развития необходимы изначально низкие концентрации БАП в питательной среде (0,5-1,0 мг/л).

Для развития новых зон роста при культивировании почек необходимо в последующих пассажах увеличение концентрации БАП до 2,5 мг/л.

В культуре изолированных листьев органогенез реализуется через каллусогенез, а в культуре почек и верхушек побегов происходит прямая реализация органогенного потенциала почек одновременно с активацией клеток пазушной меристемы.

Литература

Джонс О.П. Размножение хозяйственно-важных древесных растений in vitro // Биотехнология сельскохозяйственных растений, Москва, 1987, С. 139-154.

Катаева Н.В. Особенности микроразмножения трудноукореняемых сортов яблони // Сельскохозяйственная биология. 1986. №4. С.18-23

Колесников А.И. Декоративная дендрология. М., 1974. 517 с.

УДК 575.224.234; 581.48

ОСОБЕННОСТИ СЕМЕННОЙ РЕПРОДУКЦИИ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ПОЛУЧЕННЫХ ГЕНОМНЫХ И ХРОМОСОМНЫХ МУТАНТОВ *NICOTIANA TABACUM* L.

О.Л. Госенова, Ю.В. Евсеева

Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, г. Саратов

Вид *Nicotiana tabacum L.* является естественным аллополиплоидом, характеризуется высокой фертильностью и размножается исключительно половым путем. В силу ряда морфобиологических, физиологических и цитологических признаков (высокая регенерационная способность, обильное длительное цветение, крупные размеры цветков и цитоэмбриологических элементов, а также высокая семенная продуктивность) табак является удобным модельным объектом и широко используется во многих исследованиях (Nicotiana..., 1979; Шумный, 2001; Еналеева, 2003). Поскольку полиплоидия и анеуплоидия являются источником генетической изменчивости и факторами эволюции, включая эволюцию систем размножения (Грант, 1984; Otto, Whitton, 2000; Soltis et al., 2003), представляет значительный интерес получение и подробное изучение на модельном объекте мутаций этого типа.

Экспериментально полученные в отделе генетики и репродуктивной биологии Ботанического сада СГУ формы табака с увеличенным набором хромосом являются уникальным материалом для исследований в этих аспектах, и основная задача данной работы заключалась в анализе их некоторых репродуктивных особенностей.

Материал и методика

Объектом исследования служили растения из самоопыленного потомства тетраплоида, полученного методом культуры тканей на основе *Dsy*1 мутанта, и

потомки спонтанно возникшего (в популяции этого же мутанта) гипертриплоида с числом хромосом около 80. В качестве контроля использовались диплоидные растения (2n=48).

Определение чисел хромосом проводилось с использованием методики укорачивания 0,002 М раствором 8-оксихинолина, фиксации ацетоалкоголем (1:3) и окраски ацетогематоксилином. Анализ препаратов проводился на микроскопе "Zetopan" при увеличении Х 1000. Микрофотографирование метафазных пластинок проводили с помощью цифровой фотокамеры «Olympus».

После цитогенетического анализа растения из горшков пересаживали в открытый грунт на экспериментальный участок. Для каждого растения регистрировалась дата зацветания.

Параметрические характеристики вызревших коробочек и семян определяли с помощью окулярмикрометра на стереомикроскопе МБС – 9 при увеличении Х 25. Проращивание выполненных семян проводили в чашках Петри в термостате при температуре 25^{0}С.

Математическую обработку материала и изготовление графических рисунков проводили с использованием программы Excel для Windows.

Результаты

В результате подсчета хромосом у потомков тетраплоида (4n=96) установлено, что подавляющее большинство из них являются анеуплоидами. Лишь 9 из 49 исследованных растений этой группы оказались тетраплоидами, то есть 96-хромосомными растениями. У остальных - числа хромосом варьировали в диапазоне от 91 до 95.

В потомстве гипертриплоидного растения числа хромосом у отдельных растений варьировали от 73 до 80. Микрофотографии метафазных пластинок представлены на рисунке 1. Соотношения исследованных растений с разными числами хромосом представлено на рисунке 2.

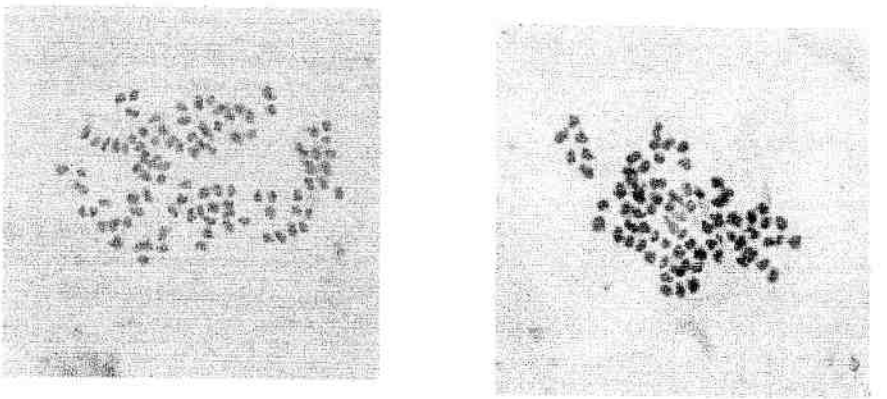

Рисунок 1. Метафазные пластинки хромосомных мутантов табака: А - 73 хромосомы, Б - 94 хромосомы.

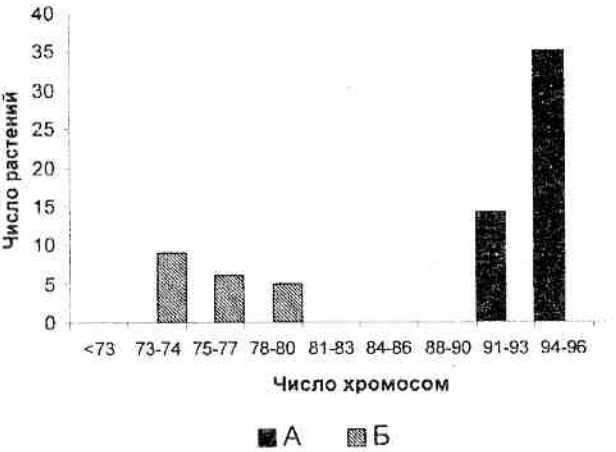

Рисунок 2. Встречаемость растений с разными числами хромосом в потомствах тетраплоидов (А) и гипертриплоидов (Б)

Одним из важных онтогенетических показателей растений является переход от вегетативного к генеративному развитию, который морфологически регистрируется по началу цветения. В нашем эксперименте продолжительность срока зацветания определялась от момента высадки рассады в грунт, которая была осуществлена 2 июня, до появления бутонов и распускания первого цветка. У контрольных, то есть диплоидных растений, как правило, переход к цветению происходит почти одновременно либо с небольшой разницей между отдельными растениями. В нашем опыте период до начала цветения у диплоидов составил 63-70 дней.

В двух других группах растений – потомствах тетраплоида и гипертриплоида картина была иной. Период до зацветания у отдельных растений значительно варьировал: в потомстве тетраплоида он составлял от 60 до 149 дней, в потомстве гипертриплоида – от 50 до 134 дней. В потомстве гипертриплоида 64% растений так и не приступило к цветению. Сравнительное распределение растений по срокам зацветания в трех исследованных группах растений представлено на рисунке 3. Наибольший диапазон зарегистрирован у растений второй группы.

Измерения коробочек с семенами, образовавшимися в результате самоопыления экспериментальных растений, показали существенные отличия от контроля. Особенно значительно различались коробочки опытных и контрольных растений по форме. У диплоидов они были более вытянутой формы, чем у полиплоидов. Количественным параметром, отражающим форму коробочки, является индекс, то есть отношение ширины коробочки к ее длине. Чем меньше этот показатель, тем более вытянутую форму имеет коробочка.

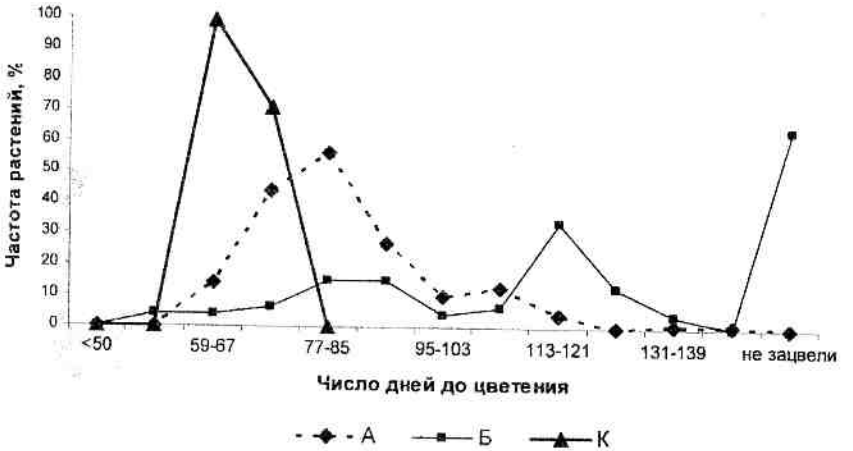

Рисунок 3. Распределение растений разных вариантов по срокам зацветания: А - потомство тетраплоида, Б – потомство гипертриплоида, К - контроль

У диплоидов значения индексов варьировали в диапазоне от 0,37 до 0,66; наиболее высокочастотным было значение от 0,51 до 0,6 (рис. 4).

У растений из группы потомства тетраплоида значения этого показателя колебались в диапазоне от 0,56 до 1,14. Это означает, что некоторые завязи имели практически одинаковые размеры длины и ширины коробочки, а иногда длина даже оказывалась меньше ширины. Наиболее часто встречающимися в этом варианте были завязи, у которых индекс соответствовал значениям 0,71-0,8. Еще более высокие показатели зарегистрированы у большинства растений в потомстве гипертриплоида от 0,67 до 1,0. Самыми высокочастотными оказались растения с индексом от 0,81-0,9 (рис. 4).

В результате анализа семян были выделены 3 группы: выполненные, частично выполненные и щуплые. Встречаемость нормальных, то есть выполненных семян, в контрольной группе варьировала от 55 до 75%, в потомстве тетраплоида – от 18 до 66 % и в потомстве гипертриплоида – от 11 до 57%. Распределения растений по качеству семян разных вариантов представлены на рисунке 5. В контроле наиболее частовстречающимися являются растения, у которых доля выполненных семян составляет 60-70%. В двух других группах у большинства растений выполненные семена составляли 50%.

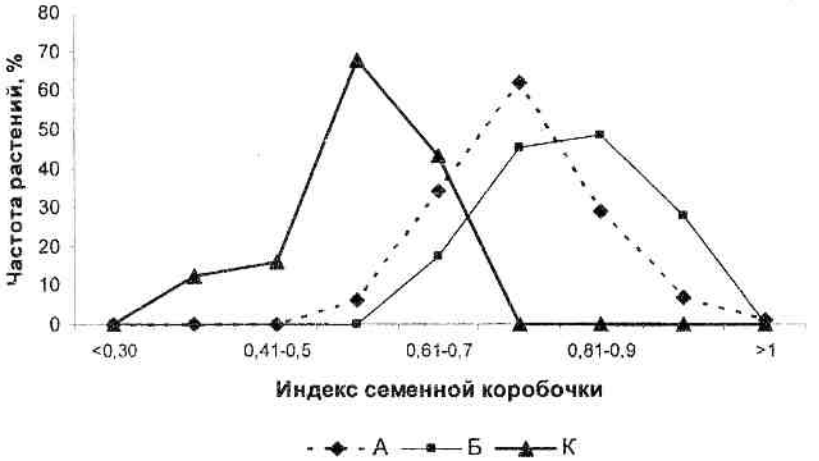

Рисунок 4 – Распределение растений разных вариантов по индексам коробочек: А – потомство тетраплоида, Б – потомство гипертриплоида, К - контроль

Измерение нормально выполненных семян у разных растений трех исследованных групп показало следующее. У контрольных растений размеры семян варьировали в диапазоне от 0,54 до 0,65 мм, у потомков тетраплоида – от 0,65 до 0,78 мм и у потомков гипертриплоида – от 0,69 до 0,86 мм. На рисунке 5 изображены кривые распределения растений по размеру выполненных семян трех исследованных групп растений.

У диплоидов большинство растений имеют семена размером 0,5-0,6 мм, в потомстве тетраплоидов 0,7-0,8 мм, и в потомстве гипертриплоидов – 0,8-0,9 мм.

Проращивание полностью выполненных семян разных групп растений показало высокую всхожесть семян контрольных растений (86-92%) и низкую у растений из потомства тетраплоида (10-43,8%) и гипертриплоида (2,9-44%).

Таким образом, в результате проведенного сравнительного анализа сроков зацветания, а также количественных и качественных показателей семенной репродукции хромосомных мутантов установлено: 1) рассмотренные нами признаки (размеры и форма семенных коробочек, качество, размеры и способность к прорастанию семян) весьма существенно варьируют у отдельных хромосомных мутантов; 2) эти показатели значительно отличаются от таковых диплоидных растений, в частности, большинство растений обеих групп (потомки тетраплоида и гипертриплоида) намного позже вступали в репродуктивную фазу, имели иную форму завязи, более крупные семена при снижении их качества и способности к прорастанию.

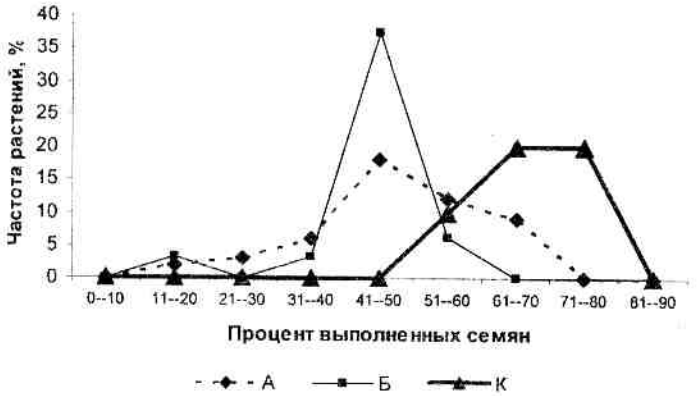

Рисунок 5. Распределение растений разных вариантов по качеству семян: А - потомство тетраплоида, Б – потомство гипертриплоида, К - контроль

Безусловно, подобные вариации обусловлены влиянием дополнительного генетического материала и, возможно, хромосомным дисбалансом. Некоторые из описанных нами морфобиологических особенностей согласуются с имеющимися в литературе сведениями по полиплоидии и анеуплоидии (Бреславец, 1963; Зосимович и др., 1972; Лаптев, 1984).

Полученные данные указывают на принципиальную возможность сохранения в генетической коллекции анеуплоидных форм путем самоопыления, что открывает перспективы их дальнейшего комплексного исследования.

Литература

Грант В. Видообразование у растений. М., 1984. 529 с.

Зосимович В.Л., Навалихина Н.К., Мареха Л.Н., Павленко Г.С. Влияние анеуплоидии на плодовитость в популяции клевера красного АН-тетра-1 // Полиплоидия и селекция. Минск, 1972. С. 270-278.

Еналеева Н.Х. Изменчивость цитологической структуры мегагаметофита Nicotiana // Физиология растений. 2003.Т. 50, №3. С. 398-403.

Лаптев Ю.П. Гетероплоидия в селекции растений. М., 1984. 248с.

Шумный В. К. Генная и хромосомная инженерия растений // Вестник РАН. 2001. Т. 71, № 8. С. 725-732.

Nicotiana. Procedures for experimental use. B.D. Durbin, ed. //Techn. Bul. 1979. Vol. 1., N 1586. 124 p.

Otto S.P., Whitton J. polyploid incidence and evolution // Annual Review of Genetics. 2000. Vol.34. p. 401–437.

Soltis D.E., Soltis P.S., Tate J.A. Advances in the study of polyploidy since plant speciation// New Phytologist. 2003. Vol.161. P. 173 –191.