



УДК 633.262:631.527/528(571.1/5)

Г.М. ОСИПОВА, доктор сельскохозяйственных наук, главный научный сотрудникСибирский научно-исследовательский институт кормов
e-mail: osip@ngs.ru**ЦИТОМИКСИС В ОБРАЗЦАХ ИЗ ПРИРОДНЫХ
И СЕЛЕКЦИОННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ КОСТРЕЦА БЕЗОСТОГО**

Приведены результаты исследований по цитомиктической активности в материнских клетках микроспор у образцов из дикорастущих популяций и в материале, который подвергался воздействию селекционных технологий – гибридизации и полиплоидии. Выявлена частота встречаемости цитомиксиса на двух уровнях организации биологических систем: популяционном и клеточном. Цитомиксис в популяциях костреца безостого встречается с частотой 8,9 %. Показано, что селекционный материал, который находится в стадии проработки, и возделываемые сорта являются более генетически нестабильными, чем природные популяции. Установлено, что частота встречаемости цитомиксиса среди растений из селекционных популяций значительно выше, чем из дикорастущих, – 16,76 и 1,34 % соответственно. Аналогичная закономерность отмечена и для клеточных систем – 10,30 и 1,08 % соответственно. Сделан вывод о возможности широкого использования дикорастущей флоры Сибири в селекционных исследованиях.

Ключевые слова: *Bromopsis inermis* Leysser, дикорастущая и селекционная популяции, цитомиксис, микроспорогенез.

Цитомиксис – явление, связанное с перемещением ядерного материала, цитоплазмы и органелл из одной клетки в другую по цитомиктическим каналам. В процессе цитомиксиса может происходить слияние ядерного материала соседних клеток и обмен любыми элементами внутриклеточного содержимого [1, 2]. Несмотря на то что цитомиксис был обнаружен столетие назад [3, 4] и термин «цитомиксис» был впервые предложен Р. Гейтсом еще в 1911 г. [5], природа его остается до сих пор неясной. Следует отметить, что в большой библиографической сводке, включающей более 400 источников литературы о цитомиксисе у почти 340 видов, для костреца безостого этот феномен не отмечен [1].

Последствия цитомиксиса могут влиять на рост и развитие растений, увеличивать их генетическое разнообразие или приводить к патологическому состоянию и др. [1, 2, 6]. В связи с этим возникает необходимость наряду с выяснением молекулярно-цитологических механизмов выявить его роль на более высоких уровнях биологической организации различных живых систем. Наличие эмерджентности, которое не позволяет предсказывать свойства каждого последующего биологического уровня исходя из свойств отдельных составляющих его более низких уровней, делает эти исследования актуальными. Из всего спектра уровней биологической организации растительных объектов наиболее востребованными для человеческих потребностей являются популяции. Интересны с этой точки зрения многолетние злаковые травы, в частности кострец безостый (*Bromopsis inermis* (L.) Holub), наиболее распространенная среди них кормовая куль-

тура. Кострец безостый – часть древнего полиплоидного комплекса, который еще находится в активном состоянии эволюции с недостаточно известной историей происхождения [7]. Кормовые растения по Н.И. Вавилову [8] включены в два очага происхождения культурных растений: Переднеазиатский и Средиземноморский. Среди них нет костреца безостого. Ряд зарубежных исследователей полагают, что центр происхождения костреца безостого находится на территории России [9–11]. По мнению Е. Синской [12], возможно, что «... путь расселения многих злаковых и бобовых трав проходил с Алтая через Западную Сибирь и Урал на север европейской части СССР». Исключительный полиморфизм биологических и хозяйственных признаков и свойств костреца безостого во флоре Западной Сибири может свидетельствовать о наличии одного из возможных центров происхождения костреца безостого на территории Сибири [13]. У костреца безостого имеется большой полиплоидный ряд, представленный 28, 42, 49, 56 и 70 хромосомами, при основном числе, равном 7. Встречаются анеуплоидные формы и В-хромосомы [14].

Цель работы – провести сравнительный анализ встречаемости цитомиксиса у образцов костреца безостого из дикорастущих и селекционных популяций разного уровня пloidности.

МАТЕРИАЛЫ, УСЛОВИЯ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Семена образцов из дикорастущих популяций (тетраплоидные: К-ВИР 063384, 063385 из Читинской области, 06143 из Хакасии; октоплоидные: К-ВИР 062531 из Кемеровской области и 063530 из Алтайского края) получены из генофонда коллекции ВИР, сорт СИБНИИСХОЗ 189 – из Сибирского научно-исследовательского института сельского хозяйства, полиплоидные формы (С₁-063384 и С₁-063385) созданы нами путем удвоения числа хромосом с помощью колхицина у тетраплоидных дикорастущих образцов. Все образцы выращивали на одном участке в коллекционном и селекционном питомниках в условиях лесостепной зоны Новосибирской области, климат которой относится к умеренно теплomu с недостаточным увлажнением. Вегетационный период 1978 г. во время проведения анализов характеризовался достаточным увлажнением, гидротермический коэффициент (ГТК) по Селянинову составлял 1,18. Почва опытных участков лесостепной зоны Новосибирской области – чернозем выщелоченный среднесуглинистый, pH – 6,6. Содержание гумуса в почве 5,2 %, легкогидролизуемого азота – 7,7 мг/100 г почвы, подвижного фосфора – 15,0 и калия 16,0 мг/100 г почвы. Таким образом, на период прохождения стадии микроспорогенеза сложились благоприятные условия для всех исследуемых образцов. Анализ цитомиксиса проводили на двух уровнях организации биологических систем: популяционном и клеточном. Наименование спектра уровней биологической организации (популяционные и клеточные системы) приведено по Ю. Одуму [15].

Для исследования мейоза у костреца безостого метелки, вышедшие на 3/4 из листового влагалища, фиксировали в полевых условиях с 6 до 8 ч утра в органическом фиксаторе Ньюкомера. Как правило, фиксировали главные метелки 20 растений по каждой популяции (10 растений с каждой повторности питомника). Окрашивание пыльников и приготовление вре-

менных давленных ацетокарминовых препаратов из содержимого пыльника проводили по общепринятой методике [16]. По каждому растению исследовали до 300 материнских клеток микроспор (МКМ).

Число хромосом определяли в меристеме кончиков корней, которые обрабатывали 0,125%-м водным раствором колхицина в течение 3 ч при 18–20 °С или насыщенным водным раствором монобромнафталина в течение 5 ч при 4 °С в 8–9 ч утра и фиксировали в уксусном спирте (1 : 3). Корешки красили 3–4%-м раствором ацетокармина в течение суток. Для каждого образца определяли число хромосом у 10 проростков образца и в каждой проростке анализировали от 5 до 15 метафазных пластинок.

Препараты просматривали с помощью светового микроскопа МББ-1АУ42. Для фотографирования использовали фотонасадку МФН-12.

Экспериментальный материал обработан статистически с использованием программы Snedecor [17].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании 8 сортообразцов костреца безостого из дикорастущих и селекционных популяций разного уровня плоидности цитомиксис для данного вида встречался в среднем с частотой 8,9 %. Частота встречаемости его среди растений из селекционных популяций была значительно выше, чем из дикорастущих (соответственно 16, 76 и 1,34 %). Аналогичная закономерность отмечена и для клеточных систем (см. таблицу). Встречаемость цитомиксиса для костреца безостого в клеточных системах в среднем составила 4,74 %.

Наибольшую цитомиктическую активность наблюдали в основном на стадии пахинеи и дипломеи профазы I и в единичных случаях – на более поздних стадиях. Наблюдаемая нами цитологическая картина цитомиксиса у костреца безостого была похожа на описанные ранее в литературе у других растительных объектов (рис. 1) [1, 2, 6].

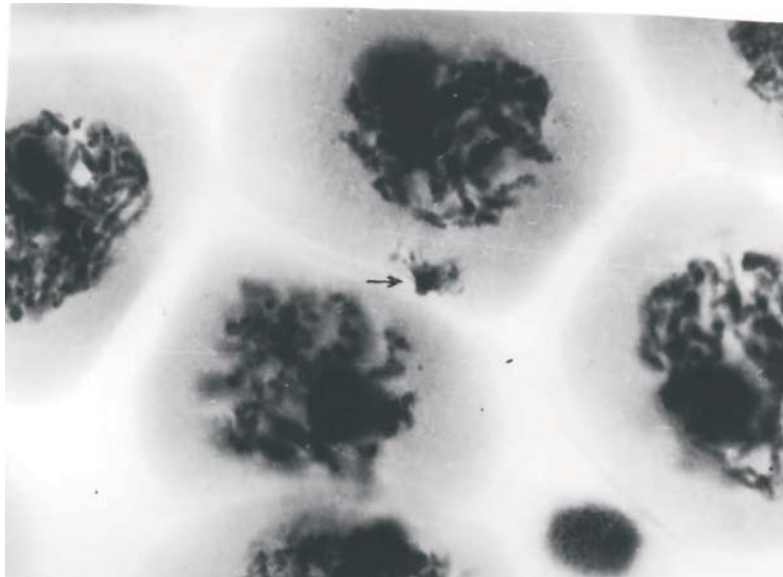


Рис. 1. Цитомиксис в профазе I у растения костреца безостого из дикорастущей популяции (06143, Хакасия)

Частота встречаемости цитомиксиса в клеточных и популяционных системах костреца безостого разного происхождения, %							
Уровень биологической организации (системы)	Происхождение	Среднее	$\pm$ от контроля	НСР ₀₁	Критерий Фишера (F)	Доля влияния фактора, %	
						основного	случайного
Популяционные	Селекционное	16,76	0	8,05	41,24	83,75	16,25
	Природное	1,34	-15,42				
Клеточные	Селекционное	10,30	0	4,95	39,04	82,99	17,01
	Природное	1,08	-9,22				

Примечание. Контроль – селекционные популяции.

В связи с тем, что среди исследуемых нами ранее 46 сортов костреца безостого не обнаружено сортов с другим уровнем плоидности (они все имели 56 хромосом), вопрос о встречаемости цитомиксиса среди селекционных популяций разного уровня плоидности остается открытым. Среди проанализированных нами на число хромосом дикорастущих популяций (161) обнаружено 21,7 % тетраплоидных [13]. В связи со сложностью цитологического анализа у октоплоидных форм костреца безостого в данной работе приведены данные по 5 дикорастущим популяциям разного уровня плоидности. В образцах из природных популяций, проанализированных по микроспорогенезу, за исключением одного (06143 из Хакасии), независимо от уровня плоидности цитомиксиса не обнаружено (рис. 2).

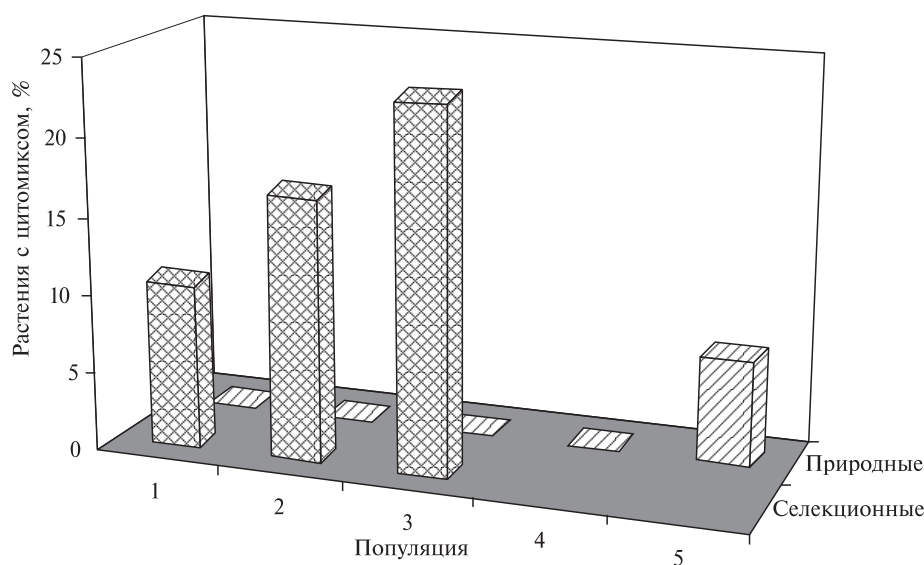


Рис. 2. Гистограмма встречаемости цитомиксиса в природных и селекционных популяциях костреца безостого:

дикорастущие: 1–2 – $2n = 56$, 3–5 – $2n = 28$; селекционные: 1–2 $C_1-2n = 56$, 3 – гибридный сорт, $2n = 56$

Приведенные выше данные однозначно свидетельствуют о том, что селекционный материал, который находится в стадии проработки, и возделываемые сорта могут быть более генетически нестабильными, чем природные популяции. Это предположение подтверждается также тем, что созданные селекционным путем сорта имеют более лабильные по годам изучения (в течение 7 лет) корреляционные связи между основными хозяйственно важными признаками, чем дикорастущие популяции различного эколого-географического происхождения [18].

Селекция, которая, по выражению Н.И. Вавилова, представляет собой эволюцию, направляемую волей человека, создает упрощенные и, вероятно, генетически нестабильные системы, поддерживаемые человеком на ранних стадиях сукцессии с помощью различных технологий. Они неустойчивы и неспособны к саморегуляции по сравнению с природными сообществами. Созданные человеком агроэкосистемы требуют для своего возделывания больших затрат энергии и их продуктивность определяется уровнем экономических и технических возможностей сельскохозяйственного производства. Необходимость использования антропогенных систем для потребностей человечества выдвигает задачу разработки подходов и методов к созданию саморегулирующих с высоким гомеостазом агроэкосистем. В условиях Сибири, где предпочтение следует отдавать надежному, а не максимальному урожаю, большую роль играют сорта-популяции, которые в процессе воспроизводства могут самостоятельно контролировать уровень потенциальной продуктивности. Один из интересных объектов в этом отношении – кострец безостый, природа которого является благоприятной для реализации гармоничного сосуществования в агрофитоценозах. Богатейший генофонд флоры Западной Сибири с его исключительным полиморфизмом биологических и хозяйственно ценных признаков до сих пор недостаточно использован в селекционной практике. В последние десятилетия практически прекратилось пополнение сибирского генофонда многолетними травами. Возрождение этого направления дало бы возможность иметь исходный материал для селекции с необходимыми для конкретных почвенно-климатических зон признаками и свойствами.

ВЫВОДЫ

1. Цитомиксис в популяциях костреца безостого встречается с частотой 8,9 %. В образцах из селекционных популяций частота встречаемости цитомиксиса значительно выше, чем из дикорастущих, – 16,76 и 1,34 % соответственно. Аналогичная закономерность наблюдается для клеточных систем. Частота встречаемости цитомиксиса в клеточных системах составляет 4,74 %. Среди клеток из селекционных популяций она существенно выше (10,30 %), чем из дикорастущих (1,08 %).

2. Полученные данные свидетельствуют о более высокой генетической нестабильности селекционного материала и сортов костреца безостого, чем у природных популяций, и указывают на необходимость более широкого для данного вида использования дикорастущей флоры в селекционных исследованиях для условий Сибири.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Mursalimov Sergey R., Sidorchuk Yuri V., Deineko Elena V. New insights into cytomixis: specific cellular features and prevalence in higher plants // *Planta*. – 2013. – Vol. 238, N 3. – P. 415–423.
2. Кравец Е.А. Цитомиксис, его природа, значение и цитологические последствия // *Цитология и генетика*. – 2012. – № 3. – С. 75–85.
3. Arnoldy W. Beitrage zur Morphologie der Gymnospermen. IV. Was sind die «Keimblaschen» oder «Hofmeisters-Korperchen» in der Eizelle der Arbutineen. – 1900. – Bd. 87. – S. 194–204 (цит. по: Mursalimov Sergey R., Sidorchuk Yuri V., Deineko Elena V. New insights into cytomixis: specific cellular features and prevalence in higher plants // *Planta*. – 2013. – Vol. 238, N 3. – P. 415–423).
4. Kornicke M. Über Ortsveränderung von Zellkernen. Niederrhein S.B. // *Ges. Natur. U. Heilk. Bonn*. – 1901. – Bd. 8. – S. 14–25.
5. Gates R.R. Pollen formation in *Oenothera gigas* // *Ann. Bot.* – 1911. – P. 909–940.
6. Мурсалимов С.Р., Дейнеко Е.В. Цитомиксис в образцах из природных популяций *Dactylis glomerata* L. (Poaceae) // *Вестн. ВОГиС*. – 2009. – Т. 13, № 4. – С. 772–777.
7. Stebbins G.L. Cytogenetics and evolution of the grass family / *Amer. J. Bot.* – 1956. – Vol. 43, N 10. – P. 890–905.
8. Вавилов Н.И. Теоретические основы селекции. – М.: Наука, 1987. – 511 с.
9. Casler M.D., Carlson I.T. Smooth brome grass // In R.F. Barnes et al. (ed). *Forages: An introduction to grass land agriculture* Iowa State University Press, Ames. – 1995. – Vol. 1, 5th ed. – P. 313–324.
10. Vogel K.P., Moore K.J., Moser L.E. Brome grass // In L. Moser et al. (ed) *Cool season forage grasses*. Asa, Madison, WI. – 1996. – P. 335–567.
11. Diaby M., Casler M.D. RAPD marker variation among smooth brome grass cultivars // *Crop Sci.* – 2003. – Vol. 43. – P. 1538–1547.
12. Синская Е.Н. Историческая география культурной флоры. – Л.: Колос, 1969. – 480 с.
13. Осипова Г.М. Кострец безостый (особенности биологии и селекция в условиях Сибири). – Новосибирск, 2006. – 228 с.
14. Darlington C.D., Wylie A.P. Chromosome atlas of flowering plant. – London: George Allen and Unwin Ltd, 1955. – 441 p.
15. Одум Ю. Экология / пер. с англ. – М.: Мир, 1986. – Т. 1–2. – С. 328–376.
16. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. – М.: Агропромиздат, 1988. – 271 с.
17. Сорокин О.Д. Прикладная статистика на компьютере. – Новосибирск, 2004. – 162 с.
18. Филиппова Н.И., Осипова Г.М. Корреляционные связи у дикорастущих и селекционных сложногибридных популяций многолетних злаковых трав в условиях Северного Казахстана // *Сиб. вестн. с.-х. науки*. – 2010. – № 10. – С. 14–22.

Поступила в редакцию 26.08.2014

G.M. OSIPOVA, Doctor of Science in Agriculture, Head Researcher

Siberian Research Institute of Fodder Crops

e-mail: osip@ngs.ru

CYTOMIXIS IN NATURAL AND CULTIVATED POPULATIONS OF SMOOTH BROMEGRASS

Results are given from investigations into the cytotoxic activity in the microspore mother cells in smooth brome grass samples of natural populations, and in material subjected to such breeding technologies as hybridization and polyploidy. There was revealed the frequency of occurrence of the cytomixis at the two levels of organization of biological systems: population and cell. The cytomixis in smooth brome grass populations occurs with the frequency of 8.9%. It is shown that breeding material and cultivars are more genetically unstable than natural populations. It has been established that the frequency of occurrence of the cytomixis among plants of breeding populations is much higher than in wild: 16.76 and 1.34%, respectively. A similar pattern is observed in cellular systems as well: 10.30 and 1.08, respectively. It has been concluded that wild flora of Siberia can be widely used in breeding.

Keywords: *Bromopsis inermis* Leysser, natural and cultivated populations, cytomixis, microsporogenesis.