

Синтез аллоплоидов в роде *Nepeta* L. и их цитологическое изучение

АКСЕНОВ ЮРИЙ ВАЛЕРЬЕВИЧ
РАБОТЯГОВ ВАЛЕРИЙ ДМИТРИЕВИЧ

Аксенов Ю.В., Работягов В.Д., 2009: Синтез алоплоїдів в роді *Nepeta* L. та їх цитологічне вивчення. *Чорноморськ. бот. ж.*, т. 5, №4: 541-546.

Вперше створено алоплоїдні гібриди *Nepeta* L. (алотриплоїд, пентаплоїд, гексаплоїд) від схрещування трьох видів. *N. transcaucasica*, *N. grandiflora* and *N. cataria*. Наводиться схема отримання трьохвидового гібриду.

Ключові слова: *Nepeta transcaucasica*, *Nepeta grandiflora*, *Nepeta cataria*, поліплоїд, міжвидова гібридизація.

AKSYONOV J.V., RABOTYAGOV V.D., 2009: Allopolyploids' synthesis in genus *Nepeta* L. and their cytological study. *Chornomors'k. bot. z.*, vol. 5, №4: 541-546.

Allopolyploid hybrids of *Nepeta* L. (allotriploid, pentaploid and hexaploid) are obtained by means of hybridization of three species: *N. transcaucasica*, *N. grandiflora* and *N. cataria*. Scheme of hybridization is given as well.

Keywords: *N. transcaucasica*, *N. grandiflora*, *N. cataria*, polyploidy, interspecific hybridization.

АКСЕНОВ Ю.В., РАБОТЯГОВ В.Д., 2009: Синтез аллоплоидов в роде *Nepeta* L. и их цитологическое изучение. *Черноморск.бот.ж.*, т. 5, №3: 541-546.

Впервые созданы аллоплоидные гибриды *Nepeta* L. (аллотриплоид, пентаплоид, гексаплоид) в результате скрещивания трех видов: *N. transcaucasica*, *N. grandiflora* and *N. cataria*. Приводится схема получения трехвидового гибрида.

Ключевые слова: *Nepeta transcaucasica*, *Nepeta grandiflora*, *Nepeta cataria*, полиплоид, межвидовая гибридизация.

Отличительной чертой растений рода *Nepeta* L., входящего в состав семейства яснотковые (*Lamiaceae*), является их эфиромасличность. Наличие эфирного масла в различных органах растения позволяет считать некоторые виды котовника перспективными для введения в культуру и использовать их как источник натурального эфирного масла, пряно-ароматического и лекарственного сырья. Несмотря на это, растения рода *Nepeta* промышленно выращиваются в очень ограниченном масштабе. Возделываемые виды котовника не вполне отвечают требованиям производства (плантации *N. cataria* L. эффективно эксплуатируются в течение 2-4 лет и требуют замены в связи со значительным выпадением растений, а *N. transcaucasica* Grossch, имея низкорослые кусты с плагиотропными ветвями, очень плохо поддается механизированной уборке). Поиски природных видов, которые смогли бы составить достойную конкуренцию культивируемым видам, не дали положительного результата. Значительных успехов удалось достичь при использовании метода отдаленной гибридизации. При скрещивании *N. transcaucasica* (материнская форма) и *N. grandiflora* Vieb. (отцовская форма) были получены гибриды, отвечающие требованиям

механизированной уборки сырья, устойчивые к условиям среды, с высоким содержанием эфирного масла и хорошим его качеством. Методом индивидуального отбора был выделен сортообразец давший начало сорту Юбилей Вавилова [СЕРКОВА, АРИНШТЕЙН, КРАВЕЦ, 1983]. В Никитском ботаническом саду работа с гибридными котовниками была продолжена. Известно, что при направленном скрещивании возникает новая генотипическая изменчивость, которая широко используется в селекции растений. Однако потенциал генотипической изменчивости возрастает еще больше, если взаимодействие генов происходит на разных уровнях пloidности [БОРОЕВИЧ, 1984]. Соединение методов направленной межвидовой гибридизации и экспериментальной полиплоидии позволяет качественно по-новому подходить к вопросу синтеза новых гибридных форм котовника.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили растения трех видов рода *Nepeta*: *N. transcaucasica*, *N. grandiflora*, *N. cataria*, а также гибридные формы котовников. Полиплоиды получали действием водного раствора колхицина (0,1% с экспозицией 24 часа) на проростки семян (224 шт.) от поликросса растений сорта Юбилей Вавилова. Межвидовую гибридизацию проводили по общепринятым методикам, а также по методике, разработанной в отделе новых ароматических и лекарственных растений НБС-ННЦ [ЧУВАШИНА, 1980; РАБОТЯГОВ, МАШАНОВ, АНДРЕЕВА, 1999]. Эфирное масло получали из надземной части растений в фазе массового цветения. Массовую долю эфирного масла определяли методом гидродистилляции на аппаратах Клевенджера [ГОРЯЕВ, ПЛИВА, 1969]. Изучение особенностей мужской генеративной сферы проводили согласно методикам и указаниям, изложенным в работах Г. ЭРДТМАНА [1956]. Компонентный состав эфирного масла определяли методом газожидкостной хроматографии на приборе Хром-41. Определение числа хромосом проводили на временных препаратах. Листочки фиксировали в смеси спирта и ледяной уксусной кислоты (3:1) и выдерживали от 4 часов до суток. Препарат окрашивали ацетокармином и несколько раз подогревали в пламени спиртовки. Затем промывали 45% раствором уксусной кислоты и помещали в смесь Гойера.

Результаты исследований

Исходным материалом для дальнейших исследований послужил сорт Юбилей Вавилова. Он же стал критерием оценивания для анализа всех последующих гибридов (контролем).

Рассмотрим механизм образования гибридных форм. Растения *N. transcaucasica* (котовник закавказский) имеют соматический набор хромосом, равный 18, и являются природным диплоидом; у *N. grandiflora* (котовник крупноцветковый) соматическое число 36 хромосом (природный аутотетраплоид) [ХРОМОСОМНЫЕ ЧИСЛА ЦВЕТКОВЫХ РАСТЕНИЙ, 1969]. При их скрещивании образуются 9-ти хромосомные гаметы котовника закавказского (Т) и сбалансированные 18-ти хромосомные гаметы котовника крупноцветкового (GG). У полученного гибрида (речь идет о растениях гибридного сорта Юбилей Вавилова) проявление основных морфологических признаков носит промежуточный характер. Взрослые растения имеют мощные ортотропные побеги (признак, унаследованный от *N. grandiflora*), достаточно высокое содержание эфирного масла и хорошее его качество (признаки *N. transcaucasica*). Одним из главных недостатков аллотриплоида является его частичная фертильность. Растения очень плохо завязывают семена. В условиях ЮБК полноценные семена растения завязывают в возрасте 4 – 5 лет.

В результате эксперимента было получено 15 полноценных растений, которые подверглись дальнейшему изучению. По комплексу морфологических признаков все

они заметно отличались от родительской формы (сорт Юбилей Вавилова). Основным критерием при отборе перспективных гибридов была их пригодность для промышленного возделывания. Для этого они должны иметь мощный габитус, высокое содержание эфирного масла и хорошее его качество. Руководствуясь этими требованиями, было отобрано и вегетативно размножено 5 форм: № 4, № 9, № 10, № 11, № 12.

Цитологическое изучение апикальной части молодых листочков позволило установить, что гибридные формы № 4 и № 11 в диплоидном наборе имеют 27 хромосом и являются аллоплоидами. Следовательно, эти формы сохранили генетический материал исходных родителей. Анализ гибридных форм № 9, № 10, № 12 показал, что для данных растений соматическое число равняется 36. В их образовании приняли участие нередуцированные гаметы котовника закавказского (ТТ) и сбалансированные гаметы котовника крупноцветкового (GG). Образование нередуцированных гамет подтверждается данными палинологического анализа. Таким образом, все они являются полиплоидами (а точнее амфидиплоидами).

С целью создания нового ароматического растения, совмещающего в себе высокую урожайность и оригинальный состав эфирного масла, были проведены скрещивания с участием 3 видов. В эксперименте приняли участие сложные индуцированные амфидиплоиды и растения *N. cataria*. Комплексная схема процесса гибридизации в роде *Nepeta* имеет следующий вид (рис. 1).

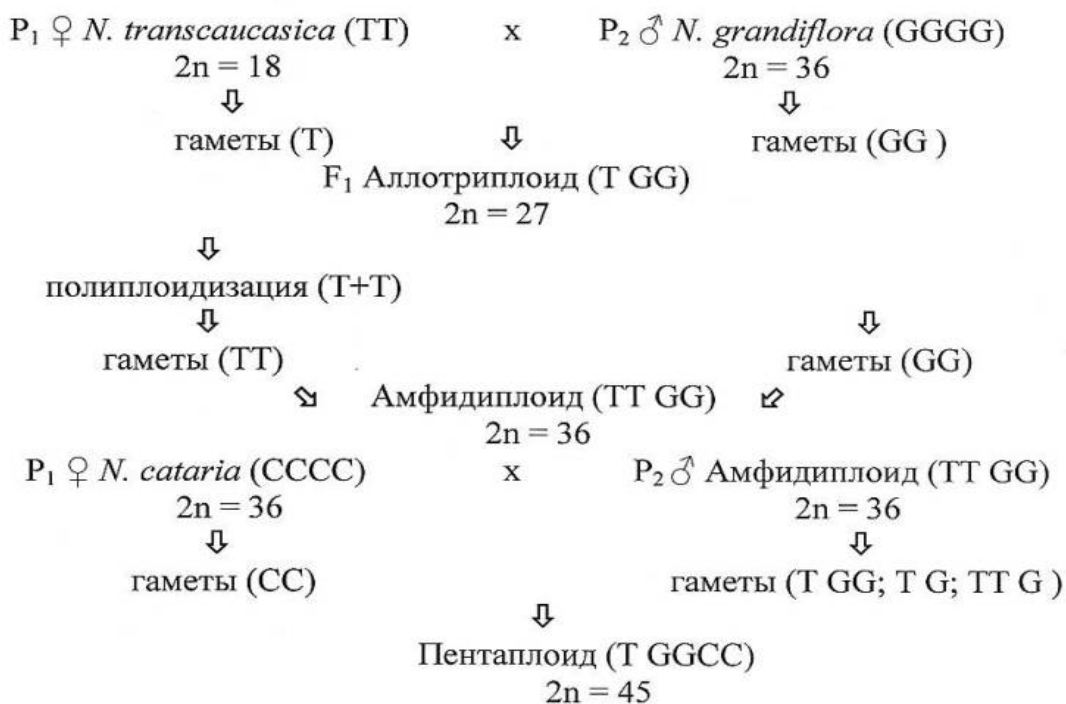


Рис. 1. Схема синтеза 45-ти хромосомного пентаплоида с участием трех видов.

Fig. 1. Scheme of obtaining 45-chromosomes pentaploid as hybrid of three species.

Полученные растения (гибридная форма № 3) заметно отличаются от всех полученных ранее гибридов. Куст по-прежнему сохраняет мощный габитус, но буквально все органы заметно отличаются от исходных форм: лист стал плотнее, с более гофрированной поверхностью, округлой формы. Соцветия крупные, но очень плотные, с сильно укороченными междоузлиями. Чашечка и венчик очень крупные, даже в сравнении с другими гибридными формами. Среди растений данной гибридной формы часто встречаются аномальные отклонения от нормального морфологического

плана строения (появляются побеги с 6-8 гранным стеблем и мутовчатым листорасположением с 3-4 листьями в мутовке). Цитологический анализ показал, что полученная гибридная форма в соматическом наборе имеет 45 хромосом и является пентаплоидом (рис. 2а).

Палинологический анализ показал, что в составе пыльцы новой гибридной формы преобладают экваториально 8-ми прямобороздные пыльцевые зерна, то есть пыльцевые зерна нового, не свойственного котовникам типа. Если в составе пыльцы растений сорта Юбилей Вавилова пыльцевые зерна нового типа составляет не более 10%, то у гибридной формы № 3 эта величина уже составляет 97,1 %.

Основные морфологические отличия, выявленные нами в сравнении с исходными родителями, иллюстрирует таблица № 1.

Среди растений от семенного потомства гибридной формы № 3 выделялись несколько особей, которые имели более компактный куст. Детальный анализ позволил выявить некоторые отличия в репродуктивной сфере этих растений при полной идентичности вегетативных органов. Растения имели еще более крупную S-образно изогнутую чашечку и сильно увеличенный венчик. В результате цитологических исследований было установлено, что эти растения имеют 54 хромосомы – то есть являются гексаплоидами (рис. 2б). Вероятнее всего, в их образовании приняли участие нередуцированные 36-ти хромосомные гаметы амфидиплоида (ТТGG) и сбалансированные 18-ти хромосомные гаметы котовника кошачьего (СС).

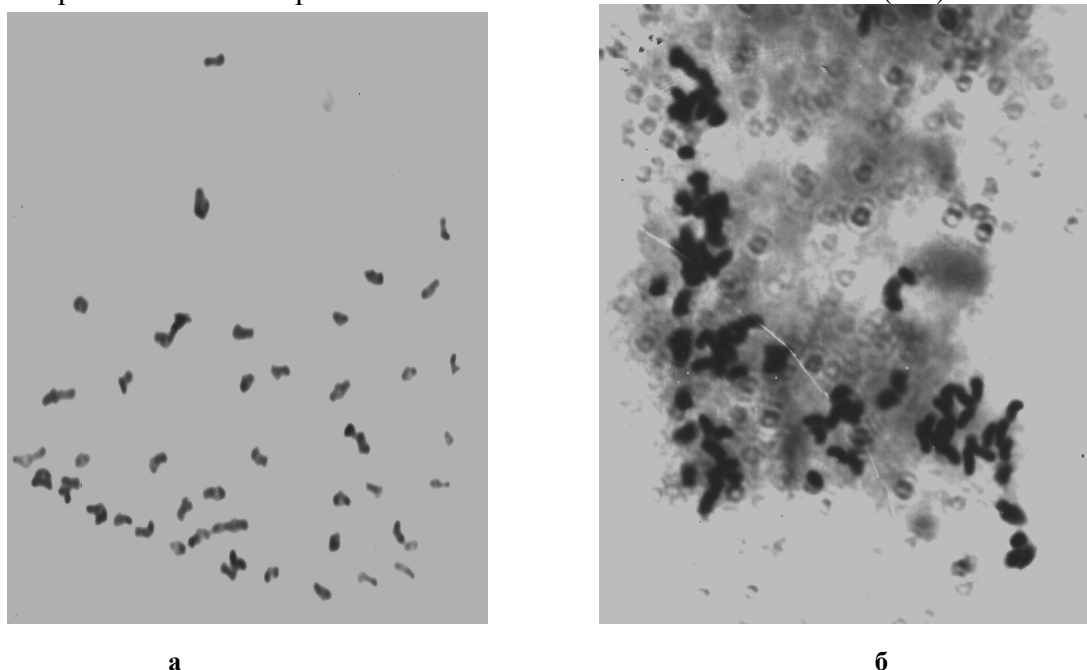


Рис. 2. Хромосомный комплекс пентаплоида (а) и гексаплоида (б).

Fig. 2. Chromosome complex of pentaploid (a) and hexaploid (b).

Полученный гексаплоид практически не отличается от пентаплоида по массовой доле эфирного масла (1,434% на абсолютно сухую массу), но состав масла у них различный. У пентаплоида он поликомпонентный. В составе эфирного масла идентифицированы: нерол – 20%, нераль – 32%, гераниол – 15,4%, гераниаль – 7,2% и геранилацетат – 10,5%. Но при переходе к более сбалансированной форме (гексаплоид с $2n = 54$) снова наблюдаем доминирование синтеза цитронеллола (81,69%) как у исходных родителей: *N. transcaucasica* и котовника гибридного сорта Юбилей Вавилова. Следовательно, этот признак, передаваясь с геномом котовника закавказского (Т), всегда является доминантным.

Таблица 1

Сравнительная характеристика основных морфологических признаков исходных родителей и гибридных форм котовников

Table 1

Comparative characteristics of the main morphological characters of initial parents and hybrids of *Nepeta*

Основные морфологические признаки	Вид (гибридная форма)					Гибрид № 3
	<i>N. transcasicasica</i>	<i>N. grandiflora</i>	<i>N. cataria</i>	Память Вавилова		
Семя	Длина, мм	1,64 ± 0,085	2,01 ± 0,090	1,43 ± 0,086	2,18 ± 0,097	1,95 ± 0,066
	Ширина, мм	1,05 ± 0,066	1,20 ± 0,070	1,08 ± 0,059	1,32 ± 0,067	1,55 ± 0,068
	Масса 1000 семян, г	0,60 ± 0,014	0,74 ± 0,019	0,67 ± 0,010	0,60 ± 0,024	1,03 ± 0,112
Лист	Длина, см	3,72 ± 0,510	6,65 ± 0,740	4,97 ± 0,610	4,62 ± 0,220	4,18 ± 0,250
	Ширина, см	2,67 ± 0,380	3,46 ± 0,530	3,27 ± 0,470	3,13 ± 0,150	3,91 ± 0,230
	Индекс (дли/шир)	1,39	1,92	1,52	1,47	1,07
Соцветие	Длина главной оси, см	17,72 ± 4,070	24,20 ± 5,670	12,40 ± 3,220	26,34 ± 5,940	21,15 ± 3,48
	Кол-во цветков на гл. оси, шт.	254 ± 13	587 ± 49	469 ± 24	412 ± 24	323 ± 14
Цветок	Длина венчика, мм	14,19 ± 0,181	17,26 ± 0,261	8,32 ± 0,346	14,10 ± 0,420	19,58 ± 0,946
	Ширина нижней губы, мм	6,52 ± 0,393	6,62 ± 0,360	4,87 ± 0,256	6,96 ± 0,314	13,95 ± 0,150
	Длина чашечки, мм	8,18 ± 0,341	6,77 ± 0,201	5,74 ± 0,185	8,70 ± 0,219	10,53 ± 0,342
Пыльца	Экваториальный диаметр, мкм	36,0 ± 2,05	37,8 ± 0,77	37,1 ± 1,18	40,5 ± 3,86	50,2 ± 2,57
	Полярная ось, мкм	31,4 ± 1,27	33,6 ± 1,27	32,5 ± 1,22	35,8 ± 3,35	45,5 ± 2,53

Выводы

Отдаленная гибридизация и полиплоидизация открывают широкие возможности для получения новых растений рода *Nepeta* с заранее заданными свойствами. Нами получены новые отдаленные гибриды с измененными морфологическими признаками (форма листа, структура соцветия, детали строения цветка, чашечки, семени). Также отмечено изменение массовой доли и компонентного состава эфирного масла. Применение межвидовой гибридизации в сочетании с методами экспериментального мутагенеза позволяет создавать сложные гибриды с участием трех видов. Нами впервые синтезированы пентаплоид ($2n=45$) и гексаплоид ($2n=54$) котовника от скрещивания *N. transcaucasica*, *N. grandiflora* и *N. cataria*. Полученные растения чрезвычайно интересны в научном плане как модель для демонстрации возможных путей формообразования и эволюционирования рода в целом.

Список литературы

- БОРОЕВИЧ С. Принципы и методы селекции растений. – М.: Колос. – 1984. – 344 с.
ГОРЯЕВ М.И., ПЛИВА И. Методы исследования эфирных масел. – Алма-Ата: Изд-во АН Каз.ССР. – 1969. – 752 с.
РАБОТЯГОВ В.Д., МАШАНОВ В.И., АНДРЕЕВА Н.Ф. Интродукция эфирномасличных и пряно-ароматических растений. – Ялта, 1999. – 31 с.
СЕРКОВА А.А., АРИНШТЕЙН А.И., КРАВЕЦ Т.И. Новый сорт котовника гибридного ‘Романтика’ / Труды ВНИИЭМК. – Симферополь, 1983. – Т. 15. – С. 57-63.
ХРОМОСОМНЫЕ ЧИСЛА ЦВЕТКОВЫХ РАСТЕНИЙ. – Л.: Наука. – 1969. – С. 367.
ЧУВАШИНА Н.П. Цитогенетика и селекция отдаленных гибридов и полиплоидов смородины. – Л.: Наука. – 1980. – 121 с.
ЭРДТМАН Г. Морфология пыльцы и систематика растений (Введение в палинологию). – М.: Изд-во иностр. лит-ры. – 1956.

Рекомендує до друку
М.Ф. Бойко

Отримано 28.04.2009 р.

Адреса авторів:

Ю.В. Аксенов, В.Д. Работягов
Никитський ботанічний сад –
Національний научний центр, пос.
Никита, г. Ялта,
Україна
e-mail: nbs1812@yandex.ru

Author's address:

J.V.Aksyonov V.D. Rabotyagov
Nikitsky Botanical Garden- National Scientific
Centre, Yalta
Ukraine
e-mail: nbs1812@yandex.ru