

ЧАСТОТА И СПЕКТР ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ У СОРТОВ И ФОРМ ЧАЯ ПРИ СПОНТАННОМ МУТАГЕНЕЗЕ

М.В. ГВАСАЛИЯ

Растения чая *Camellia sinensis* (L.) Kuntze в природных условиях проявляют свойства пластичной культуры, что позволяет проводить отбор ценных для селекции форм. Повышению генетической изменчивости чая способствует высокий фон радиации, температурные шоки, нагрузка пестицидами, удобрениями и др. Мы оценили изменение структуры хромосом у различных сортов и форм чая по наличию хромосомных aberrаций. Объектом исследования были сорта Колхида (эталон по продуктивности и качеству), Кимынь (крупнолистные китайские разновидности) и местная популяция (смесь китайской, индийской и японской разновидностей), выращиваемые в трех районах промышленного возделывания чая — Гудаутском, Сухумском, Очамчирском (Республика Абхазия, 2003-2007), а также их мутантные формы с отклонениями по фенотипическим признакам (размер, форма, окраска и пузырчатость листа, полностью измененные растения). Собранные в сентябре—октябре семена проращивали в термостате при температуре 27-30 °С. При анализе спектра aberrаций использовали только семена с растений, произрастающих в Сухумском районе, где наблюдалась самая высокая частота появления соматических мутаций — $3,95 \pm 0,20$ % (для сравнения наименьшую регистрировали в Очамчирском районе — $2,00 \pm 0,03$ %). В меристематических клетках корешков в анафазах I митоза учитывали частоту хромосомных перестроек. Наибольшую частоту отмечали у сорта Кимынь (от $2,18 \pm 0,20$ до $5,92 \pm 0,47$ % в зависимости от места произрастания; число просмотренных анафаз составляло по вариантам от 2501 до 5580). У сорта Кимынь ($P < 0,001$), а также у местной популяции ($P < 0,05$) различия были статистически достоверными. Спектр хромосомных aberrаций у этого более мутабельного сорта тоже оказался шире, чем у сорта Колхида. Если у последнего наблюдались одиночные и парные фрагменты, то у сорта Кимынь дополнительно встречались одиночные и парные мосты с фрагментами. Сорт Кимынь, как мы полагаем, имеет большие перспективы в качестве исходного материала для селекции. Все изученные сорта и мутантные формы чая имели диплоидный набор хромосом ($2n = 30$). Отмечена положительная корреляция между частотой видимых мутаций и aberrаций хромосом, которая выявляется при сравнительном анализе как по сортам, так и по местам их произрастания.

Ключевые слова: чай *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, сорт, спонтанный мутагенез, хромосомные aberrации.

Растения чая *Camellia sinensis* (L.) Kuntze в природных условиях проявляют свойства пластичной культуры, что позволяет проводить отбор ценных для селекции форм (1). На усиление генетической изменчивости чая влияют различные факторы внешней среды (2), например высокий фон радиации (3), температурные шоки, применяемые пестициды (4), удобрения (5) и др. Показано, что частота спонтанной изменчивости зависит от сорта (6) и района произрастания. Спектр спонтанных изменений в большей степени зависит от генетических особенностей сорта (7), а наследуемость спонтанных изменений — от характера признака (8). Цитогенетические изменения оценивают, в частности, по наличию хромосомных aberrаций (9).

Известно, что у одних растительных видов частота естественной наследственной изменчивости больше, у других — меньше, то есть этот признак высокоспецифичен (10). К примеру, у растений чая в природных условиях наблюдается высокая пластичность. При этом имеют место как отдельные модификации, проявляющиеся на кусте в результате соматических мутаций (11), так и целиком измененные формы. Последние часто возникают на участках семенного размножения вследствие рекомбинации или спонтанного мутагенеза и могут служить материалом для получения новых сортов чая (12).

Спонтанная изменчивость у чая и возможности ее использования в

селекции далеко не исчерпаны. Спектр соматических мутаций у этой культуры представлен морфологическими, физиологическими и пластидными модификациями (13). Среди морфологических признаков наиболее часто встречаются отклонения по длине, ширине, форме, свойствам поверхности (гладкая, пузырчатая) и степени зазубренности листа, расположению листьев на побеге, длине междоузлий. Физиологические мутации проявляются в виде изменения окраски листа от светло- до темно-зеленой, а также различными оттенками антоциановой окраски. К этому же типу изменений относятся формы с удлинённым вегетационным периодом и сниженной генеративной активностью, а также с высокой урожайностью. Пластидные мутации представлены секториальными и периклиналильными химерами. Интересны формы с изменённой фотосинтетической активностью, улучшенными биохимическими и органолептическими показателями (14).

Нашей целью было установление корреляции между частотой соматических мутаций и частотой клеток с абберациями, а также анализ изменений в структуре хромосом в митозе у разных сортов и форм чая.

Методика. Наблюдения проводили в 2003-2007 годах. Объектом изучения были сорта чая *Camellia sinensis* (L.) Kuntze — Колхида (эталон по признакам продуктивности и качества), Кимынь (крупнолистные китайские разновидности) и местная популяция (смесь китайской, индийской и японской разновидностей), а также их мутантные формы, выращиваемые в трех районах промышленного возделывания чая (Гудаутский, Сухумский, Очамчирский; Республика Абхазия). Оценивали соматические отклонения (размер, форма, окраска и пузырчатость листа, полностью изменённые растения).

В указанных районах в сентябре—октябре собирали семена, которые проращивали в термостате при температуре 27-30 °С. При анализе спектра аббераций использовали семена с растений, произрастающих в Сухумском районе. Цитологические и кариологические исследования проводили на меристематических клетках корешков по общепринятой методике (в анафазах I митоза учитывали частоту хромосомных аббераций, тип перестроек, проводили кариологический анализ) (3). Для этого корешки длиной около 1 см фиксировали в смеси Карнуа и готовили временные ацетокарминовые препараты. В цитологических опытах применяли стандартные методики (15).

Для статистической обработки экспериментальных данных использовали метод Фишера для любых долей и определения χ^2 -квadrата (16).

Результаты. Колхида — сорт-эталон, сочетающий высокую урожайность (65,0 ц/га) и показатели качества, тогда как урожайность у местной популяции составляет 35 ц/га.

При анализе спектра аббераций использовали только семена с растений, произрастающих в Сухумском районе, где наблюдали самую высокую частоту появления соматических мутаций — $3,95 \pm 0,20$ % (для сравнения наименьший показатель регистрировали в Очамчирском районе — $2,00 \pm 0,03$ %). В меристематических клетках корешков проростков в анафазах I митоза наибольшую частоту хромосомных перестроек отмечали у сорта Кимынь ($2,18 \pm 0,20$ - $5,92 \pm 0,47$ % в зависимости от места семенной репродукции) (табл. 1).

Следует отметить выраженную корреляцию между частотой соматических мутаций и частотой клеток с абберациями. Так, у сорта Кимынь по сравнению с другими сортами наблюдалась наибольшая частота как соматических, так и структурных мутаций. Кроме того, у растений чая,

произрастающих в Сухумском районе, частота соматических мутаций и aberrаций оказалась выше, чем у растений в других районах.

1. Частота спонтанных хромосомных aberrаций у сортов чая *Camellia sinensis* (L.) Kuntze в зависимости от района семенной репродукции (Республика Абхазия, 2007 год)

Сорт, популяция	Гудаутский район			Сухумский район			Очамчирский район		
	число анафаз	измененные анафазы		число анафаз	измененные анафазы		число анафаз	измененные анафазы	
		число	доля, %		число	доля, %		число	доля, %
Колхида	2550	38	1,49±0,22	2600	78	3,00±0,33	2505	21	0,84±0,17
Местная популяция	2501	36	1,44±0,24	2511	80	3,19±0,35	2499	19	0,76±0,17
Кимынь	5580	181	3,24±0,24	2501	148	5,92±0,47	5410	118	2,18±0,20

Примечание. Для доли приведены значения $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$.

Сорт Колхида и местная популяция характеризовались меньшей частотой измененных анафаз. В вариантах с семенами, полученными в Сухумском районе, по сравнению с образцами из других районов наблюдались большие отклонения по частоте хромосомных aberrаций. Отмеченные различия были статистически достоверными у сорта Кимынь ($P < 0,001$), а также у местной популяции ($P < 0,05$).

Явная тенденция к увеличению частоты хромосомных перестроек (17) имела у проростков из семян, репродуцированных в Сухумском районе. Возможно, это объясняется большой загрязненностью расположенной здесь чайной плантации (пос. Гвандра) из-за ежегодного применения высоких доз минеральных удобрений (по действующему веществу N — 300, P₂O₅ — 150, K₂O — 120 кг/га). Кроме того, участок расположен на склоне, выше которого находятся плантации цитрусовых, где 5-6 раз за вегетацию применяются пестициды (Би-58, цинеб и др.). В результате при обильных осадках загрязненные этими химическими соединениями воды попадают на чайную плантацию.

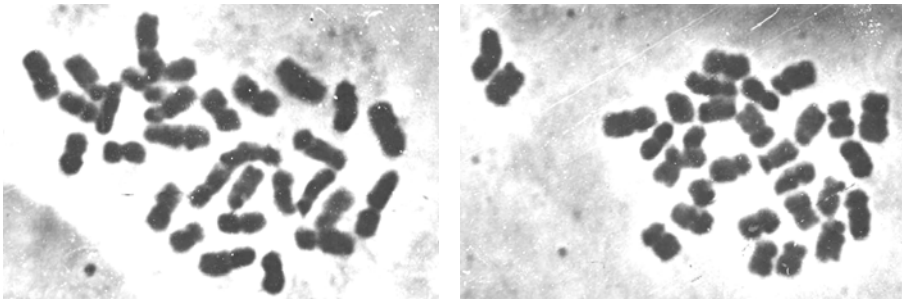
2. Спектр и число хромосомных aberrаций у сортов чая *Camellia sinensis* (L.) Kuntze и их мутантных форм при семенной репродукции в Сухумском районе (Республика Абхазия, 2007 год)

Сорт, форма	Число анафаз		Тип aberrации							
	всего	с aberrациями	I	II	[[-	[=	X	X-	X=
Кимынь (контроль)	2508	136	75	41	10	6	2	0	2	0
№ 333	506	39	22	15	1	1	0	0	0	0
№ 444	505	28	16	11	1	0	0	0	0	0
№ 477	489	26	17	8	1	0	0	0	0	0
Колхида (контроль)	2511	75	51	24	0	0	0	0	0	0
№ 555	2510	77	55	22	0	0	0	0	0	0
№ 588	2514	68	40	28	0	0	0	0	0	0

Примечание. «I» — одиночный фрагмент, «II» — двойной фрагмент, «[» — одиночный мост, «[-» — одиночный мост с фрагментом, «[=» — одиночный мост с двумя фрагментами, «X» — двойной мост, «X-» — двойной мост с одним фрагментом, «X=» — двойной мост с двумя фрагментами.

При сравнении изменений хромосом у сортов Кимынь, Колхида и их мутантных образцов с отклонениями по фенотипическим признакам (размер, форма, окраска и пузырчатость листа) мы обнаружили, что такие образцы, как правило, мало отличались от исходных сортов. Исключение составил № 333 (сорт Кимынь), у которого доля анафаз с хромосомными aberrациями выше (табл. 2). Их спектр у этого мутабельного сорта также был шире, чем у сорта Колхида: если у последнего наблюдались лишь одиночные и парные фрагменты, то у сорта Кимынь дополнительно встречались одиночные и парные мосты с фрагментами.

Выполненный кариологический анализ показал, что все изученные сорта и их мутантные формы имели стандартный диплоидный набор хромосом ($2n = 30$) (рис.).



Диплоидный набор хромосом ($2n = 30$) у проростков чая *Camellia sinensis* (L.) Kuntze (на примерах формы № 555 сорта Колхида; семенная репродукция в Сухумском районе Республики Абхазия, 2003 год). Увеличение $\times 800$.

В Сухумском районе были отобраны целиком измененные растения (частота их возникновения здесь составила 0,1 %).

Кроме того, мы оценили хозяйственную ценность измененных растений по среднему урожаю с одного куста, продолжительности вегетации и основным биохимическим показателям. В итоге нами были выделены 23 мутантные формы чая с комплексом ценных признаков (урожайность и биохимические показатели; данные не приведены).

Таким образом, частота и спектр хромосомных aberrаций у растений чая зависят от сорта и места (условий) его произрастания. Среди изученных форм сорт Кимынь наиболее изменчив: у него отмечена самая высокая частота хромосомных перестроек (2,18-5,92 %). Этот сорт имеет большие перспективы при использовании в качестве исходного материала для селекции. Сорт Колхида и местная популяция менее изменчивы и характеризуются наименьшим числом измененных анафаз.

ГНУ Всероссийский НИИ цветоводства
и субтропических культур Россельхозакадемии,
354002 Россия, г. Сочи, ул. Яна Фабрициуса, 2/28,
e-mail: gvasaliya_aa@mail.ru

Поступила в редакцию
23 апреля 2013 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2014, № 3, pp. 65-69

FREQUENCY AND SPECTRUM OF CHROMOSOMAL ABERRATIONS IN VARIETIES AND MUTANT FORMS OF *Camellia sinensis* (L.) Kuntze UNDER SPONTANEOUS MUTAGENESIS

M.V. Gvasaliya

All-Russian Research Institute of Floriculture and Subtropical Crops, Russian Academy of Agricultural Sciences, 2/28,
ul. Yana Fabriciusa, Sochi, 354002 Russia, e-mail gvasaliya_aa@mail.ru
Received April 23, 2013

doi: 10.15389/agrobiol.2014.3.65eng

Abstract

In natural environment, tea *Camellia sinensis* (L.) Kuntze plants show high adaptability, which allows selecting valuable forms for breeding. An increase of genetic variability can be induced by several environmental factors, i.e. incoming radiation, temperature shocks, pesticides, fertilizers and so on. To estimate the variability, we studied the chromosomal aberrations in Kolkhida variety (as a standard on the yield and quality parameters), in Kimyn variety (both are large-leaved Chinese sort), in so-called «local population» (a mix of Chinese, Indian and Japanese sorts), and in their mutant forms with varying phenotype (the plants with deviations in leaf size, shape, coloration, blistering, and those fully modified in appearance). Plants were grown on commercial plantations in Gudauta, Sukhumi and Ochamchir regions of Abkhazia. The seeds harvested in September and October were germinated in thermostatic conditions at 27-30 °C. To examine the patterns of chromosomal abnormalities, only the seeds reproduced in Sukhumi region were used as here was the highest frequency of somatic changes (3.95 ± 0.20 % comparing to the lowest rate of 2.00 ± 0.03 % in Ochamchir region), and the frequency of fully modified plants in Sukhumi region has reached 0.1 %. In root meristem cells of Kimyn variety, the highest rate of chromosomal rearrangements (2.18 ± 0.20 to 5.92 ± 0.47 % depending on the location) was detected in mitotic anaphases I (2501 to 5580 re-

vised). The significant differences were indicated in Kimyn variety ($P < 0.001$) and in the local population ($P < 0.05$). More mutable Kimyn variety also showed a wider range of the chromosomal abnormalities if compared to Kolkhida variety. In Kolkhida variety, single and double fragments were observed, while in Kimyn variety the single and double bridges were also found. The Kimyn variety is considered perspective as a parent form for breeding. All studied varieties were diploids ($2n = 30$). For all compared varieties and habitats a frequency of somatic mutations correlated positively to chromosomal abnormalities.

Keywords: tea plant, *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, variety, spontaneous mutagenesis, chromosome aberrations.

REFERENCES

1. Roychowhury R. *Crop improvement: new approaches and modern techniques. Ch. 1. Mutagenesis — a potential approach for crop improvement*. Springer Science + Business Media, 2013: 149-187.
2. Pivovarov Yu.P., Mikhalev V.P. *Radiatsionnaya ekologiya* [Radiation ecology]. Moscow, 2004.
3. Stoilov L. Karyotype reconstruction modulates the sensitivity of genome to radiation-induced DNA and chromosomal damage. *Mutagenesis*, 2013, 28(2): 153-160.
4. Bekman I.N. *Radioaktivnost' i radiatsiya* [Radioactivity and radiation]. Moscow, 2006.
5. Starkov V.D., Migunov V.I. *Radiatsionnaya ekologiya* [Radiation ecology]. Tyumen, 2003.
6. Krotova L.A., Popolzukhina N.A. *Materialy V Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii «Agrarnaya nauka — sel'skomu khozyaistvu»* [Proc. V Int. Conf. «Agricultural Science Serves Agriculture». Barnaul, 2010, V. 2: 300-302]. Barnaul, 2010, tom 2: 300-302.
7. Popolzukhina N.A. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya* [Agricultural Biology], 2003, 3: 108-112.
8. Mirkin B.M., Naumova L.P., Khaziakhmetov R.M. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya* [Agricultural Biology], 2003, 5: 83-93.
9. Boei J.J.W.A., Vermeulen S., Mullenders L., Natarajan A.T. Complex chromosomal aberrations. *Proc. 5th Int. Symp. on Chromosomal Aberrations*. Hyogo, Japan, 2001: 22 (<http://www.swansea.ac.uk/cget/ejgt/japan.doc>; <http://www.knt-ec.com/event/5thisca/>).
10. Miko I. Mitosis, meiosis and inheritance. *Nature Education*, 2008, 1(1): 206.
11. Kerkadze I.G. *Subtropicheskie kul'tury*, 1983, 1: 42-45.
12. Krotova L.A. *Mezhdunarodnaya konferentsiya «Nauchnoe nasledie N.I. Vavilova — fundament razvitiya otechestvennogo i mirovogo sel'skogo khozyaistva»* [Proc. Int. Conf. «N.I. Vavilov's Scientific Heritage as the Base for Agriculture Development in Russia and in the World»]. Moscow, 2007: 78-79.
13. Kerkadze I.G. *Subtropicheskie kul'tury*, 1980, 2: 36-43.
14. Borisova E.M. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya* [Agricultural Biology], 2003, 5: 124-126.
15. Pausheva Z.P. *Praktikum po tsitologii rastenii* [Plant cytology: practical works]. Moscow, 1980.
16. Plokhinskii N.A. *Biometriya* [Biometry]. Moscow, 1970.
17. Slijepcevic P. Telomers and mechanisms of chromosomal aberrations. *5 Inter. Sym. on Chromosomal Aberrations*. Hyogo, Japan, 2001: 20 (<http://www.swansea.ac.uk/cget/ejgt/japan.doc>; <http://www.knt-ec.com/event/5thisca/>).