

УДК 581. 1:581.14.6

Н. А. ВЕЧЁРКО, Л. И. ВЕЧЁРКО

## БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ У СОМАКЛОНАЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ФРЕЗИИ

(Институт биологии и биотехнологии растений НЦБ РК,  
Институт ботаники и фитоинтродукции МОН РК, г. Алматы)

Впервые в культуре *in vitro* получены высокодекоративные сомаклональные варианты фрезии сорта Медея. Изучены их морфолого-цитогенетические и анатомические особенности.

Фрезия (*Freesia Klatt.*, сем. *Iridaceae*, подсем. *Ixioidae*) – родом из Южной Африки (Капская область). По своей жизненной форме фрезия относится к геофитам, по ритму развития является эфемероидом. Фрезия является популярной срезочной культурой закрытого грунта в промышленном цветоводстве многих стран мира. Она отличается высокой декоративностью и изысканным ароматом цветков, цветением в зимний и ранневесенний периоды, когда ассортимент местной цветочной продукции ограничен, а спрос на неё высок.

В настоящее время вопрос о самообеспечении Казахстана срезом цветов решён недостаточно полно. Импортная цветочная продукция даже при наличии высоких декоративных качеств, часто не приспособлена к произрастанию в местных экологических условиях, трудно размножается и подвержена вирусным заболеваниям. В связи с этим стали актуальны исследования, направленные на создание новой импортозамещающей продукции путём селекции новых хозяйствственно ценных сортов, приспособленных к местным экологическим условиям.

Большую помощь в создании новых местных сортов фрезии может оказать метод культуры тканей, а именно получение сомаклональных вариантов *in vitro* при культивировании каллусных тканей растений. Сомаклональная изменчивость является мощным источником создания новых генотипов растений без гибридизации, её использование, наряду с традиционными методами, может расширить возможности направленной селекции.

Цель настоящей работы – проведение хозяйственно-биологической, цитогенетической и анатомо-морфологической оценки сомаклональных вариантов фрезии.

### Материалы и методы

В качестве объекта исследования использовался высокодекоративный, перспективный сорт *Medea* (Медея), полученный в Институте ботаники и фитоинтродукции МОН РК (авторы сорта Вечёрко Л.И., Вечёрко Н.А.) и его сомаклональные варианты № 99.12, 99.13, 99.16.

Для постановки эксперимента использовались варианты среды МС № 2 (5 мг/л БАП; 1 мг/л НУК) и № 4 (2,5 мг/л БАП; 1 мг/л НУК). В качестве эксплантов взяты сегменты клубнелуковиц фрезии из средней части (без пазушных почек). Работа проводилась в стерильном боксе.

Через один месяц после культивирования были получены морфогенные каллусы. В дальнейшем они высаживались на питательную среду для геммогенеза. Для этой цели использовался вариант среды № 2. Полученные побеги высаживались на питательную среду для укоренения (среда МС – 1 мг/л ИУК – жидккая на мостиках, макроэлементы и сахароза 1/2 нормы). Часть укоренённых побегов пересажены в почвенный субстрат для дальнейшего роста и развития, другие – пересажены на питательную среду для клубнеобразования (среда МС №7 – 0,5 мг/л АБК; 1 мг/л зеатин; 4% сахароза). В результате получены клубнелуковицы – детки.

Растения – регенеранты были пересажены в почвенный субстрат теплицы, где в течение двух лет проводилась их биолого-хозяйственная оценка.

В процессе изучения морфолого-биологических особенностей сорта Медея и его сомаклональных вариантов получены следующие данные:

Исходный сорт *Medea*. Окраска цветка красно-карминовая, зев жёлтый. Аромат сильный, приятный. Соцветие с  $9,0 \pm 0,15$  немахровыми цветками среднего размера (диаметр  $5,52 \pm 0,01$  см,

высота –  $5,50 \pm 0,05$  см). Цветоносные репродуктивные побеги 1-2 порядка. Начало цветения в III декаде февраля. Коэффициент вегетативного размножения – 3-4. Оценка декоративности (по 100 бальной шкале) – 96 баллов. Межсортовой гибрид, полученный в результате гибридизации сорта *Oberon* (кирпично-красная) и сорта *Silvia* (фиолетово-синяя). В 1994 году был передан на Государственное сортоиспытание под названием *Medea*. В 1997 году он получил статус сорта, подтверждённый авторским свидетельством. Авторы сорта Л.И. Вечёрко, Н.А. Вечёрко.

№ 99.12 Сомаклональный вариант, полученный в культуре тканей из сорта *Medea*. Окраска цветка ярко-сиреневая с фиолетовым оттенком, зев белый с жёлтым пятном в глубине. Штрихи в тон лепестков.

Соцветие с  $9,10 \pm 0,10$  слабомахровыми крупными цветками (диаметр цветка  $6,06 \pm 0,02$  см, высота –  $6,06 \pm 0,03$  см). Цветонос высокий, прочный, длина его  $60,60 \pm 0,36$  см. Коэффициент размножения 3,5. Цветёт во II декаде февраля.

№ 99.13 Сомаклональный вариант, полученный в культуре ткани из сорта *Medea*. Окраска цветка сиренево-малиновая с фиолетовым оттенком, зев жёлтый. Цветки немахровые, крупные (диаметр –  $6,02 \pm 0,01$  см, высота  $6,96 \pm 0,02$  см), в соцветии их  $7,80 \pm 0,21$ .

Цветонос прочный, длина его  $43,90 \pm 0,75$  см. Развиваются дополнительные репродуктивные побеги 1-2 порядка. Коэффициент размножения 2,5. Начало цветения в I декаде февраля.

99.16. Сомаклональный вариант сорта *Medea*. Окраска цветка ярко-карминовая с фиолетовым оттенком, зев белый с ярким жёлтым пятном. Цветки немахровые, размер их  $6,52 \pm 0,02$  x  $5,53 \pm 0,01$  см. В соцветии  $7,20 \pm 0,12$  цветков. Цветонос прочный, длина его  $60,6 \pm 0,33$  см. Коэффициент размножения 3,0. Начало цветения во II декаде марта.

Исследование показало, что сорт *Medea* и его сомаклональные варианты имели небольшое варьирование по показателям цветения (коэффициент вариации меньше 10%, точность опыта меньше 3%). Средние показатели цветения у сомаклонального варианта № 99.12 оказались максимально приближенными к таковым у исходного сорта *Medea*.

Наиболее высокие декоративные качества отмечены у сомаклонального варианта 99.16.

Прочные длинные цветоносы (60 см) наблюдали у № 99.12, 99.16. Крупные цветки были характерны для № 99.12., 99. 13. Все цветки имели по 6 лепестков (немахровые), у № 99.12 цветки были слабомахровыми. У всех сомаклональных вариантов, как и у исходного сорта, цветки имели сильный, приятный аромат.

Цвели они, в основном, в феврале. К раннецветущим отнесён № 99.13, который цвёт в I декаде февраля. К позднецветущим относится сомаклональный вариант № 99.16, который цвёт в первой декаде марта. Коэффициент размножения у выделенных сомаклональных вариантов от 2-4, у исходного сорта *Medea* – 3. Сорт *Medea* и его сомаклональные варианты были устойчивы к сухой, серой, пенициллёзной гнили, вирусным болезням.

Процент поражения клубнелуковиц грибковыми заболеваниями у всех вариантов и исходного сорта после летнего хранения (вынужденный покой в течение 3-х месяцев при температуре +28-30 °C) – 0.

Все сомаклональные варианты сорта *Medea* отнесены к перспективным, требующим дальнейшей оценки в системе Государственного сортоиспытания. В настоящее время проводится их размножение.

Изучение декоративных и хозяйственных качеств сомаклональных вариантов сорта *Medea* проводилось с целью селекционной оценки исходного материала. Для успеха этой работы большое значение имеют детальные цитогенетические исследования, позволяющие в первую очередь установить качество разных сортов, в данном случае сомаклональных вариантов, как опылителей.

В связи с этим проводилось сравнительное изучение процесса микроспорогенеза, определялась fertильность и жизнеспособность пыльцы сомаклональных вариантов фрезии, полученных в культуре тканей из сорта *Medea*.

Исследование показало, что в пыльниках цветков одного колосовидного соцветия фрезии можно одновременно наблюдать все фазы мейоза от начала до полного его завершения. То есть в пыльниках средних цветков осуществляется метафаза и анафаза I и II деления мейоза. В пыльниках нижней части соцветия наблюдаются тетрады, а в пыльниках верхней части соцветия – профаза I и диакинез.



Рис. 1. Нормальные тетрады у сорта *Medea*

У сорта *Medea* и его сомаклональных вариантов мейоз протекает в основном нормально. Тип образования микроспор последовательный или сукцессивный. Расположение микроспор в тетрадах изобилательное (рис. 1).

У сорта *Medea* и его сомаклональных вариантов число хромосом в материнских клетках пыльцы (диакинез и метафазе первого деления (M I) составляет XI бивалентов ( $2n = 22$ ). Иногда в метафазах деления (M I) наблюдались униваленты, отстающие хромосомы в анафазах первого деления, а в тетрадах микроядра, как следствие неправильного расхождения одной или нескольких хромосом к полюсам и не включения их в ядро клетки.

Цитологический анализ редукционного деления в пыльниках исследуемых растений сорта *Medea* и его сомаклональных вариантов показал, что общий процент хромосомных перестроек в мейозе сравнительно небольшой. У сомаклональных вариантов № 99.13, 99.16 наблюдалось больше хромосомных перестроек (5,46% и 3,94%) по сравнению с контролем (сорт *Medea* – 1,08%). У сомаклонального варианта 99.12 было небольшое количество изменённых клеток (1,28%).

Цветки сорта *Medea* и его сомаклональных вариантов производят большое количество пыльцы, что повышает вероятность оплодотворения семяпочек и обеспечивает нормальное завязывание семян.

В зрелых пыльниках исследуемых растений фрезии содержится стерильной пыльцы: у *Medea* и 99.12 – 3% (фертильность – 97,0%), у 99.13 – 15% (фертильность 85%), у 99.16 – 11,5 % (фертильность 88,50%).

Спермии у фрезии образуются в пыльцевой трубке, а не в пыльнике, поэтому о фертильности приходится судить только по окрашиванию их содержимого ядерными красителями. У фертильных пыльцевых зёрен фрезии цитоплазма окрашивается ацетокармином в густой карминовый цвет. Стерильные пыльцевые зёрна не окраиваются ацетокармином, имеют зачастую неправильную форму, а содержимое их отходит от оболочки.

О способности пыльцы к оплодотворению, о наличии в ней нормальных спермииев зачастую судят по прорастанию пыльцы и её росту на рыльце пестика или искусственной питательной среде.

В наших опытах пыльца фрезии сорта *Medea* и его сомаклональных вариантов не прорастала на питательных средах МС, Гамборга и Эвелега (B5), Уайта, Нича. Однако это не значит, что исследуемая пыльца имела слабую жизнеспособность, так как после опыления ею рылец материнских растений завязывалось определённое количество гибридных семян.

Эти результаты согласуются с данными некоторых авторов [1]. Рост пыльцевых трубок в естественной среде (на рыльце и столбике), зачастую сильно отличается от такового в искусственных условиях, т.е. на различных питательных средах. По данным ряда исследователей [1, 2] в пыльце имеется значительное количество физиологически активных веществ, в частности, ростовой гормон гетероауксин, стимулирующий прорастание и рост пыльцевых трубок.

По-видимому, прорастание пыльцы фрезии и рост её пыльцевых трубок в столбике стимулируется особыми веществами, выделяющимися столбиком и отсутствующими в искусственной питательной среде. А также причиной слабого роста и развития пыльцы фрезии на питательных средах является отсутствие в ней соответствующих физико-химических условий (влажность).

При исследовании морфологических признаков сомаклональных вариантов были обнаружены различия в анатомическом строении листьев. Анатомическое строение листьев является дополнительным диагностическим признаком, говорящим об экологических условиях произрастания того или иного вида растений [3].

В результате сравнительно-анатомического анализа листьев фрезии сорта *Medea* и его

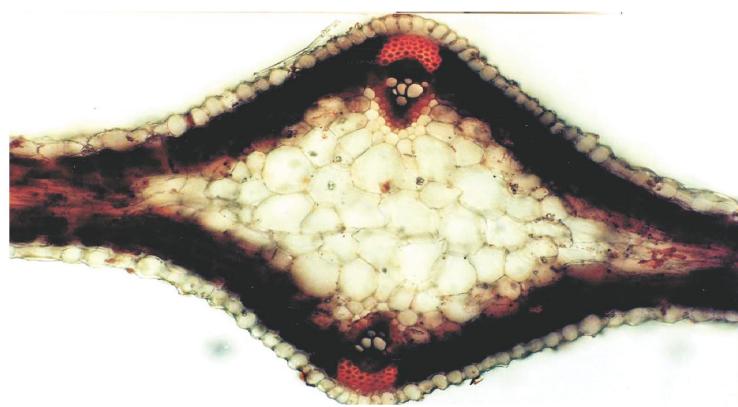
сомаклонального варианта 99.12 установлено, что наряду с общими признаками в их строении имеется ряд более или менее выраженных различий, которые, очевидно связаны с их сортовыми особенностями. При сопоставлении у них одноимённых признаков эти различия проявляются главным образом в развитии механических тканей и в размерах отдельных структурных элементов.

У фрезии сорта *Medea* в области центральной жилки имеются два сосудисто-волокнистых пучка: один располагается в верхней части листа, другой в нижней части (рис. 2, а). Сосудисто-волокнистый пучок окружён двумя слоями клеток-обкладок. Наружный из них состоит из крупных клеток (паренхимная обкладка), а внутренний – из более мелких клеток с утолщеными стенками (защитная обкладка). К сосудисто-волокнистым пучкам примыкают хорошо развитые склеренхимные тяжи, несколько слоёв которых тянутся до верхнего и нижнего краёв листа. Слева и справа от центральной жилки, уже в середине, имеются более мелкие сосудисто-волокнистые пучки, чередующиеся с более крупными. Склеренхимные тяжи развиты только у крупных сосудисто-волокнистых пучков. В анатомическом строении первого листа изучаемых объектов отмечены следующие особенности:

1. Сосудисто-волокнистых пучков у сомаклонального варианта № 99.12 насчитывается 13, из них основной пучок является двойным, то есть в верхней и нижней стороне листа располагаются хорошо развитые сосудисто-волокнистые пучки. У сорта *Medea* всего 10 пучков.

2. У сомаклонального варианта № 99.12 механических элементов больше, чем у сорта *Medea*. Склеренхимные тяжи у варианта № 99.12 на верхней и нижней стороне листа развиваются через пучок. Склеренхимные тяжи у *Medea* имеются только на верхней стороне листа, также располагаются через пучок, а на нижней стороне листа склеренхимные тяжи находятся только против центральных сосудисто-волокнистых пучков.

При изучении анатомического строения второго листа у сорта *Medea* и его сомаклонального варианта № 99.12 было обнаружено следующее: по сравнению с первым листом у обоих сортов больше развиты механические элементы, количество сосудисто-волокнистых пучков увеличивается до 14 у *Medea* и до 16 у сомаклонального варианта № 99.12. Стенки защитной обкладки двух центральных и последующих крупных сосудисто-волокнистых пучков заметно утолщены. В паренхимных обкладках центральных



**Рис. 2, а.** Расположение сосудисто-волокнистых пучков в области центральной жилки

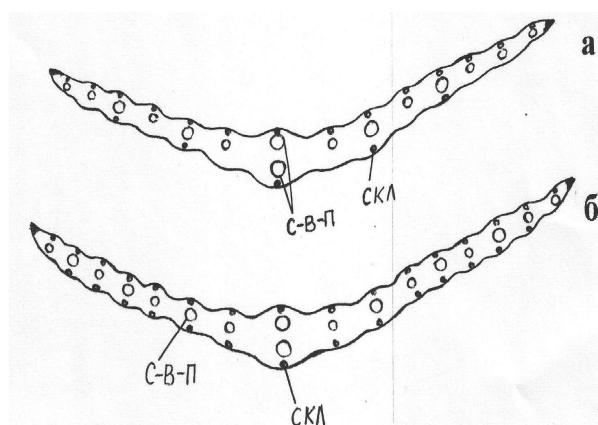


**Рис. 2, б.** Расположение сосудисто-волокнистых пучков в области края листа

сосудисто-волокнистых пучков обнаруживаются крахмальные зёरна.

У сомаклонального варианта № 99.12 склеренхимные тяжи располагаются уже против всех проводящих пучков как с верхней, так и с нижней стороны листа, за исключением последнего сосудисто-волокнистого пучка, у края листа (рис. 2, б).

У сорта *Medea* механических элементов меньше по сравнению с сомаклональным вариантом № 99.12. Склеренхимные тяжи отсутствуют на нижней стороне листа, а располагаются сверху против первого и третьего пучков по обеим сторонам от двух центральных проводящих пучков (рис. 3).



**Рис. 3. Схема расположения сосудисто-волокнистых пучков 2-го листа фрезии:**  
а – сорт *Medea*; б – сомаклональный вариант 99.12.  
с-в-п – сосудисто-волокнистый пучок; скл – склеренхима

Следовательно, сомаклональный вариант № 99.12 по характеру развития сосудисто-волокнистых пучков и механических тканей в листьях

несколько опережает сорт *Medea*. У сомаклонального варианта № 99.12, в силу большей склерификации тканей листья прямостоячие, жёсткие и более широкие, чем у сорта *Medea*. У последнего, как у большинства других сортов фрезии, листья поникающие и мягкие.

Таким образом, впервые получены сомаклональные варианты фрезии сорта *Medea*, путём индукции каллусогенеза и эмбриоидогенеза в культуре тканей. Проведена их биолого-хозяйственная оценка.

Установлено, что эти сомаклональные варианты различаются по морфолого-декоративным, биолого-хозяйственным и анатомическим показателям, а также по биологическим особенностям цветения и размножения.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Якушина Н.И. О ростовых веществах пыльцы растений // Докл. АН СССР. 1947. Вып. 56, № 5. С. 66-74.
- Голубинский И.Н. Исследование прорастания пыльцевых зёрен на искусственных средах: канд. дис. Харьков, 1961. 125 с.
- Баранова М.В. Лилии. М., 1990. С. 30-31.

#### Резюме

Алғаш рет *in vitro* күлтүрасында фрезияның Медея сортынан жоғары мәдени сомаклонды варианктар алынды. Олардың морфология-цитогенетикалық және анатомиялық ерекшеліктері зерттелді.

#### Summary

The high-decorative somaclonal variants of freesia cultivar *Medea* were received *in vitro* for the first time. Morphological, cytogenetic and anatomical particularities of these variants were studied.