

Л. В. Мітіна, Д.Р. Костирко

## ЦИТОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА СЕЛЕКЦІЙНИХ ФОРМ *MORUS ALBA* L. В ДОНЕЦЬКОМУ БОТАНІЧНОМУ САДУ НАН УКРАЇНИ

експериментальна поліплоїдія, *Morus alba* L., селекційні форми, хромосоми, тетраплоїди, мікроспори

Цитологічні дослідження видів роду *Morus* L. проводили в Грузії, Азербайджані, Молдавії, Японії, Китаї, США та інших країнах світу [1, 2, 5, 10, 11]. В Україні аналогічні дослідження раніше не проводились.

Мета роботи – надати цитологічну характеристику селекційним формам *Morus alba* L., які зростають у Донецькому ботанічному саду НАН України.

Об'єкт досліджень – селекційні форми *Morus alba* L., штучно отримані нами шляхом дії розчину колхіцину на насіння сорту Апшерон-гут з Інституту генетики та селекції АН Азербайджану (м. Баку) [4, 7].

Цитологічні дослідження проводили із застосуванням загальноприйнятої методики [9]. Дослідниками розроблена велика кількість методик, специфічних саме для приготування хромосомних препаратів шовковиці [2, 11]. Щодо опису хромосом, то існують суперечливі думки з цього питання. Е.П. Раджаблі [168] поділяє хромосоми диплоїдної шовковиці на три групи: А – найбільш крупна пара хромосом, В – друга за величиною пара, С – інші 12 пар дрібних хромосом. Ця класифікація дуже поширена серед дослідників, що проводили каріологічні дослідження шовковиці [5, 6]. Але за багаторічними даними Ю.М. Агаєва [9] виявилось, що друга за величиною пара хромосом не завжди чітко відрізняється від третьої пари. Тому Ю.М. Агаєв підрозділяє хромосоми за розмірами на п'ять класів: D-хромосоми – крапкові (розміри не перевищують 0,4 мкм), S-хромосоми – дрібні (від 0,5 до 2,5 мкм), M-хромосоми – середні (2,6–9,0 мкм), L-хромосоми – великі (від 9,1 до 18,0 мкм), G-хромосоми – гігантські (більше 18,1 мкм). Саме цієї класифікації ми і дотримувались в своїх дослідженнях. Поліплоїдні форми рослин визначають наступними методами: визначення числа хромосом в соматичних клітинах коренів або молодих листочків, вимірювання величини замикаючих клітин продохів в епідермі, а також підрахунок кількості продохів на одиницю листової поверхні, вимірювання величини ядерця у ядрах; підрахунок числа хлоропластів в замикаючих клітинах продохів; вимірювання діаметру та дослідження форми пилкових зерен, підрахунок пор в них. Найбільш надійний з вказаних методів – визначення кількості хромосом. Дослідження проводили на базі відділу цитології Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного.

Для експерименту було відібрано 14 селекційних форм шовковиці та запилювач. Контроль – маточкові та тичинкові екземпляри шовковиці з природних екотопів південного сходу України. Аналіз проводили на вигоночному матеріалі, який отримували наступним шляхом: наприкінці березня з дерев зрізували однорічні пагони на висоті 2 м від землі, витримували в термокімнаті протягом 7–10 днів при температурі 24°C та цілодобовому освітленні до стадії розпускання бруньок та появи суцвіть. Цитологічному аналізу підлягали апикальна меристема пагонів, зачаткові листки, мікроспорангії та корені (зона росту), які брали з пагонів тих же рослин, що вкорінились в теплиці з штучним зволоженням повітря. Матеріал обробляли 8-оксигіноліном та колхіцином [154]. Для анатомічних досліджень використовували мікроскоп Zeiss Axioskop, фотографували фотоапаратом Contax.

В ході експерименту встановлено, що контроль в соматичних клітинах містить 28 хромосом. Це збігається з даними інших дослідників стосовно виду *Morus alba* [3, 160, 168]. Серед хромосом відрізняються дві крупні вигнуті ниркоподібні хромосоми, що мають розмір 2,7 – 8,3 мкм, належать до типу M-хромосом, інші 26 – до дрібних S-хромосом, тому що їх розмір не перевищує 2,5 мкм (рис. 1).

Найкращі фази мейозу для підрахування хромосом – стадії діакінезу, прометафази та метафази II. На цих стадіях мейозу хромосоми, що мають чіткі контури, під дією колхцину або 8-оксихіноліну скорочуються і розташовуються вільно, не торкаючись одна одну. Морфологічне вивчення показало, що хромосоми мають овальну або палицеподібну форму. Гомологічні хромосоми часто поєднуються в біваленти. Так, в стадії діакінезу утворюються 14 бівалентів.

Селекційні форми № № 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15 і опилувач № 11 є тетраплоїдами. Кількість хромосом у них становить  $x=56$  (див. рис. 1). М-хромосом 4, S-хромосом 52. В діакінезі поряд з бівалентами утворюються тетраваленти, в побудові яких найчастіше приймають участь М-хромосоми. Вони набувають вигляду лінії або літер “С” та “О”. Інші хромосоми також здатні утворювати тетраваленти. У тетраплоїда підрахунок хромосом доцільно робити на метафазних пластинках, де виключена можливість прийняття тетравалента з S-хромосом за М-хромосому. Досі є дискусійним питання щодо розмірів хромосом при поліплоїдії. Стверджують, що у шовковиці при високих рівнях плоідності різко зменшуються розміри метафазних хромосом [10]. За підрахунками середньої сумарної довжини одного генома, та за довжиною умовно середньої хромосоми ди- та тетраплоїдні форми шовковиці вірогідно не відрізняються.

При роботі з коренями шовковиці встановлено, що найкраще для цитологічних досліджень брати корені, які мають довжину до 0,5 см, тобто тільки починають відростати від живця. Корінці 5–10 см завдовжки потовщуються і для повноцінної мацерації тканин потрібно експериментально підбирати термін та концентрацію розчину соляної кислоти. Також кількість метафазних пластинок у полі зору значно зменшується у порівнянні з молодими коренями.

При дослідженні кількості хромосом у селекційних форм №№ 8, 14, 11 в соматичних та статевих клітинах з'ясувалось, що статеві клітини в 2–3 рази більші, ніж соматичні. Слід відмітити, що клітини мікроспорангіїв тетраплоїдів за своїми розмірами значно більші за аналогічні клітини диплоїдів. В мікроспорах спостерігається поява 2–3 ядерця на відміну від материнської, у якій тільки одне ядрце. У диплоїдів мікроспори утворюються за симультатним типом. Тетради в основному ізобілатерального типу, зрідка – тетрадрального. При цитологічному аналізі мікроспорангіїв двостатевих квіток відмічені значні порушення мейозу внаслідок чого виникають діади, триади, пентади та гексади мікроспор. На явище утворення аномальної кількості мікроспор також вказує В.А. Піддубна-Арнольдї [8]. При розпаді таких мікроспор утворюється різноякісний пилок. Ці пилкові зерна містять від 6 до 42 хромосом. В подальшому такі пилкові зерна мають неправильну форму і, в основному, стерильні.

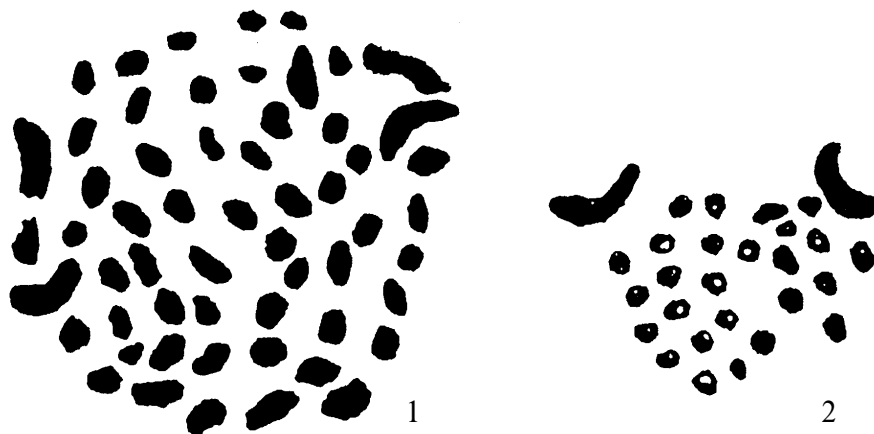


Рис. 1. Метафазні пластинки в соматичних клітинах у *Morus alba* L.:  
1 – селекційна форма № 11 ( $2n=56$ ), 2 – контроль ( $2n=28$ ).

З 13 селекційних форм 8 є константно маточковими деревами, 4 однодомними. З них у селекційних форм №№ 5, 7, 14 переважна більшість квіток – маточкові, тобто це – плодові дерева, у форм №№ 6, 8 домінуючими є тичинкові квітки, тож ці рослини у більшому ступені – запилювачі. Форма № 11 – запилювач, але зрідка на ньому утворюється 20–30 суплідь темно-фіолетового кольору з виповненим насінням, яке має високі показники енергії проростання. Отже, ми спостерігаємо двостатевість рослин, що характерно для поліплоїдів і підтверджується працями різних авторів [2, 6, 10].

Таким чином, нами виявлено, що селекційні форми виду *Morus alba* є тетраплоїдами і набір хромосом у них становить  $2n=56$ . Контрольні екземпляри шовковиці мають в соматичних клітинах  $2n=28$  хромосом. Для порівняння у виду *Morus nigra* основне гаплоїдне число хромосом  $x=15$ , каріотип містить  $2n=330$  хромосом і в ньому відсутні великі ниркоподібні хромосоми типу М, всі хромосоми мають розміри від 0,5 до 2,5 мкм, тобто належать до S-типу [3].

1. *Абдуллаев И.К.* Полиплоидия в эволюции и селекции многолетних растений. – Азербайджан: Изв. АН АзССР, Сер. биол. наук. – 1970. – № 2. – 42–51.
2. *Абдуллаев И.К., Лев Э.А.* Изучение коррелятивной зависимости изменчивости признаков шелковицы при полиплоидии // Полиплоидия у шелковицы. – М. – 1970. – С. 36–44.
3. *Агаев Ю.М.* Особенности мейоза в микроспорах у 168 хромосомного гибрида *Morus nigra* L. (22x) // Полиплоидия у шелковицы. – М.: ВАСХНИЛ, 1970. – С. 70–75.
4. *Глухов А.З., Костырко Д.Р., Кравченко Н.М.* Нетрадиционные декоративные растения в антропогенно трансформированной среде. – Донецк. Лебідь, 2000. – 128 с.
5. *Джафаров Н.А., Аббасов Ш.Н.* Особенности роста и облиствения разноплоидных форм шелковицы. – Ташкент: шелк, 1968. – № 1. – С. 7–10.
6. *Джафаров Н.А., Аббасов М.Н.* Полиплоидия у шелковицы. – М.: Наука, 1970. – С. 163–173.
7. *Кондратюк Е.Н., Костырко Д.Р.* Новые продовольственные растительные ресурсы. – Киев: Наук. думка, 1993. – 140 с.
8. *Поддубная-Арнольди В.А.* Характеристика семейств покрытосеменных растений по цитозембриологическим признакам. М.: Изд-во Наука, 1982. – 352 с.
9. *Прозина М.Н.* Ботаническая микротехника. – М.: Высшая школа, 1960: – 205 с.
10. *Раджабли Е.П.* Экспериментальная полиплоидия и ее использование в селекции шелковицы. – Новосибирск: Автореферат, 1967. – 18с.
11. *Раджабли Е.П.* Об истории исследований по экспериментальной полиплоидии у шелковицы. – Новосибирск: Генетика, 1976. – Том. XII. – № 8 – С. 72–89.

Донецький ботанічний сад НАН України

Надійшла 25.03.2003

УДК 631.527:581.162.2:634.38

Цитологічна характеристика селекційних форм *Morus alba* L. в Донецькому ботанічному саду НАН України / Л.В. Мітіна, Д.Р. Костырко // Промышленная ботаника. – 2003. – Вып. 3. – С. 180–182.

Цитологічні дослідження селекційних форм *Morus alba* L. показали, що селекційні форми, які зростають на колекційній ділянці Донецького ботанічного саду НАН України є експериментально отриманими тетраплоїдами. Набір хромосом в їх соматичних клітинах становить  $2n=56$ . Для підрахунку кількості хромосом на апікальній меристемі нами вперше застосовано вигоночний матеріал. Встановлено, що під час стадії діакінезу гомологічні хромосоми у диплоїдів поєднуються в біваленти, у тетраплоїдів поряд з бівалентами утворюються тетраваленти. Середня сумарна довжина одного геному, а також довжина умовно середньої хромосоми ди- та тетраплоїдів вірогідно між собою не відрізняються.

UDC 631.527:581.162.2:634.38

Cytologic characteristics of the selected forms of *Morus alba* L. in the Donetsk Botanical Gardens, Nat. Acad. Sci. of Ukraine / L.V. Mitina, D.R. Kostyrko // Industrial botany. – 2003. – V. 3. – P. 180–182.

Cytologic studies of the introduced *Morus alba* L. plants showed that the selection forms growing on the collection plot of the Donetsk Botanical gardens Nat. Ukr. Acad. Sci of Ukraine are tetraploids obtained by way of experiment. Chromosome set in their somatic cells was  $2n=56$ . For the first time we employed material of forcing treatment for calculation of the number of chromosomes on the apical meristem. It was found that during the stage of diakinesis homologous chromosomes of diploids are combined into bivalents, and in tetraploids tetraivalents were formed together with bivalents. The difference between the mean total length of a genome as well as the length of a genome of conventionally average chromosome of bi- and tetraploids is not valid.