

В течении трёх лет изучено 6 высокопродуктивных селекционных линий вики яровой по степени однородности и стабильности окраски семян отобранных элитных растений и их потомств. Хотя отбор элитных растений проводился в 10-14 поколениях доля семей с однородной окраской семян составляла от 70 до 90%. Предложена методика отбора гомогенных по морфобиологическим признакам форм в пределах селекционной линии, с использованием в качестве маркерного признака окраски семян.

During three years, six high-producing breeding lines of spring vetch were analyzed from the point of view of the level of uniformity and stability of seed color of selected elite plants and their progenies. Selection of elite plants was carried out in 10-14 generations and the portion of seeds with uniform seed color amounted to 70-90 %. There were suggested methods of selection of the forms homogeneous for morphological characters within a breeding line, with the use of seed color as a marker character.

**СИЗЫХ О.А., МУРАТОВА Е.Н.**

*Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, Россия,  
Россия, 660036, Красноярск, Академгородок,, e-mail: olesia-s@narod.ru*

### **ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЛИСТВЕННИЦЫ СИБИРСКОЙ (*LARIX SIBIRICA* LEDEB.) НА ЮГЕ СИБИРИ**

Лиственница сибирская (*Larix sibirica* Ledeb.) является одним из лесообразующих видов, представленных на территории юга Сибири. Условия Ширинской степи крайне неблагоприятны для роста древесных растений, в первую очередь из-за недостатка влаги, интенсивных ветров, резких перепадов температуры. Немногие виды древесных растений способны произрастать здесь. Опыт степного лесоразведения показал, что одним из наиболее перспективных видов для условий сухой степи является лиственница сибирская.

Изучение генетических особенностей и кариологический анализ лиственницы сибирской в искусственных и естественных популяциях позволит изучить механизмы и генетические процессы, лежащие в основе успешного приспособления и выживания лиственницы в неблагоприятных условиях обитания.

#### **Материалы и методы**

В качестве материала для исследований использовались семена лиственницы сибирской, собранные в природных популяциях и искусственных насаждениях лиственницы сибирской в Хакасии. Семена очищали от крылаток, проращивали в чашках Петри. Кариологический анализ проводился на меристематических тканях кончиков корешков проросших семян. Обработка материала, окрашивание, приготовление препаратов производились по общепринятой для хвойных методике (Правдин, 1972). После предварительной обработки 1%-ным раствором колхицина в течение 4-6 часов проростки фиксировали спиртово-уксусной смесью (3:1), окрашивали ацетогематоксилином и готовили давленные препараты стандартным способом. Ядрышки окрашивали 50%-м раствором азотнокислого серебра при температуре 60° С в течение 5-6 часов (Муратова, 1995). Цитологические препараты просматривали под микроскопом МБИ-6. Пластинки с хорошим разбросом хромосом фотографировали в иммерсионной системе, определяли число хромосом. Хромосомы измеряли на микрофотографиях: определяли абсолютную ( $L^a$ , мкм) и относительную ( $L^r$ , %) длину хромосомы, центромерный индекс ( $I^c$ , %), как отношение короткого плеча к длине хромосомы и суммарную длину набора ( $\Sigma L^a$ , мкм). У хромосом с вторичными перетяжками вычисляли локализацию перетяжки – отношение расстояния от

перетяжки до центромеры к длине плеча (sc, %). Классификацию хромосом по центромерному индексу производили в соответствии с рекомендациями В.Г. Грифа и Н.Д. Агаповой (1986). Анализ хромосомных перестроек проводился в 97 метафазных пластинках, подсчет числа ядрышек - в 700 интерфазных ядрах. Для определения спектра и частоты патологий митоза изучено 1633 клеток на стадии метафазы и ана-телофазы. Уровень изменчивости признаков определяли по шкале С.А. Мамаева (1972). Статистическая обработка данных проводилась по общепринятым методикам (Лакин, 1980).

### Результаты и обсуждение

Проведенный кариологический анализ показал, что в диплоидном наборе лиственницы сибирской на изучаемой территории содержится 24 хромосомы ( $2n=24$ ), что согласуется с ранее полученными результатами исследований популяций вида (Круклис, 1972; Бударлагин, 1980; Буторина, 1987; Муратова, 1991а, 1995). В некоторых проростках была выявлена миксоплоидия: отдельные клетки имели удвоенный набор хромосом  $2n=48$ , также отмечены единичные анеуплоидные клетки с  $2n=23$  и  $2n=25$ . Появление миксоплоидов часто отмечается в популяциях лиственницы сибирской (Муратова, 1991а, Седельникова и др., 2005, 2007), а также других видов лиственницы (Буторина, 1987, Муратова, 1991б, Фарушкина, 1998). Считается, что миксоплоидия может наблюдаться при изменении и особенно резком ухудшении условий произрастания и, возможно, таким образом, выражается адаптация растений к неблагоприятным факторам среды (Кунах, 1980). Частота встречаемости клеток с измененным числом хромосом по обеим популяциям не превышает 1,1 %.

При изучении образцов из природной популяции была обнаружена В-хромосома метацентрического типа. В-хромосомы хорошо отличаются от хромосом основного кариотипа меньшей величиной. Они довольно часто встречаются в кариотипе некоторых видов рода *Picea*, а среди видов рода *Larix* отмечались в единичных случаях у *L. gmelinii* и *L. sukaczewii*, *L. sibirica* (Муратова, 1991б, Муратова, 1994, Фарушкина, 1997, Муратова, 2000, Седельникова, 2007). Предполагается, что они оказывают влияние на адаптацию и жизнеспособность организмов к неблагоприятным условиям среды (Круклис, 1971; Муратова, 2000; Владимирова, Муратова, 2006; Буторина и др., 1997, 2001)

Суммарная длина хромосом ( $\Sigma L^a$ ) лиственницы сибирской в искусственном насаждении варьирует от 172,4 до 335,11 мкм, среднее значение  $\Sigma L^a=253,68\pm 6,79$  мкм ( $Cv=10,3\%$ ). В природной популяции  $\Sigma L^a$  от 266,65 до 380,03 мкм. Среднее значение  $\Sigma L^a=310,52\pm 4,7$  мкм ( $Cv=8,14\%$ ). Для вычисления средних морфометрических показателей хромосом, построения поликариограмм и идиограмм отбирали пластинки, попадающие в узкий интервал спирализации.

С помощью метода поликариограмм в обеих популяциях было выделено 3 группы хромосом. I-VI пары длинных метацентрических хромосом объединяются в группу со сходными параметрами, отдельно идентифицируется VII пара интерцентриков, и третья группа (VIII-XII) составляют короткие субметацентрические хромосомы.

Вторичная перетяжка является очень важным локусом хромосомы. У большинства растений в районе вторичной перетяжки находится ядрышковый организатор. Здесь локализируются гены рибосомной РНК. Морфологическим выражением активности этих генов является образование ядрышек в телофазе митоза. Установлено, что в кариотипе лиственницы в изученных популяциях на территории Ширинской степи две пары метацентриков (II и III по средним параметрам) имеют вторичные перетяжки в дистальных районах на длинном плече, IV пара метацентриков имеет перетяжку в медиальном районе на длинном плече. Также у VIII пары субметацентрических хромосом отмечена вторичная перетяжка в медиальном районе длинного плеча. Кроме того, в кариотипе лиственницы из природной популяции

отмечена перетяжка в дистальном положении на длинном плече у VII пары интерцентриков.

Количество ядрышек в интерфазных ядрах в данных популяциях колеблется от 1 до 6. Среднее число ядрышек в ядрах лиственницы составляет в искусственном насаждении –  $3,4 \pm 0,04$ , в природной популяции –  $2,8 \pm 0,06$ . По литературным данным известно, что максимальное число ядрышек у лиственницы сибирской может достигать 6-8 (Седельникова, 2005). Предполагается, что высокое число вторичных перетяжек и ядрышек может играть адаптивную роль для растений в неблагоприятных климатических условиях (Буторина, 1989, Седельникова, 2005).

В популяциях лиственницы сибирской были выявлены хромосомные перестройки, представленные фрагментами, кольцевыми хромосомами, ацентрическими кольцами, а также кольцевыми хромосомами, надетыми на обычные палочковидные.

Исследование митоза показало, что в целом деление клеток проходит нормально с правильным расхождением хромосом к полюсам. Отмечен такой спектр аномалий, как преждевременное расхождение хромосом и выброс хромосом в метафазе, трехполюсный митоз и мосты в анафазе. Частота встречаемости данных нарушений низкая:  $1,34 \pm 0,68$  % на стадии метафазы и  $1,33 \pm 0,59$  % на стадии анафазы.

### **Выводы**

Таким образом, проведенные исследования выявили некоторые различия в кариотипах лиственницы в природных популяциях и искусственных насаждениях. Сравнимые популяции различаются по суммарной длине хромосомного набора, количеству нуклеолярных районов и особенностям их локализации, по числу ядрышек в интерфазных ядрах. В целом, результаты кариологических исследований свидетельствуют о высокой устойчивости лиственницы сибирской в условиях Ширинской сухой степи.

Работа выполнена при финансовой поддержке Интеграционного проекта СО РАН № 5.18 и РФФИ, грант № 08-04-00034.

### **Литература**

1. *Бударгин В.А.* Кариотипы основных хвойных видов Казахстана // Тр. Казах. НИИ лес. Хоз и агролесомелиорации. Т2. Защитное лесоразведение и вопросы селекции в Северном Казахстане. Алма-Ата: Канар.- 1980.-С. 116-122.
2. *Буторина Л.К., Мурая Л.С., Сиволопов А.И.* Цитологические особенности гетерозисной лиственницы // Лесоведение. - 1987. - №4. - С. 82-86.
3. *Буторина А. К.* Факторы эволюции кариотипов древесных // Успехи соврем. биол. - 1989. - Т. 108. вып. 3 (6). - С. 342-357.
4. *Буторина А. К., Богданова Е. В.* Адаптивное значение и возможное происхождение В-хромосом у ели колючей // Цитология. – 2001. - Т. 43, № 8. – С. 809-814.
5. *Буторина А. К., Калаев В. Н., Богданова Е. В.* Цитогенетические механизмы адаптации видов растений-интродуцентов // Проблемы эволюционной цитогенетики, селекции и интродукции: Материалы науч. чтений, посвящ. 100-летию проф. В. П. Чехова. - Томск, 1997. - С. 19-21.
6. *Владимирова О.С., Муратова Е.Н.* Оценка встречаемости В-хромосом ели сибирской в условиях антропогенного стресса // Хвойные бореальной зоны. 2006. - Вып.3. - С. 114-120.
7. *Гриф В.Г., Агапова Н.Д.* К методике описания кариотипов растений // Бот. журн. - 1986. - Т. 71, № 4. - С. 550-553.
8. *Круклис М.В.* Добавочные хромосомы у голосеменных (на примере *Picea obovata*) // Докл. АН СССР., 1971.-Т. 196, № 5.- С. 1213-1216.
9. *Кунах В.А.* Геномная изменчивость соматических клеток растений и факторы, регулирующие этот процесс // Цитология, генетика. - 1980. - Т. 14, №1. - С. 73-81.

10. *Лакин Г.Ф.* Биометрия. Учебное пособие, 3-е издание.- М.: Высшая школа, 1980.- 293 с.
11. *Муратова Е.Н.* Методика окрашивания ядрышек для кариологического анализа хвойных // Бот. журн. 1995. - Т.80, № 2. - С. 82-86.
12. *Муратова Е. Н.* Кариосистематика семейства *Pinaceae* Lindl. Сибири и Дальнего Востока: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. – Новосибирск.- 1995. - 32с.
13. *Муратова Е.Н.* Кариологическое исследование *Larix sibirica (Pinaceae)* в различных частях ареала // Бот. журн. 1991 а. - Т. 76, № 11. - С.1586-1595.
14. *Муратова Е.Н.* Добавочные хромосомы у лиственницы Гмелина *Larix gmelinii (Rupr.) Rupr.* // Докл. АН СССР. – 1991 б. - Т. 318, № 6. - С. 1511-1514.
15. *Муратова Е. Н.* В-хромосомы голосеменных // Успехи соврем. биол. – 2000. – Т. 120, № 5. – С. 452-465.
16. *Мамаев С.А.* Формы внутривидовой изменчивости древесных растений. - М.-Наука.- 1972. - 283 с.
17. *Правдин Л.Ф., Бударрагин В.А., Круклис М.В.* Методика кариологического изучения хвойных пород // Лесоведение. - 1972. - №2. - С. 67-75.
18. *Седельникова Т.С., Пименов А.В.* Кариологическое изучение болотной и суходольной популяции *Larix sibirica (Pinaceae)* из Западной Сибири. // Бот. журнал. 2005. - Т. 90, №4. - С. 582-593.
19. *Седельникова Т.С.* Хромосомные мутации у лиственницы сибирской на Таймыре // Известия РАН. Сер. биологич. – М.: Наука. – 2007.- №2.- С. 244 -247.
20. *Фарукишина Г. Г.* Хромосомный полиморфизм лиственницы Сукачева и ели сибирской на Урале // Проблемы эволюционной цитогенетики, селекции и интродукции.: Матер. науч. чтений, посвящ. 100-летию проф. Чехова В. П. – Томск. - 1997. – С. 58-59.
21. *Фарукишина Г.Г.* Морфологическая и кариотипическая изменчивость лиственницы Сукачева и ели сибирской на Урале: Автореф. дис. ....канд биол наук. Красноярск.- 1998.- 25 с.

### Резюме

Изучен кариотип *Larix sibirica* Ledeb. в условиях Хакасии. Хромосомный набор содержит 24 хромосомы ( $2n=24$ ). На основании поликариограммного анализа выделены 3 группы хромосом. Наряду с типичным набором хромосом отмечены хромосомные и геномные мутации, а также митотические нарушения. В природной популяции обнаружена добавочная хромосома.

Karyotype of *Larix sibirica* Ledeb. was studied in populations of Khakasia. Chromosome set included 24 chromosomes ( $2n=24$ ). On the results of polykaryogram analysis 3 groups of chromosomes were revealed. Chromosome and genome mutations, mitotic irregularities were revealed in the both populations. B-chromosome was found in natural population.

**СИТНИК І. Д.<sup>1</sup>, ЯРЕШКО В. І.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Національний аграрний університет, Україна, 03041, Київ, вул. Героїв Оборони, 13

<sup>2</sup>Український інститут експертизи сортів рослин

### ДИНАМІКА ВМІСТУ ГЛЮКОЗИНОЛАТІВ У ВЕГЕТАТИВНИХ ТА ГЕНЕРАТИВНИХ ОРГАНАХ РІПАКУ В ПРОЦЕСІ ОНТОГЕНЕЗУ

Всі види роду хрестоцвітих, до яких відноситься ріпак, містять глюкозинолати [1], які обмежують їх використання із-за токсичності їх гідролітичних продуктів [2]. Тому