of haploids (50 units; 100 units) and myxoploids (50 units; 100 units) has been investigated. Homozygous lines were created by stabilizing the genome ploidy of haploid and myxoploid micro sprouts during III–IV passages without the use of colchicine. Technologies of rooting in the open ground for use in the breeding process of sugar beets have been improved.

**Keywords:** apomixis (apozygoty), haploids, double haploids, sugar beet, alloplasmic lines, *Beta maritima*, *Beta patula*, ploidy analyzer (PA) Partec.