

**ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА  
МЕЖВИДОВЫХ, ГАПЛОИДНЫХ И ДИГАПЛОИДНЫХ  
ФОРМ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*****Е. Н. Васильченко<sup>1</sup>, О. А. Землянухина<sup>2</sup>, Т. П. Жужжалова<sup>1</sup>, В. Н. Калаев<sup>2</sup>**<sup>1</sup> ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт  
сахарной свеклы и сахара им. А.Л. Мазлумова»<sup>2</sup> Воронежский государственный университет

Поступила в редакцию 30.01.2020 г.

**Аннотация.** В статье приведена физиолого-биохимическая оценка межвидовых, гаплоидных и дигаплоидных форм сахарной свеклы в культуре *in vitro*.

В работе использован селекционный материал Всероссийского НИИ сахарной свеклы и сахара им. А.Л. Мазлумова (ВНИИСС, Рамонь). Исследовали межвидовые гибриды, для получения которых использовали мужскостерильную односемянную форму *B. vulgaris* L. гибрида «Русь» ( $2n = 18$ ) и фертильную многосемянную дикую форму *B. corolliflora* Z. ( $4n = 36$ ). Показано, что диплоидные ( $2n = 18$ ), триплоидные ( $3n = 27$ ) и миксоплоидные ( $2n = 27; 18$ ) растения, полученные от скрещивания *B. vulgaris* L.  $\times$  *B. corolliflora* Z., различались по общей активности пероксидазы: активность фермента у диплоидных растений была примерно равна таковой у материнской форме (9 ФЕ/мл) и на 4 единицы выше, чем у дикой свеклы; у триплоидных растений активность фермента в 3 раза была ниже, чем у культурной свеклы (3.8 ФЕ/мл). У триплоидных растений активность пероксидазы определяется спецификой материнского генотипа. Активность глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы была выше у миксоплоидов и диплоидов по сравнению с родительскими формами.

Гаплоидные растения, по сравнению с контрольными исходными формами, характеризовались достоверным повышенным количеством белка в 1.6 раза и увеличением активности ферментов: пероксидазы – в 1.8 раза, глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы – в 1.4 раза, изоцитратдегидрогеназы – в 1.75 раза. У растений после удвоения хромосом (дигаплоиды) эти показатели возвращались к уровню контроля. Диплоиды, гаплоиды и дигаплоиды различались по изоферментным спектрам 1- и 2-эстераз и изоцитратдегидрогеназы. Выявленные различия в активности ферментов при получении гаплоидов и их удвоении отражают сложные механизмы в регуляции активности генов, чем простое удвоение количества хромосом.

**Ключевые слова:** сахарная свекла, межвидовые гибриды, гаплоиды, дигаплоиды, биохимическая оценка, ферментативная активность, изоферментные спектры

В современных условиях развития сельскохозяйственного производства приоритетным направлением в селекции сахарной свеклы является создание высокопродуктивных гибридов на линейной основе. В повышении продуктивности сахарной свеклы и производства сахара из этой культуры важная роль принадлежит созданию принципиально новых исходных материалов и на их основе сортов и гибридов, пригодных для возделывания по интенсивной технологии [1].

Большая экономическая значимость сахарной свеклы в России требует в настоящее время внедрения в селекционный процесс нетрадиционных биотехнологических методов на основе культуры изолированных органов и тканей, позволяющих целенаправленно получать генетически улучшенный исходный материал для создания перспективных гибридов нового поколения. Данные технологии могут быть реализованы лишь с учетом специфики морфогенетических потенциалов развития органов растений, обеспечивающих в условиях *in vitro* активные процессы морфогенеза, регенерации и размножения [2].

Важнейшим методом обогащения культурных растений является межвидовая гибридизация, посредством которой идет передача ценных признаков от диких видов к культурным. Это позволяет расширить спектр генетической изменчивости сахарной свеклы, а также дает возможность получения адаптивных генотипов с хозяйственно-ценными признаками [3]. По литературным данным известно, что отдаленная и межвидовая гибридизация являются мощным стрессовым фактором, способным вызывать структурные изменения гибридируемого генома в процессе его стабилизации [4].

Другим, наиболее признанным технологическим подходом для селекции сахарной свеклы в настоящее время является метод гаплоидного партеногенеза, обеспечивающий ускоренное создание гомозиготных линий удвоенных гаплоидов (DH- double haploid). Данный метод, широко используемый в большинстве развитых стран, ускоряет в два раза процесс создания гибридов с хозяйственно-ценными признаками, по сравнению с классическими методами селекции [5].

Особое значение при разработке биотехнологических схем культивирования приобретает использование биохимических маркерных признаков, ускоряющих и облегчающих процессы создания и отбора форм растений с новыми свойствами в условиях *in vitro*. Физиолого-биохимический анализ на начальных стадиях развития созданных форм может помочь без дополнительного проведения ПЦР (в том или ином виде) выделить наиболее интересные экземпляры с точки зрения устойчивости к разного рода стрессам, включая получение гибридных и трансгенных растений, растений разной пloidности (гаплоиды и дигаплоиды). Как ранее было показано, причиной этого могут служить условия *in vitro*, сами по себе являющиеся причиной стресса [6]; они могут менять программу работы генов, т.е. другими словами, изменять эпигенетическую программу [7].

В связи с вышеизложенным целью настоящей работы явилось выявление физиолого-биохимических особенностей у растений-регенерантов сахарной свеклы, полученных при межвидовой гибридизации, гомозиготных форм и их родительских компонентов, культивируемых в условиях *in vitro*.

## МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В работе были использованы материалы Рамонской селекции ФГБНУ ВНИИСС им. А. Л. Мазлумова.

Ранее для получения межвидовых гибридов использовали мужскостерильную (МС) односемянную форму *B. vulgaris* L. гибрида «Русь» ( $2n=18$ ) и фертильную многосемянную дикую форму *B. corolliflora* Z. ( $4n=36$ ). Асептические незрелые зародыши от межвидовой гибридизации *B. vulgaris* × *B. corolliflora* вводили в культуру *in vitro* на агаризованные питательные среды. Отбор полученных в результате скрещивания межвидовых форм с разным набором хромосом ( $2n=18$ ;  $3n=27$ ;  $2n=27$ ;  $18$ ) и их родительских компонентов осуществляли с помощью проточной цитофотометрии на анализаторе пloidности Partec PA.

Для получения гаплоидов в качестве эксплантов использовали неоплодотворенные семязачатки (ЦМС-форма гибрида РМС-120) *B. vulgaris*, изолированные из семенных растений с высокой степенью раздельноплодности (99%) в период бутонизации и начала цветения. Культивирование семязачатков осуществляли на питательных средах различной консистенции (жидкой и твердой) с добавлением ауксинов в различных сочетаниях [8, 9]. Отбирали растения-регенеранты с одинарным ( $n=9$ ) набором хромосом (линии К1-1; К1-2; К1-3, полученные от ЦМС формы К1; линии К2-1, К2-2, полученные от ЦМС формы К2). Перевод гаплоидов на диплоидный уровень проводился путем выдержки стабилизированных гаплоидных регенерантов на питательной среде, содержащей колхицин (0.005 мг/л), в течение двух суток в темноте. Для создания линий изучаемых генотипов отбирали растения и формировали линии удвоенных гаплоидов ( $2n=18$ ) (линии К1-1К, К1-2К, К1-3К, полученные от гаплоидов К1-1, К1-2, К1-3, соответственно, и К2-1К, К2-2К, полученные от гаплоидов К2-1, К2-2, соответственно).

На основе культуры неоплодотворенных семязачатков, физиолого-биохимической их оценки и отбора позднее были созданы DH-линии (удвоенные гаплоиды) *Beta vulgaris* с высокой гомозиготностью, которые в настоящее время используются в качестве компонентов высокопродуктивных отечественных гибридов [10].

Для получения ферментативных препаратов навеску растительного материала 50-200 мг гомогенизировали с битым стеклом в 0,1 М трис-НС1 буфере, pH 7.5 в соотношении 1:2 (w:v) и центрифугировали в эппендорфах в течение 10 мин при 20 тыс. g ( $4^{\circ}\text{C}$ ) на центрифуге CM50 ELMi (Латвия).

За единицу ферментативной активности было принято количество фермента, катализирующего образование 1 мкмоль продукта за 1 мин при  $25^{\circ}\text{C}$

(общая активность). Измерение оптической плотности проводили в кварцевых кюветках с длиной оптического пути 1 см на спектрофотометре UNICO 2800 (США).

Содержание растворимого белка измеряли по методу Брэдфорда [11].

Активность пероксидазы (ПО; КФ 1.11.1.7) определяли в гомогенатах тканей растений в реакции окисления бензидина [12]. Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФД; КФ 1.1.1.49), изоцитратдегидрогеназы (NADP-форма ИДГ; КФ 1.1.1.42), малатдегидрогеназы (NAD-МДГ; КФ 1.1.1.37), малик энзима (NAD-МЭ; КФ 1.1.1.39) определяли по [13].

Выявление активности пероксидазы проводили по [14,15] в вертикальных пластинах ПААГ по бензидиновому методу в предложенной нами модификации [12]. Выявление изоформ неспецифических 1- и 2-эстераз [ЭСТ; КФ 3.1.1.1], малик энзима [КФ 1.1.1.40], ИДГ, МДГ, 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (6ФГДГ декарбоксилирующая; КФ 1.1.1.44) проводили по руководству Левитеса [16,17].

Сканирование высушенных в целлофане (Балаково) гелей проводили на сканере HP Scanjet 3770 с использованием окна для прозрачных материалов (гелей, слайдов, пленок и др.).

Каждое измерение произведено в 4-х кратной повторности. Сравнение средних значений проводили с использованием t-критерия Стьюдента. Обсуждаются только достоверные различия ( $P < 0.05$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

### Физиолого-биохимические особенности межвидовых гибридов МС-формы *B. vulgaris* L. (гибрид «Русь») × *B. corolliflora* Z.

В результате проведенных исследований выявлено, что диплоидные ( $2n=18$ ), триплоидные ( $3n=27$ ) и миксоплоидные ( $2n=27; 18$ ) гибридные растения, полученные от скрещивания *B. vulgaris* L. × *B. corolliflora* Z., различались по общей активности пероксидазы. Так, у диплоидных растений она оказалась примерно равной активности ПО у материнской формы и составила 9 ФЕ/мл; эта активность примерно на 4 ФЕ/мл выше, чем у отцовского компонента – дикой свеклы ( $P < 0.05$ ) (рис. 1). Следует отметить, что активность пероксидазы миксоплоидных растений-регенерантов была значительно, почти в 3 раза, ниже, чем у материнской формы, и ее показатель составлял 3.5 ФЕ/мл.

Триплоидные растения характеризовались пониженной активностью данного фермента в 3 раза (3.8-

3.9 ФЕ/мл) по сравнению с культурной свеклой и в 1.5 раза в сравнении с дикими видом *B. corolliflora*.

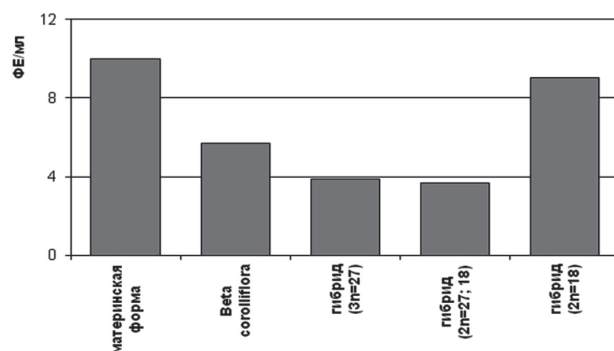


Рис. 1. Общая активность пероксидазы у родительских форм и межвидовых гибридов сахарной свеклы в культуре *in vitro*. Обозначения: материнская форма – МС-форма *B. vulgaris* L. сорт «Русь»; *B. corolliflora* Z. – дикая форма (фертильная).

У гибридов  $2n=18$  и миксоплоидов ПЦР-анализ выявил сателлитные участки ДНК, видоспецифичные для *B. corolliflora* Z., которые отсутствовали у растений с  $3n=27$  [18]. Это свидетельствует, что триплоидные растения являются не гибридными, а, скорее, полиплоидными. Активность ПО в данном случае служит не маркером "гибридизационного" стресса, а определяет специфичность материнского генотипа.

Изучение общей активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы выявило значительное ее повышение по сравнению с родительскими формами, которая у 27-хромосомных растений была выше в 2 раза (0.12 ФЕ/мл), а у 18-хромосомных растений в 3.5 раза (0.18 ФЕ/мл). У миксоплоидных форм этот показатель составил 0.06 ФЕ/мл и практически не отличался от родительских компонентов (рис. 2).

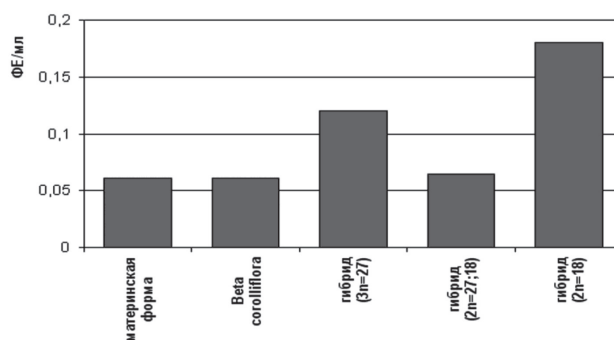


Рис.2. Общая активность глюкозо-6-Ф-ДГ родительских форм и гибридных растений сахарной свеклы в культуре *in vitro*. Обозначения: материнская форма – МС-форма *B. vulgaris* L. сорт «Русь»; *B. corolliflora* Z. – дикая форма (фертильная)

Изменения ферментативной активности вызваны, по-видимому, стрессовым состоянием ме-

таболизма гибридных растений при интрогрессии генома дикой свеклы в геном сахарной, а также изменением ploидности клеток [19].

*Физиолого-биохимические особенности гаплоидных и дигаплоидных линий ЦМС-формы РМС-120 сахарной свеклы*

Биохимическая оценка выявила различия в уровне активности ферментов у опытных образцов сахарной свеклы. Гаплоидные растения, по сравнению с контрольными исходными формами, характеризовались достоверным повышенным количеством белка – в 1.6 раза и увеличением активности ферментов: пероксидазы – в 1.8 раза, глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы – в 1.4 раза, изоцитратдегидрогеназы - в 1.75 раза ( $P < 0.05$ ). У растений после удвоения хромосом (дигаплоиды) эти показатели возвращались к уровню контроля (рис. 3). Результаты оценки содержания растворимого белка у гаплоидных растений были сходны с результатами, полученными ранее при адаптации эксплантов к подкислению почвы ионами алюминия [20].

Согласно современным представлениям, можно предположить, что разная регуляция активности

генов в растениях-регенерантах сахарной свеклы обусловлена метилированием ДНК соответствующих участков генома, связанных с функционированием белка [7]. По-видимому, выявленные различия в активности ферментов при получении гаплоидов и их удвоении отражают более сложные механизмы в регуляции активности генов, чем простое удвоение количества хромосом [21].

Изоферментные спектры ПО, МЭ (КФ 1.1.1.40), ГФДГ не выявили различий между контрольными, гаплоидными и дигаплоидными растениями. Однако распределение изоформ фермента 1- и 2- эстеразы показало различия во всех группах образцов: контрольные (K1 и K2), гаплоидные (K1-1–K1-3, K2-1, K2-2), дигаплоидные (удвоенные гаплоиды) (K1-1К – K1-3К; K2-1К, K2-2К) (табл.1).

Изоферментный спектр ИДГ также показал отличия в электрофоретической подвижности фермента у гаплоидов и дигаплоидов от контрольных диплоидных растений (табл. 2). Активность ИДГ у всех образцов проявляется в виде двух изоформ с разной электрофоретической подвижностью.

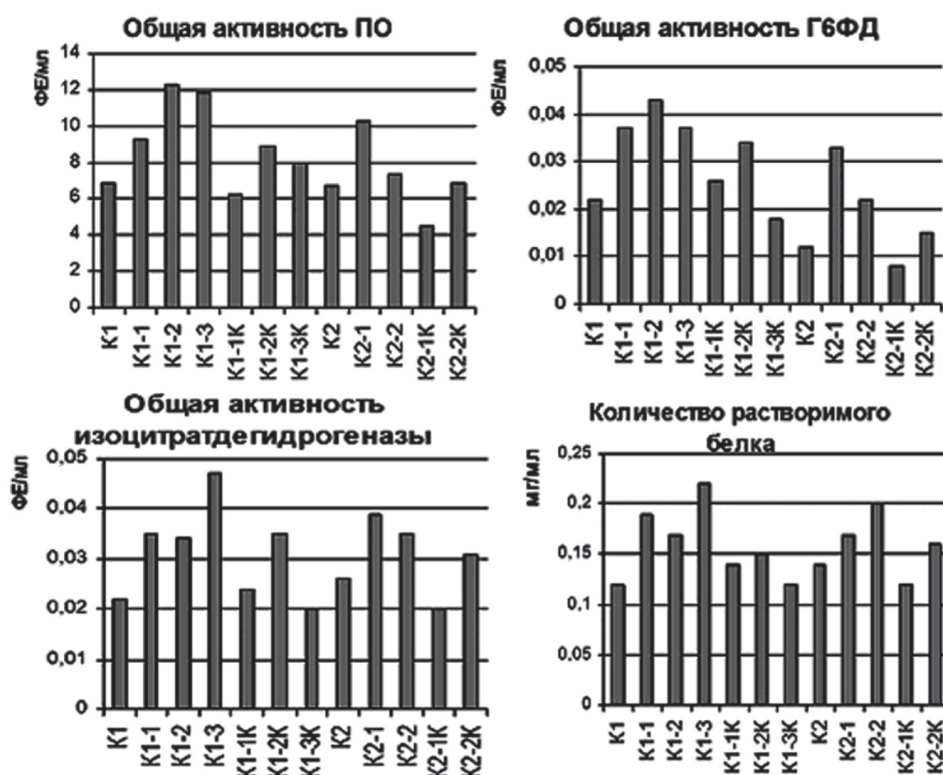
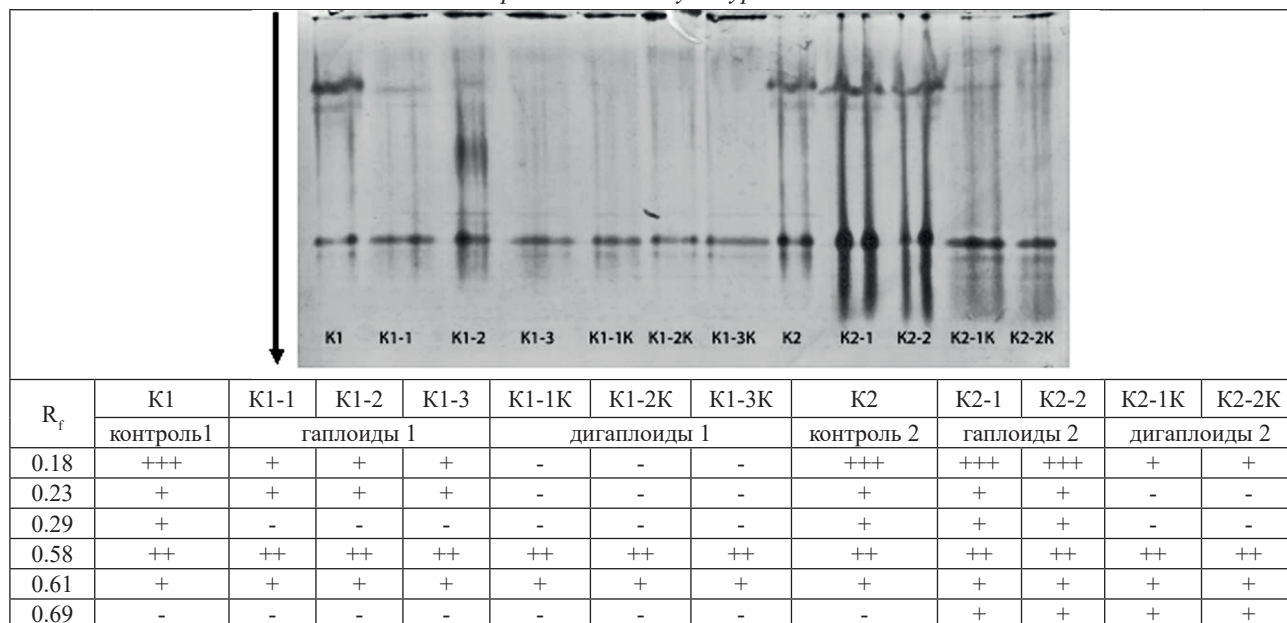


Рис. 3. Активность ферментов у исходных, гаплоидных и дигаплоидных растений сахарной свеклы в культуре *in vitro*. Обозначения: K1, K2 – линии ЦМС формы (РМС-120) *B. vulgaris*, гаплоиды (n=9) мужскостерильной формы (РМС-120) – линии K1-1; K1-2; K1-3, полученные от ЦМС формы K1; линии K2-1, K2-2, полученные от ЦМС формы K2; дигаплоиды – K1-1К, K1-2К, K1-3К, полученные от гаплоидов K1-1; K1-2; K1-3 соответственно, и K2-1К, K2-2К, полученные от гаплоидов K2-1, K2-2, соответственно.



Таблица 1.

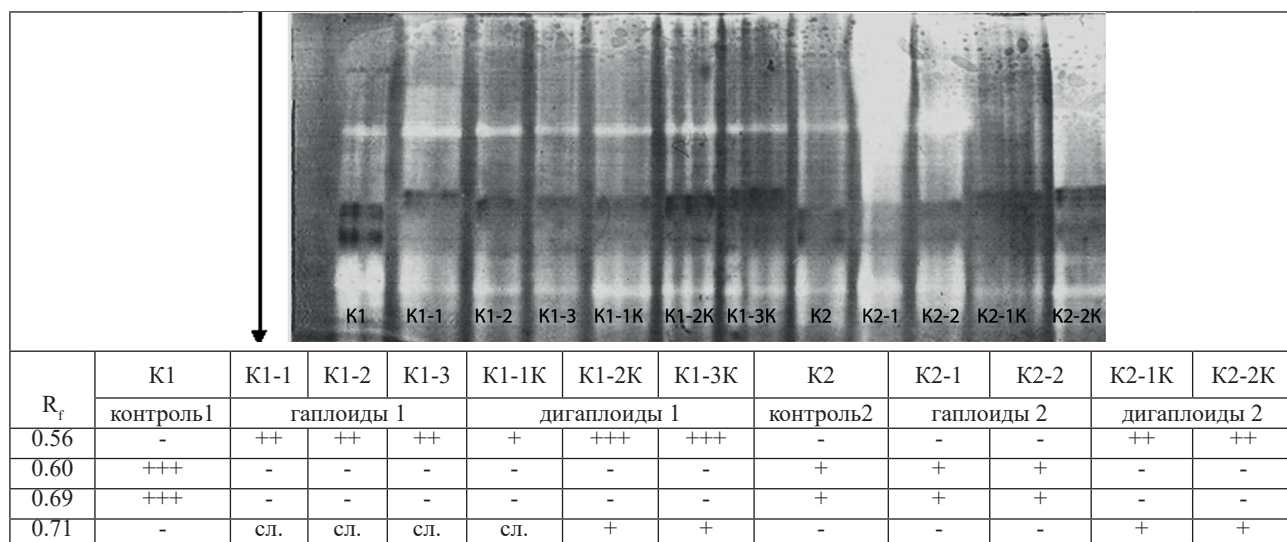
Изоформы 1- и 2-эстеразы в диплоидных, гаплоидных, дигаплоидных растениях-регенерантах сахарной свеклы в культуре *in vitro*



(+) – степень выраженности изоформы

Таблица 2.

Изоформы изоцитратдегидрогеназы в диплоидных, гаплоидных, дигаплоидных растениях-регенерантах сахарной свеклы в культуре *in vitro*



(обозначения как в табл. 1)

сл. – следовые количества фермента

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные результаты отражает физиолого-биохимические особенности у растений свеклы в условиях *in vitro*, позволяющие проследить изменения активности фермента окислительного стресса – пероксидазы – и некоторых ключевых ферментов основных метаболических циклов клетки.

Так, было обнаружено различие у диплоидных и миксоплоидных растений, полученных от скрещивания *B. vulgaris* L. × *B. corolliflora* Z., по активности пероксидазы. У диплоидных гибридов активность фермента была равна его активности у материнской формы (9-10 ФЕ/мл), но выше почти в 2 раза активности пероксидазы дикой формы свеклы. У триплоидных (полиплоидных) расте-

ний активность ПО снижалась в 3 и в 1.5 раза по сравнению с культурной и дикой свеклой, соответственно. Ферментативная активность глюкозо-6-Ф-дегидрогеназы у форм  $3n=27$  и  $2n=18$  увеличивалась в 2-3.5 по сравнению с родительскими формами.

Биохимическая оценка гомозиготного линейного материала показала, что у гаплоидных регенерантов повышалось содержание растворимого белка, активность пероксидазы (в 1.8 раз), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (в 1.4 раза), изоцитратдегидрогеназы (в 1.75 раза). У колхицинированных гаплоидов (дигаплоидов) эти показатели возвращались к уровню контроля. Однако гаплоиды, дигаплоиды и диплоиды (материнские) различались по изоферментным спектрам 1- и 2-эстераз и изоцитратдегидрогеназы, что, по видимому, предполагает изменение программы работы генов, т.е. изменение их эпигенетического состояния [7].

На основе культуры неоплодотворенных семязачатков, физиолого-биохимической их оценки и отбора нами были созданы ДН-линии (удвоенные гаплоиды) *Beta vulgaris* с высокой гомозиготностью, которые в настоящее время используются в качестве компонентов высокопродуктивных отечественных гибридов [10].

Представленные в статье результаты являются перспективными для первичного отбора на основе биохимических маркеров гомозиготных и межвидовых растений-регенерантов рода *Beta* на ранней стадии их развития.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kolodiaznaia I.S., Deineko E.V. // Russian Journal of Developmental Biology. 2002. Vol. 33. No. 3, pp. 136-141. DOI: 10.1023/A:1015666706874
2. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. Москва, ФБК-ПРЕСС. 1999, 160 с.
3. Бунин М.С., Мамедов М.И., Шмыкова Н.А., Супрунова Т.П., Енгальчева И.А., Джос Е.А. // Овощи России. 2012. Т. 2. № 15. С. 10-21.
4. Тютюрев С.Л. // Вестник защиты растений. 2015. Т. 1. № 83. С. 3-13.
5. Kikindonov G., Kikindonov Tz., Enchev S. // Agricultural science and technology. 2016. Vol. 8. No. 2, pp. 107-110. DOI:10.15547/ast.2016.02.018
6. Воронина В.С., Землянухина О.А., Калаев В.Н. // "Субтропическое и декоративное садоводство", сб. науч. тр., Сочи, ФГБНУ ВНИИЦиСК. 2017. Вып. 60, с. 81 - 86.
7. Ванюшин Б.Ф. // Вавиловский журнал селекции и генетики. 2013. Т. 17. № 4-2. С. 805-832.
8. Васильченко Е.Н., Жужжалова Т.П., Землянухина О.З., Карпеченко Н.А. // Сахарная свёкла. 2017. № 8. С. 14-20.
9. Tomashevskaja-Sowa M. // Acta agrobotanica. 2012. Vol. 65, No. 4, pp. 91-100. DOI: 10.5586/aa.2012.025
10. Васильченко Е.Н., Жужжалова Т.П., Ващенко Т.Г., Колесникова Е.О. // Вестник ВГАУ. 2018. Вып. 1 (56). С. 42-50. DOI: 10.17238/issn2071-2243.2018.1.56
11. Bradford V.V. // Anal. Biochem. 1976. Vol. 72, No. 4, pp. 417-422.
12. Землянухина О.А., Калаев В.Н., Воронина В.С. // Успехи современного естествознания. 2017. № 9. С. 13-22. DOI: 10.17513/use.36534.
13. Землянухин А.А., Землянухин Л.А. Большой практикум по физиологии и биохимии растений. Воронеж, Изд-во ВГУ, 1996, 188 с.
14. Маурер Г. Диск-электрофорез: теория и практика электрофореза в полиакриламидном геле. Москва, Мир 1971, 247 с.
15. Davis B.J. // Ann. N.Y. Acad. Sci. 1964. Vol. 121, pp. 404-427.
16. Левитес Е.В. Генетика изоферментов растений. Новосибирск, Наука. Сиб. отд-ние, 1986, 145 с.
17. Soltis D., Soltis P. // Plant sciences series. 1990. Vol. 4, pp.1-45.
18. Кильчевский А.В. Хотылева Л.В. Генетические основы селекции растений. Биотехнология в селекции растений. Клеточная инженерия. Минск, Беларус. Наука. 2012, с. 203-216.
19. Jassem B. // Acta. Biol. Cracovensia. Ser. Botanica. 1976. Vol. 19, pp. 151-172.
20. Zemlianukhina O., Cherkasova N., Zhuzhzhhalova T., Kalaev V. // Journal of Agricultural Science and Technology A. 2017. Vol.7. No. 6, pp. 383-392. DOI: 10.17265/2161-6256/2017.06.003
21. Нельсон Д., Кокс М. Основы биохимии Лейнинджера. Биоэнергетика и метаболизм. Москва, БИНОМ. Лаборатория знаний, 2014. Т. 2, 636 с.

Васильченко Е. Н., Землянухина О. А., Жужжалова Т. П., Калаев В. Н.

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы и сахара им. А.Л. Мазлумова»

Васильченко Е. Н., старший научный сотрудник отдела биотехнологии

E-mail: vasilchenko@inbox.ru

Жужжалова Т. П., главный научный сотрудник, доктор биологических наук, профессор, зав. отделом биотехнологии

Воронежский государственный университет

\*Землянухина О. А., старший научный сотрудник, кандидат биологических наук

E-mail: oz54@mail.ru

Калаев В. Н., доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры генетики, цитологии и биоинженерии

E-mail: dr\_huixs@mail.ru

Federal State Budgetary Scientific Institution "The A.L. Mazlumov All-Russian Research Institute of Sugar Beet and Sugar"

Vasilchenko E. N. senior research officer of Biochemistry and Molecular Biology laboratory

E-mail: vasilchenko@inbox.ru

Zhuzhhalova T. P., PhD., DSci., chief scientific officer, Full Professor; head of the Department of biotechnology

Voronezh State University

Zemlyanukhina O. A., senior research officer, PhD.

E-mail: oz54@mail.ru

Kalaev V. N., PhD., DSci., Full Professor of the Department of Genetic, Cytology and Bioengineering

E-mail: dr\_huixs@mail.ru

## PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL ASSESSMENT OF INTER-SPECIFIC, HAPLOID AND DIHAPLOID FORMS OF SUGAR BEET IN TISSUE CULTURE

E. N. Vasilchenko<sup>1</sup>, O. A. Zemlyanukhina<sup>2</sup>, T. P. Zhuzhhalova<sup>1</sup>, V. N. Kalaev<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Federal State Budgetary Scientific Institution "The A.L. Mazlumov All-Russian Research Institute of Sugar Beet and Sugar"

<sup>2</sup> Voronezh State University

**Abstract.** The article presents a physiological and biochemical assessment of interspecific, haploid and digaploid forms of sugar beet in tissue culture.

The paper uses the selection material of the Federal research Institute of sugar beet and sugar the A.L. Mazlumov (VNIISS, Ramon). To obtain interspecific hybrids, the male-sterile (MS) single-seeded form of *B. vulgaris* L. of the "Rus" hybrid (2n=18) and the fertile multi-seeded wild form of *B. corolliflora* Z. (4n=36) were used. It was shown that diploid (2n=18), triploid (3n=27) and mixoploid (2n=27; 18) plants obtained from crossing *B. vulgaris* L. × *B. corolliflora* Z. differed in total peroxidase activity: the enzyme activity in diploid plants is approximately equal to the maternal form (9 FE/ml) and 4 units higher than wild beet. In triploid plants, the enzyme activity is 3 times lower than in cultured beet (3.8 FE/ml). It is shown that triploid plants are polyploid rather than hybrid, and the activity of peroxidase determined by the specificity of the maternal genotype. The activity of glucose-6-P-dehydrogenase in mixoploid and diploid plants was higher compared to the parent forms.

Haploid plants, in comparison with the control initial forms, were characterized by a significant increase in the amount of protein by 1.6 times and an increase in the activity of enzymes: peroxidase by 1.8 times, glucose-6-phosphate dehydrogenase by 1.4 times, and isocitrate dehydrogenase by 1.75 times (P < 0.05). These parameters return to control level after doubling of chromosomes (haploidy). Diploids, haploids, and digaploids differed in the isoenzyme spectra of 1- and 2-esterases and isocitrate dehydrogenase. The revealed differences in enzyme activity during haploid production and doubling reflect more complex mechanisms in the regulation of gene activity than a simple doubling of the number of chromosomes.

**Keywords:** sugar beet, interspecific hybrids, haploid, digaploid, biochemical assessment, enzymatic activity, isozyme spectra

## REFERENCES

1. Kolodyaznaya Y.S., Deineko E.V. Russian Journal of Developmental Biology, 2002, Vol. 33, No. 3, pp. 136-141. DOI: 10.1023/A:1015666706874
2. Butenko R.G. *Biologiya kletok vysshih rastenij in vitro i biotekhnologii na ih osnove*. Moscow, FBK-PRESS, 1999, 160 p.
3. Bunin M.S., Mamedov M.I., Shmykova N.A., Suprunova T.P., Engalycheva I.A., Dzhos E.A. *Ovoshchi Rossii*, 2012, Vol. 2, No. 15, pp. 10-21.
4. Tyuterev S.L. *Vestnik zashchity rastenij*, 2015, Vol. 1, No. 83, pp. 3-13.
5. Kikindonov G., Kikindonov Tz., Enchev S. *Agricultural science and technology*, 2016, Vol. 8, № 2, pp. 107-110. DOI:10.15547/ast.2016.02.018
6. Voronina V.S., Zemlyanukhina O.A., Kalaev V.N. V sb. "Subtropicheskoe i dekorativnoe sadovodstvo", Sochi, FGBNU VNIICiSK, 2017, Vyp. 60, pp. 81-86.
7. Vanyushin B.F. *Vavilovskij zhurnal selekcii i genetiki*, 2013, Vol. 17, No. 4-2, pp. 805-832.
8. Vasilchenko E.N., Zhuzhzhhalova T.P., Zemlyanukhina O.A., Karpetchenko N.A. *Saharnaya svyokla*, 2017, No. 8, pp. 14-20.
9. Tomashevskaja-Sowa M. *Acta agrobotanica*, 2012, Vol. 65, No. 4, pp. 91-100. DOI: 10.5586/aa.2012.025
10. Vasilchenko E.N., Zhuzhzhhalova T.P., Vashchenko T.G., Kolesnikova E.O. *Vestnik VGU*, 2018, Vyp. 1 (56), pp. 42-50. DOI: 10.17238/issn2071-2243.2018.1.56
11. Bradford V.V. *Anal. Biochem.*, 1976, Vol. 72, No. 4, pp. 417-422.
12. Zemlyanukhina O.A., Kalaev V.N., Voronina V.S. *Successes of modern natural science*, 2017, No. 9, pp. 13-22. DOI: 10.17513/use.36534.
13. Zemlyanukhin A. A., Zemlyanukhin L. A. *Study Guide of Plants Physiology and Biochemistry*. Voronezh, VSU Publishing, 1996, 188 p.
14. Maurer G. *Disk-electrophoresis*. Moscow: Mir, 1971, 222 p.
15. Davis B.J. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1964, Vol. 121, pp.404-427.
16. Levites E.V. *Genetika izofermentov rastenij*. Novosibirsk, Nauka. Sib. otd-nie, 1986, 145 p.
17. Soltis D., Soltis P. *Plant sciences series*, 1990, Vol. 4, pp.1-45.
18. Kilchevskij A.V. Hotyleva L.V. *Geneticheskie osnovy selekcii rastenij / Biotekhnologiya v selekcii rastenij. Kletochnaya inzheneriya –Minsk, Belarus*. Nauka, 2012, pp. 203-216.
19. Jassem B. *Acta. Biol. Cracovensia. Ser. Botanica*, 1976, Vol.19, pp. 151-172.
20. Zemlyanukhina O., Cherkasova N., Zhuzhzhhalova T., Kalaev V. *Journal of Agricultural Science and Technology A*, 2017, Vol. 7, No. 6, pp. 383-392. DOI: 10.17265/2161-6256/2017.06.003
21. Nelson D., Koks M. *Osnovy biohimii Leningra. Bioenergetika i metabolizm*. Moscow, BINOM. Laboratoriya znaniy, 2014, Vol. 2, 636 p.