

УДК 575(042.3)

## ИЗУЧЕНИЕ ХРОМОСОМНЫХ НАРУШЕНИЙ У ЦИТРУСОВЫХ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ВЫТЯЖКОЙ ИЗ ЛИСТЬЕВ И ПЫЛЬЦЕВЫХ ЗЕРЕН

Долидзе К.Г., Турманидзе Н.М.

*Батумский государственный университет им. Шота Руставели, Батуми, e-mail: info@bsu.edu.ge*

Работа посвящается подтверждению автомутагенной природы соматических мутаций цитрусовых. С целью выявления причин образования соматических мутаций в стерильных и фертильных формах цитрусовых были изучены автомутагенные свойства и роли вытяжек листьев и пыльцы. Объектами исследования были цитрусовые: апельсин Вашингтон – Навэль, апельсин Местный и *P. trifoliata*. Самый высокий процент хромосомных аномалий получен при обработке кончика корня *C. wilsoni* вытяжками из листьев мандарина Уншиу, Вашингтон–Навэль и *P. trifoliata*, а самая низкая мутагенная активность была обнаружена у вытяжки из листьев местного апельсина. Самый высокий процент хромосомных перестроек наблюдается при использовании вытяжки листьев стерильных форм. Эксперименты были проведены также для определения автомутагенных свойств содержимого пыльцевых зерен, для чего были использованы вытяжки из пыльцевых зерен различных форм цитрусовых. Установлено, что влияние вытяжкой пыльцевых зерен отдаленной формы цитрусовых – *Papeda* – дает больший генетический эффект, чем влияние вытяжкой пыльцевых зерен культигенов. Экспериментами было подтверждено, что повышение соматических мутации в стерильных формах цитрусовых (по сравнению – фертильными) связано с накоплением в них автомутагенных веществ.

**Ключевые слова:** цитрус, хромосомные нарушения, автомутагены, биомутагены

## THE STUDY OF CHROMOSOMAL ABNORMALITIES WITH THE INFLUENCE OF CITRUS LEAVES AND DUST FILTRATION

Dolidze K.G., Turmanidze N.M.

*Batumi Shota Rustaveli State University, Batumi, e-mail: info@bsu.edu.ge*

Citrus sterile and fertile forms in order to identify causes of Somatic mutation formation, was studied their leaves and dust filtration auto-mutagenic features. Citrus fruits were taken as the objects of research: Orange Washington navel, local orange and *P. trifoliata*. Leave squeeze was received from the leaves of first vegetation. Chromosomal anomalies were studied by the anaphase method. Chromosomal anomalies highest percentage was observed by Tangerine unshius, Washington navel and Trifoliolate leaves squeeze by possessing of Wilson root tip (12,3; 11,1; 10,7%). The highest mutagenic activity was found in local orange leaves squeeze – 4,5% (in a controlling version – 2,9%). Chromosomal rearrangement the highest percentage is received by using squeezing of sterile form leaves. In order to determine auto-mutagenic properties of dust seed composition sample object (*Allium fistilozum* L.) meristematic cell realized citrus different genotype dust seed squeezed influence. It turned out that in citrus *papeda* distant hybrids dust there is much more mutagenic substance is accumulated. By *C. Wilson* dust squeezed influence the size of chromosomal abnormalities is 14,5%, *C. ichangensis* – 13,4%, *P. trifoliata* – 13,3%. And in cultigens this indicator is considerably less: Meyer lemon – 7,4%, local orange – 7,1%. Thus, during hybridization in nucelar seedlings diversity of mutant forms among the other factors are determined by the composition of the dust pipe auto-mutagenic features. It has been determined that in citrus sterile forms compared with fertile increased somatic mutation in them is related with accumulation of auto mutagenic substances.

**Keywords:** Citrus, Chromosomal Abnormalities, Automutagen, Biomutagen

Известно, что характерная для Грузии субтропическая среда сформировалась в условиях региональных географических особенностей западной Грузии. Такой аazonальный субтропический климат, естественно, характеризуется резкими периодическими изменениями. А цитрусовые как формы, филогенетически сформированные в настоящих субтропических условиях, по своей генетической структуре мало приспособлены к нашим сравнительно суровым условиям. Относительно в необычной среде очевидно повышенные уровни мутационного изменения у цитрусовых.

Среди многих факторов, которые вызывают естественный мутационный процесс, для цитрусовых особое значение имеют биохимические факторы. Некоторые промежуточные, а иногда даже конечные продукты

метаболизма (дубильные вещества, флавоноиды, эфирные масла, пигменты, аминокислоты и др.) характеризуются мутагенными свойствами. Их называют автомутагенами.

Предположение о роли биомутагенов (автомутагенов) для объяснения повышенного уровня природной мутабельности у цитрусовых, предложил Диасамидзе [1]. После того исследованиями Керкадзе [4, 5] было экспериментально установлено биомутагенное действие вытяжек разных органов цитрусовых на модельный объект. Аналогичные исследования были проведены и другими авторами [2, 6, 9, 10]. Многими авторами на примере цитрусовых была подтверждена способность биосинтеза биологически особенных веществ.

Установлена связь стимулирующего действия содержимого пыльцевой трубки

между способностью образования нуцеллярных семян [3, 7, 8].

Наша работа посвящается изучению автомутагенной природы соматических мутаций цитрусовых. Экспериментами, которые были проведены с этой целью, было подтверждено, что соматические мутации в стерильных формах цитрусовых более вероятны, чем в фертильных формах.

#### Материалы и методы исследования

Объектами исследования были следующие формы цитрусовых: апельсин Вашингтон – Навэль, апельсин Местный и *P. trifoliata*.

С целью получения вытяжек были использованы листья первой вегетации. Вытяжки были получены из 100 г листьев каждого генотипа. Листья измельчались в фарфоровой посуде, куда добавляли чистый песок. После получения однородной массы добавляли 100 мл дистиллированной воды. Перед воздействием

вытяжки были профильтрованы. Воздействие вытяжек проводили на меристемные клетки кончика корня *C. wilsoni* по 1 часовой экспозиции. Фиксацию материала проводили каждые 3 часа (от 3 до 30 ч). Приготавливали временные раздавленные препараты. Их окрашивали ацетокармином. Хромосомные аномалии были рассчитаны анафазным методом.

#### Результаты исследования и их обсуждение

Из таблицы видно, что при обработке кончика корня *C. wilsoni* вытяжками из листьев мандарина Уншиу, Вашингтон–Навэль и *P. trifoliata* получен высокий процент хромосомных аномалий (12,2; 11,1; 10,7%). Низкая мутагенная активность была обнаружена у вытяжки из листьев местного апельсина – 4,5%. В контрольном варианте природные хромосомные аномалии были 2,9%.

Частота структурных хромосомных нарушений после обработки проростков *C. wilsoni* вытяжками листьев разных генотипов цитрусовых

№ п/п	Объекты исследования	Количество проанализированных кончиков корня	Количество проанализированных анафаз	Структурные нарушения хромосом		Эндомитоз	
				число	%	число	%
1	Мандарин Уншиу	20	786	96	12,2 ± 1,2	15	1,9
2	Апельсин Вашингтон–Навэль	25	1063	118	11,1 ± 0,3	10	0,9
3	<i>P. trifoliata</i>	20	978	105	10,7 ± 0,9	18	1,8
4	Апельсин Местный	25	1012	46	4,5 ± 0,7	3	0,3
5	Контроль (вода)	20	1241	36	2,9 ± 0,5	4	0,3

В меристемных клетках *C. wilsoni* влиянием вытяжек из листьев различных генотипов цитрусовых обнаруживаются многоядерные клетки и эндомитоз. Большинство многоядерных клеток наблюдалось при действии вытяжек из листьев мандарина Уншиу и *P. trifoliata*. В контрольных вариантах было получено 6 многоядерных клеток. Спектр и частота хромосомных нарушений меняется в зависимости от обработки вытяжкой из листьев разных генотипов и в большинстве случаев носит специфический характер.

Эксперимент доказал, что у различных форм цитрусовых характеризуется образование и накопление автомутагенных веществ.

Следует отметить, что самый высокий процент хромосомных перестроек наблюдается при использовании вытяжки листьев стерильных форм. Но, что касается высокой мутагенной активности *P. trifoliata*, вытекает из его природы, в несколько большем количестве он содержит эфирные масла и другие биологически активные вещества.

Эксперименты были проведены также для определения автомутагенных свойств

содержимого пыльцевых зерен, для чего были использованы вытяжки из пыльцевых зерен различных форм цитрусовых. Вытяжки были приготовлены из свежесобранных пыльцевых зерен в количестве 0,1 г и разбавлены до 2% в спирте с добавлением дистиллированной воды.

При воздействии вытяжкой из пыльцевых зерен различных генотипов цитрусовых на меристемной ткани модельного объекта (*Allium fistulosum* L.) оказалось, что в пыльце отдаленной формы цитрусовых *Papeda* накапливается гораздо больше мутагенных веществ, чем у культивируемых цитрусовых. Следовательно, влияние вытяжкой из их пыльцевых зерен дает больший генетический эффект, чем влияние вытяжкой из пыльцевых зерен культивируемых. Например, при воздействии вытяжкой из пыльцевых зерен Вильсона генетический эффект больше, чем при воздействии вытяжкой из пыльцевых зерен культивируемых. В частности, при воздействии вытяжкой из пыльцевых зерен *C. Wilsoni* было получено 14,5% хромосомных нарушений, в случае *C. ichangensis* – 13,4%, при *P. trifoliata* – 13,3% (рис. 1).

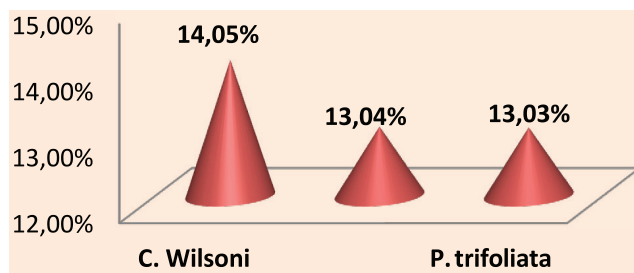


Рис. 1. Хромосомные нарушения у *C. wilsoni*, *C. ichangensis*, *P. trifoliata*

А в случае культивированных форм этот показатель значительно ниже: в лимоне Мейер хромо-

сомные перестройки составляют 7,4%, а в апельсине Местный – 7,1% (рис. 2).



Рис. 2. Хромосомные нарушения у лимона Мейер и апельсина Местный

Таким образом, можно сделать вывод, что при гибридизации внучеллярных семян цитрусовых разнообразия мутантных форм в ряду с другими факторами могут быть вызваны автомутагенными особенностями состава пыльцевой трубки.

При гибридизации наиболее отдаленных форм автомутагенные вещества могут накапливаться в значительном количестве, следовательно, в последующие поколения может быть выявлено больше мутаций, притом более богатым спектром.

### Выводы

Таким образом, в отличных условиях первичных геноцентра цитрусовых высокий уровень мутабельности можно объяснить автомутагенным механизмом как адаптивной реакцией к относительно необычным для растений температурным факторам.

Исследованиями установлено повышение мутационной изменчивости у стерильных форм цитрусовых (по сравнению с фертильными) в связи с накоплением

в них автомутагенных веществ. В стерильных растениях, в которых хотя цветы развиваются, но гаметы нежизнеспособные, не исключено, что главной причиной стерильности является накопление автомутагенных веществ.

### Список литературы

1. Диасамидзе А.О. Действие химических мутагенов на семенное поколение *Citrus wilsoni* // Субтр. культ. – 1969. – № 5.
2. Долидзе К.Г., Диасамидзе А.О., Коридзе М.Л., Турманидзе Н.М. Вопросы изучения спонтанных мутационных процессов у цитрусовых // Научн. Труды гос. агр. ун-в. Грузии. – Тб., 2009. – т. 2. – № 4 (49). – 5 с.
3. Капанадзе И.С. Основные биогенетические особенности цитрусовых: автореф. на дис. ... д-ра биол. наук. – Тб., 1967.
4. Керкадзе И.Г. Автомутагенное свойство и его роль в естественном мутационном процессе цитрусовых // Субтр. культ. – № 5. – Озургети. Анасеули. – 1974.
5. Керкадзе И.Г. К вопросу возникновения естественной мутации цитрусовых // Субтр. культ. – № 6. Озургети, Анасеули. – 1975.
6. Коридзе М.Л. Изучение биомутагенного эффекта вытяжки из семян стерильной формы мандарина Ковано-Васэ. БДУ // Материалы I научн. конф. проф. – Батуми, 1994.

7. Мампориа Ф.Д. Особенности воспроизведения роста, развития и формообразования цитрусовых и некоторых других померанцевых. – Тб., 1951.

8. Сургуладзе Ш.М. Управление формообразования у цитрусовых. – Тб., 1980.

9. Dolidze K.G., Diasamidze A.O. Effect of pollen grain on polyembryony degree in the citrus plants. Proc. Georgian Acad. of Sci., Biol. Ser. B. – Tb., 2006. – Vol. 4, № 3. – P. 73–76.

10. Koridze M.L., Khukhunaishvili R.G., Dolidze K.G., Jakeli E.X. Features of spontaneous and induced mutants of citrus nobilis Kovano vase. Proc. Georgian Acad. of Sci., Biol. Ser. B. – Tb., 2009. – Vol. 7, № 1–2. – P. 35–38.

### References

1. Diasamidze A.O. Dejstvie himicheskikh mutagenov na semennoe pokolenie Citrus wilsoni // Subtr. kult. 1969. no. 5.

2. Dolidze K.G., Diasamidze A.O., Koridze M.L., Turmanidze N.M. Voprosy izuchenija spontannykh mutacionnykh processov u citrusovykh // Nauchn. Trudy gos. agr. univ. Gruzii. Tb., 2009. t. 2. no. 4 (49). 5 p.

3. Kapanadze I.S. Osnovnye biogeneticheskie osobennosti citrusovykh: avtoref. na dis. ... d-ra biol. nauk. Tb., 1967.

4. Kerkadze I.G. Avtomutagennoe svojstvo i ego rol' v estestvennom mutacionnom processe citrusovykh // Subtr. kult. № 5. Ozurgeti. Anaseuli. 1974.

5. Kerkadze I.G. K voprosu vznikovenija estestvennoj mutacii citrusovykh // Subtr. kult. № 6. Ozurgeti, Anaseuli. 1975.

6. Koridze M.L. Izuchenie biomutagennoho jeffekta vytjazhki iz semen sterilnoj Formy mandarina Kovano-Vasje. BDU // Materialy Inauchn. konf. prof. Batumi, 1994.

7. Mamporija F.D. Osobennosti vosproizvedenija rosta, razvitija i formoobrazovanija citrusovykh inekotorykh drugih pomerancevykh. Tb., 1951.

8. Surguladze Sh.M. Upravlenie formoobrazovanija u citrusovykh. Tb., 1980.

9. Dolidze K.G., Diasamidze A.O. Effect of pollen grain on polyembryony degree in the citrus plants. Proc. Georgian Acad. of Sci., Biol. Ser. B. Tb., 2006. Vol. 4, no. 3. pp. 73–76.

10. Koridze M.L., Khukhunaishvili R.G., Dolidze K.G., Jakeli E.X. Features of spontaneous and induced mutants of citrus nobilis Kovano vase. Proc. Georgian Acad. of Sci., Biol. Ser. B. Tb., 2009. Vol. 7, no. 1–2. pp. 35–38.

### Рецензенты:

Диасамидзе А.О., д.б.н., профессор, Батумский государственный университет им. Шота Руставели, г. Батуми;

Коридзе М.Л., д.б.н., ассоциированный профессор, Батумский государственный университет им. Шота Руставели, г. Батуми.

Работа поступила в редакцию 04.04.2014.