

УДК 635.25/.26:631.523

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ КАРИОТИПОВ *A. SPECIES* № 60 И *A. SATIVUM* L.

В. А. КОМИССАРОВ, Е. М. ТАРАСОВА

(Кафедра селекции и семеноводства овощных и плодовых культур)

Форма *A. species* № 60 по совокупности биолого-морфологических признаков близка к дикорастущему чесноку. Этот образец обнаружен на высоте 1500 м над уровнем моря близ кишлака Шахринау (Гиссарский хребет). Подобная форма была ранее найдена в горных районах Таджикистана В. В. Триппелем. Изучение *A. species* № 60 в условиях культуры (Таджикская ССР) в течение 1978—1980 гг. позволило получить интересные данные, в частности, об особенностях генеративного воспроизведения, возрастания массы луковицы и соцветия, увеличения количества листьев и т. д. [2]. *A. species* № 60 относится к стрелкующимся формам и характеризуется повышенным по сравнению с чесноком количеством листьев, более крупной луковицей специфического и мягкого вкуса. Вопрос отнесения дикорастущего образца *A. species* № 60 к определенному систематическому рангу (вид, подвид, разновидность) в настоящее время не решен.

Данная работа посвящена детальному кариологическому анализу дикорастущего образца *A. species* № 60 с помощью методов количественной идентификации хромосом. Кроме того, предпринята попытка сравнить кариотипические характеристики *A. species* № 60 и *A. sativum* L. с целью установления сходства или различия между их кариотипами.

Материалом для исследования служили луковицы стрелкующегося *A. sativum* L., полученные из коллекции ВИРа, и луковицы *A. species* № 60. Проростки зубков длиной 1,5—2,0 см после соответствующих обработок [3] использовали для приготовления давленных временных препаратов. Анализ проводили на неокрашенных метафазных пластинках

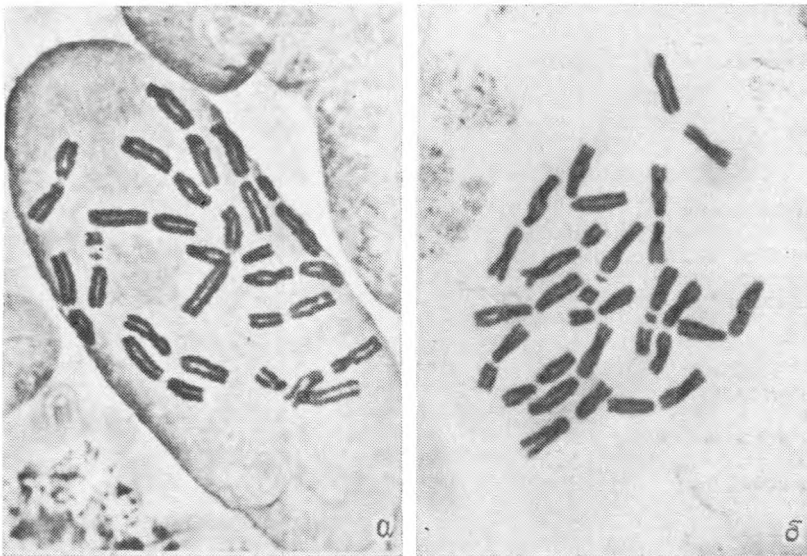


Рис. 1. Метафазная пластинка *A. species* № 60 (а) и *A. sativum* L. (б).

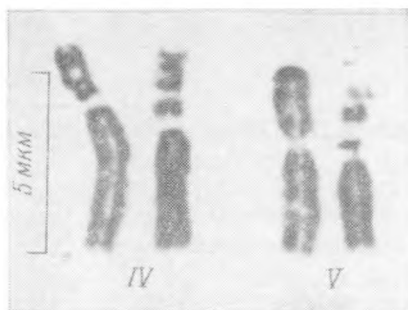


Рис. 2. Гетероморфизм гомологов спутничных хромосом *A. species* № 60.

в системе фазового контраста микроскопа. Наиболее хорошие метафазные пластинки фотографировали в иммерсионной системе микроскопа МБИ-15 (объектив $90\times 1,25$). Всего в дальнейшем анализе были использованы 84 метафазные пластинки для *A. sativum* L. и 10 — для *A. species* № 60. Характеристики хромосом — относительную длину l (%), плечевой индекс M (отношение длинного плеча хромосомы к короткому) и абсолютную длину набора L (мкм) вычисляли исходя из размеров плеч каждой хромосомы на фотографии. Размеры вторичной перетяжки и спутника в хромосомах, в которых они имелись, в расчет не принимались. Полученные данные обрабатывали статистически с использованием критериев

Таблица 1

Частота встречаемости спутничных хромосом различных типов и сочетаний у *A. species* N 60 и *A. sativum* L.

Показатель	Тип спутничного района		Тип сочетания		
	классический (К)	без спутничной нити (БСН)	К и К	К и БСН	БСН и БСН
<i>A. species</i> N 60					
Группа IV					
Экспериментальное число	10	10	—	20	—
Теоретическое число			2,5	5,0	2,5
Экспериментальный %	50,0	50,0	—	100,0	—
Теоретический %			25,0	50,0	25,0
Группа V					
Экспериментальное число	10	10	—	10	—
Теоретическое число			2,5	5,0	2,5
Экспериментальный %	50,0	50,0	—	100,0	—
Теоретический %			25,0	50,0	25,0
<i>A. sativum</i> L.					
Группа IV					
Экспериментальное число	100	68	16	68	—
Теоретическое число			29,4	40,4	14,2
Экспериментальный %	59,5	40,5	19,0	81,0	—
Теоретический %			35,0	48,0	17,0
Группа V					
Экспериментальное число	98	70	14	70	—
Теоретическое число			28,6	40,9	14,5
Экспериментальный %	58,5	41,5	16,7	83,3	—
Теоретический %			34,1	58,6	17,3

Примечание. Для *A. species* N 60 $\chi^2=10,0$, для IV группы *A. sativum* L. $\chi^2=39,5$, для V группы $\chi^2=42,6$ (при $P<0,001$).

Морфометрическая характеристика кариотипов *A. species* № 60 и *A. sativum* L.

Группа	Число хромосом в группе	$\bar{M} \pm m$	$(\bar{l} \pm m)$, %
A. species № 60			
I. Большие метацентрики	4	1,10±0,03	78,7±0,13
II. Средние субметацентрики	6	1,19±0,04	6,74±0,09
III. Малые »	2	1,36±0,09	5,54±0,09
IV. Спутничные хромосомы	1	8,40±0,71	5,05±0,11
» »	1	6,54±0,43	4,88±0,13
V. Спутничные хромосомы	1	7,42±0,73	3,62±0,14
» »	1	7,37±0,70	3,38±0,13
$\Phi = 2(2L_m + 3S_s + 1M_s + 2M_a)$			
A. sativum L.			
I. Большие метацентрики	6	1,11±0,02	7,82±0,06
II. Средние субметацентрики	4	1,21±0,03	6,54±0,07
III. Малые »	2	1,68±0,08	4,93±0,08
IV. Спутничные хромосомы	2	10,62±1,00	4,68±0,07
V. Спутничные хромосомы	2	5,11±0,40	3,85±0,07

$$\Phi = 2(3L_m + 2S_s + 1M_s + 2M_a)$$

Примечания. 1. Обозначения в формулах: метацентрики (m) с $\bar{M} \sim 1,00 - 1,15$; субметацентрики (s) с $\bar{M} \sim 1,15 - 3,00$; акроцентрики (a) с $\bar{M} \geq 3,00$; большие (L) с $\bar{l} \geq 7,0$; средние (S) с $\bar{l} \sim 6,0 - 7,0$; малые (M) с $\bar{l} < 6,0$. 2. Для *A. species* № 60 ($L \pm m$) равно 175 ± 2 мкм; для *A. sativum* L. 188 ± 2 мкм.

Стьюдента (t), Колмогорова — Смирнова (λ^2), методов поликариограмм [14] и последовательного анализа распределений хромосом в зависимости от значений их относительных характеристик [3].

Исследованный образец *A. species* № 60 оказался, как и *A. sativum* L., диплоидом с соматическим числом хромосом $2n = 16$ (рис. 1). Абсолютная длина его диплоидного набора колебалась от 139 до 196 мкм, размер хромосом варьировал в пределах 6—16 мкм. Для *A. sativum* L. эти значения соответственно составляли 156—224 и 6—19 мкм.

В кариотипе *A. species* № 60 четко выделяются две пары спутничных хромосом (IV и V). По классификации Е. Баталья [6], спутники *A. species* № 60 относятся к разряду линейных спутников, имеющих форму удлинённого хромосомного сегмента. Характерно, что у самих спутников идет дальнейшая дифференцировка в виде разделения их перетяжкой на два расположенных друг за другом тельца (tandem satellite). Однако это хорошо проявляется только у одного гомолога в каждой паре спутничных хромосом (рис. 2). Впервые «тандемный» тип спутничного района у хромосом рода *Allium* L. был описан В. Тейлором в 1925 г. [17]. Аналогичную картину образования спутников наблюдал А. Леван у *A. scera* L. [11] и Е. М. Тарасова у *A. roggum* L. [3]. Подобные спутники представляют собой сочетание терминального и интеркалярного спутников. Спирализация гомологов в обеих парах спутничных хромосом неодинакова — вторичная перетяжка четко выделяется лишь у одной хромосомы в каждой паре гомологов. Вследствие этого по степени спирализации спутничного района хромосомы *A. species* № 60 разделяются на два класса: с «классическим» четко выраженным спутником и вторичной перетяжкой и «без спутничной нити» с сильно спирализованной спутничной нитью. Оказалось, что во всех проанализированных метафазных пластинках у *A. species* № 60 гетероморфный тип сочетания спутничных хромосом (табл. 1). Он оказался настолько

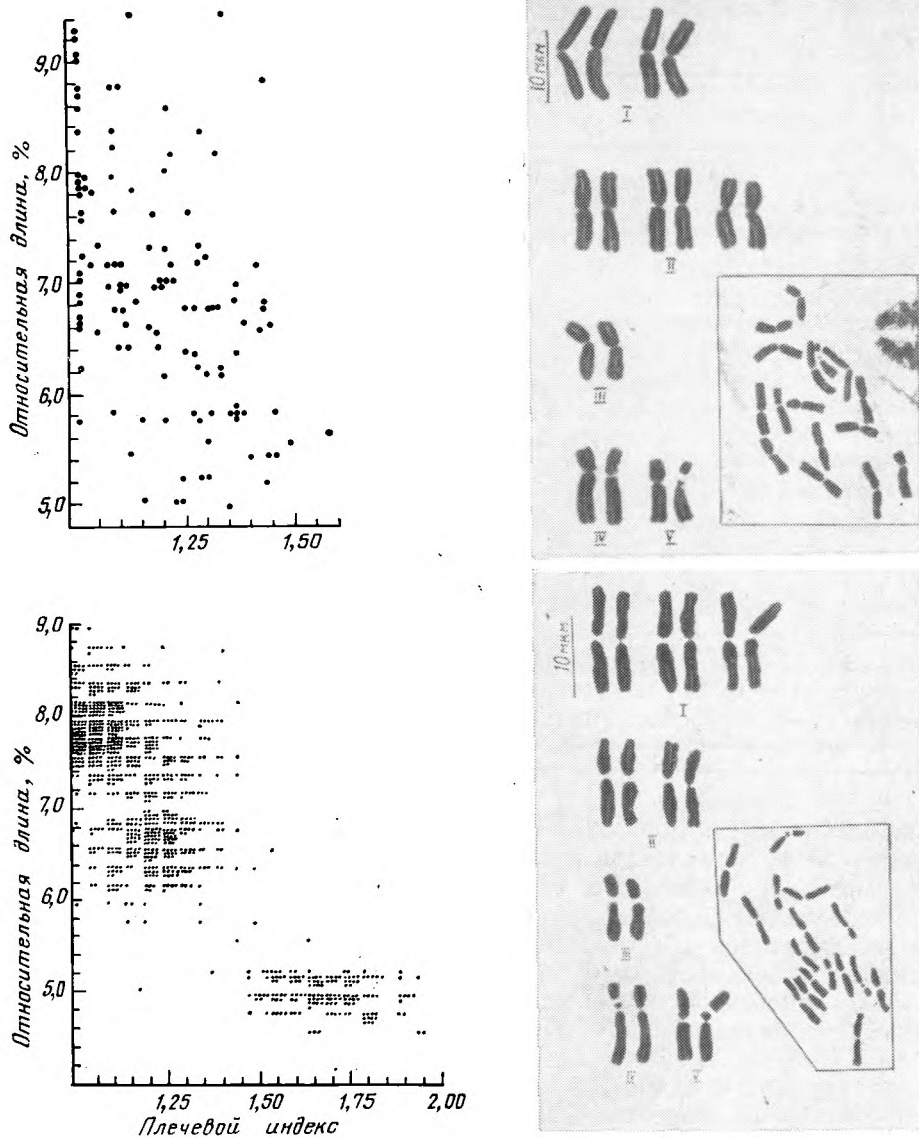


Рис. 3. Поликариогаммы (слева) и систематизированные кариотипы *A. species* № 60 (вверху) и *A. sativum* L.

выраженным, что мы сочли целесообразным дать морфометрическую характеристику каждому гомологу отдельно (табл. 2). Установлено, что гомологичные хромосомы в паре IV при сравнительно одинаковом размере ($t_I = 1,06$) значительно различаются по плечевому индексу ($t_M = 2,26$). У гомологов пары V значимой разницы в морфометрических характеристиках не наблюдается ($t_I = 1,26$, $t_M = 0,05$ при $t_{0,05} = 1,96$). Однако гетероморфизм в спирализации самих спутников пары V выражен даже более резко, чем пары IV (рис. 2).

Спутничные хромосомы *A. sativum* L. по морфологии практически идентичны с таковыми у *A. species* № 60. Две пары спутничных хромосом с линейными спутниками на коротких плечах также гетероморфны в сочетании гомологов по типу спутничного района в индивидуальных клетках, как и хромосомы *A. species* № 60. Однако различия в спира-

Сравнение кариотипов *A. species* № 60 и *A. sativum* L.

Сравниваемые кариотипические группы	λ_M^2	t_M	λ_1^2	t_1
Большие метацентрики, I—I	2,55		3,51	
Средние субметацентрики, II—II	2,50		3,01	
Малые субметацентрики, III—III		2,67		5,08
Спутничные хромосомы:				
IV—IV ₁		1,80		2,84
IV—IV ₂		3,14		1,33
V—V ₁		2,78		1,44
V—V ₂		2,79		3,13

$t_{0,05} = 1,96$; $\lambda_{0,05}^2 = 1,84$.

лизации плеч гомологов и дифференцировка спутников, столь ярко выраженные у *A. species* № 60, у *A. sativum* L. не отмечались, а частота гомеоморфных сочетаний спутничных хромосом, совсем отсутствующих у *A. species* № 60, у *A. sativum* L. составляла 29,4 и 28,6 % (табл. 1).

Для того чтобы получить ответ на вопрос, является ли гетероморфизм в сочетании спутничных хромосом характерным для изученных луков, или этот факт носит случайный характер, было проведено сравнение частоты встречаемости клеток с определенным типом сочетания в паре спутничных хромосом с теоретическим распределением (теоретическое распределение рассчитано исходя из возможности случайной встречаемости в клетке хромосом, различающихся типом спирализации спутничного района). Оказалось, что в обоих случаях наблюдаемое нами распределение по клеткам различных классов спутничных хромосом значимо отличается от случайного. Это свидетельствует, что гетероморфный тип сочетания спутничных хромосом является характерным для изученных луков.

В табл. 2 представлены средние значения относительной длины и плечевого индекса спутничных хромосом обоих луков. Вследствие резкого гетероморфизма гомологов спутничных хромосом *A. species* № 60 сравнение средних значений морфометрических характеристик этих хромосом в соответствующих кариотипических группах *A. species* № 60 и *A. sativum* L. проводилось для каждого гомолога *A. species* № 60 индивидуально. Во всех случаях у спутничных хромосом в пределах *A. species* № 60 и *A. sativum* L. обнаружены статистически значимые различия либо по плечевому индексу, либо по относительной длине (табл. 3).

Последовательный анализ распределений хромосом позволил выделить на поликариограмме *A. species* № 60 (рис. 3) три кариотипические группы: большие метацентрики (4 хромосомы), средние субметацентрики (6 хромосом) и малые субметацентрики (2 хромосомы). В отличие от *A. species* № 60, распределение хромосом на поликариограмме *A. sativum* L. значительно оформленнее, границы областей скопления точек более резкие. Вероятно, это связано с большей окультуренностью последней формы, явившейся результатом многократно повторяющегося искусственного отбора. На поликариограмме *A. sativum* L. (рис. 3) выделяются также три области скопления точек, соответствующие трем кариотипическим группам: большие

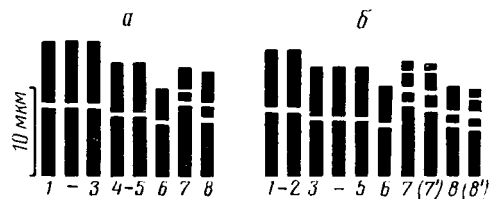


Рис. 4. Идиограммы *A. sativum* L. (а) и *A. species* № 60 (б).

метацентрики (6 хромосом), средние субметацентрики (4 хромосомы) и малые субметацентрики (2 хромосомы).

Таким образом, у обоих изученных образцов хромосомы, не имеющие маркеров, разбиваются на три морфологически одинаковые, но различающиеся количеством хромосом кариотипические группы (рис. 3). Как и в случае спутничных хромосом, для каждой кариотипической группы немаркированных хромосом вычислены средние значения морфометрических параметров, которые представлены в табл. 2. На основании этих данных составлены формулы кариотипов и построены идиограммы (рис. 4).

О кариотипическом сходстве *A. species* № 60 и *A. sativum* L. говорят рисунок поликариограмм, картина систематизированных кариотипов, морфология спутничных хромосом. Вместе с тем детальный сравнительный анализ кариотипов показал значимые различия между ними по некоторым характеристикам. Наряду с различиями в средних значениях абсолютных длин диплоидных наборов ($t_{\Gamma} = 2,41$) наблюдались статистически значимые различия в характере распределений немаркированных хромосом как по плечевому индексу ($\lambda_{\text{M}}^2 = 2,41$), так и по относительной длине ($\lambda_{\Gamma}^2 = 3,21$). Как видно из табл. 3, эти различия, выявленные в результате тотального сравнения кариотипов, явились следствием различий между соответствующими кариотипическими группами *A. species* № 60 и *A. sativum* L. В том случае, когда кариотипическая группа включала одну пару гомологов, различия между средними значениями плечевого индекса и относительной длины устанавливали с помощью критерия Стьюдента (t). Когда кариотипическая группа содержала более чем одну пару хромосом, характер распределений сравнивали с помощью критерия Колмогорова — Смирнова (λ^2). Во всех трех кариотипических группах немаркированных хромосом — больших метацентриках, средних и малых субметацентриках — установлено наличие статистически значимых различий (табл. 3).

Таким образом, у всех выделенных кариотипических групп, включая спутничные хромосомы, в пределах пары *A. species* № 60 и *A. sativum* L. наблюдались значимые различия либо по плечевому индексу, либо по относительной длине.

Исследованные в работе луки — диплоиды с соматическим числом хромосом $2n = 16$, так что гаплоидный набор у них составляет $n = 8$. Хромосомы крупные, достигают 16—19 мкм. При общем сравнении хромосомных наборов отмечено сходство в рисунке их поликариограмм, строении кариотипов, морфологии и числе кариотипических групп. Как для *A. species* № 60, так и для *A. sativum* L. характерно наличие двух пар спутничных хромосом с четко выраженным гетероморфизмом гомологов внутри этих пар, что согласуется с данными других авторов, наблюдавших структурную гетерозиготность спутничных [15] и иных хромосом [7, 16] в разных популяциях *A. sativum* L. Наши исследования показали, что гетероморфный тип сочетания спутничных хромосом для *A. sativum* L. и *A. species* № 60 не случаен. Однако у последнего это явление выражено более ярко, у него же наблюдается дифференциация спутников, у *A. sativum* L. вообще отсутствующая. Вопросу фенотипической изменчивости спутничных хромосом посвящена работа [1], в которой, в частности, не исключается существование специального механизма, регулирующего эту изменчивость.

Согласно ранее опубликованным данным [4, 5, 19], хромосомы разных видов лука при окрашивании их по методу Романовского — Гимза имеют практически одинаковый рисунок дифференциации. Выказано мнение, что, возможно, род *Allium* L. является специфичным в применении данного метода для идентификации хромосом. Различия в размерах окрашенных гетерохроматиновых блоков у разных хромосом набора

установить визуально почти невозможно, поэтому провести идентификацию хромосом по данному признаку довольно трудно. Попытка идентифицировать хромосомы *A. sativum* L. с помощью окрашивания их по методу Романовского — Гимза не была успешной: «бэндинг» наблюдался только в хромосомах с вторичными перетяжками [15]. В связи с этим в нашей работе идентификация хромосом, не имеющих маркеров, проводилась с помощью принятых в настоящее время количественных методов анализа поликариограмм и последовательного построения распределений хромосом в зависимости от их относительных характеристик. Использование такого приема систематизации кариотипов позволило нам разделить хромосомы, не имеющие маркеров, у обоих луков на три кариотипические группы, в то время как в более ранних работах [15] указанные хромосомы у *A. sativum* L. описывались как одна метацентрическая группа.

При проведении сравнительного анализа удалось выяснить, что, несмотря на отсутствие визуальных различий в морфологии соответствующих кариотипических групп у *A. species* № 60 и *A. sativum* L., эти группы статистически значимо различаются по количественным показателям.

В настоящее время накоплены данные кариологического исследования некоторых видов, принадлежащих к секции *Pogonum*. Так, изучены кариотипы *A. sativum* L. [3, 7, 8, 15, 16], *A. scorodoprasum* L. [12, 18], *A. ampeloprasum* L. [9, 10], *A. pogonum* L. [3, 13]. Для кариотипов этих видов характерно наличие хорошо идентифицируемых спутничных хромосом с линейными, иногда фрагментированными спутниками на коротких плечах [6]. Спутничные хромосомы представлены двумя типами — «а» и «б», различающимися локализацией вторичной перетяжки, общей длиной и относительной длиной хромосомных плеч. В работе [18] тип «а» условно обозначен «скордопраизмом», так как впервые спутничные хромосомы этого типа наблюдались у *A. scorodoprasum* [12]. Хромосомы типа «б» несколько короче и метацентричнее по сравнению с хромосомами типа «а». Впервые хромосомы, аналогичные типу «б», были обнаружены в кариотипе *A. sativum* L. [7, 8]. В более поздних исследованиях оба типа этих хромосом отмечены у *A. pogonum* L. [3, 13], у *A. sativum* L. [3, 15] и *A. ampeloprasum* L. [9]. Немаркированные хромосомы у видов секции *Pogonum* метацентрического и слабосубметацентрического типа.

Суммируя результаты, полученные в нашей работе, с данными других авторов, которые изучали хромосомные наборы видов секции *Pogonum*, можно заключить, что по всем кариотипическим признакам форма *A. species* № 60 принадлежит к секции *Pogonum*. Этот вывод согласуется с данными, полученными при исследовании морфологических признаков *A. species* № 60 [2]. Габитус растения, характер выполненности ложного стебля, возможности размножения (формирование у основания материнской луковицы придаточных луковичек, часто со столонovidным стеблем) указывают на близость *A. species* № 60 к *A. sativum* L., с одной стороны, и к *A. pogonum* L. и *A. ampeloprasum* L. — с другой. Однако *A. species* № 60 присуще наличие черт, отличающих его от указанных видов, а специфичность вкуса луковицы дает основание предполагать у него иной состав эфирных масел.

Все изложенное указывает на необходимость продолжения исследования видов, близких *A. species* № 60, с целью уточнения места этих видов и *A. species* № 60 в системе *Allium* L., что одновременно позволит вплотную подойти к построению эволюционного ряда в секции *Pogonum*.

Выводы

1. В результате количественного анализа хромосом систематизированы кариотипы двух луков — дикорастущей формы *A. species* № 60 и

A. sativum L. Определены морфометрические характеристики выделенных кариотипических групп, в результате построены идиограммы и составлены формулы кариотипов.

2. При анализе спутничных хромосом *A. species* № 60 и *A. sativum* L. отмечена их резкая вариабельность по степеням спирализации спутничного района. Исследование характера распределения спутничных хромосом различного типа по клеткам показало, что оно не случайно: обоим лукам присущ гетероморфный тип сочетания спутничных хромосом.

3. В результате сравнительного кариологического анализа изученных луков установлено, что, несмотря на чрезвычайное подобие их по морфологии хромосомных наборов, в морфометрических характеристиках выделенных кариотипических групп есть статистически значимые различия.

4. По всем изученным кариотипическим признакам форма *A. species* № 60 принадлежит к секции *Porrum*. Полученные данные сравнительного морфометрического анализа хромосом *A. species* № 60 и *A. sativum* L. могут быть использованы для уточнения систематики секции *Porrum* и решения вопроса филогенетических отношений видов, принадлежащих к этой секции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дерягин Ю. В., Иорданский А. Б. Фенотипическая изменчивость спутничных хромосом. Сообщ. 1-е. *A. sera* L., *A. fistulosum* L., *A. altaicum* Pall. — Генетика, 1971, т. 7, № 10, с. 13—17. — 2. Мирбайзаев Ш. М. Дикорастущие чесноки Узбекистана и Таджикистана и их использование в селекции. — Прогресс. технол. выращивания овощных культур, 1981, с. 57—61. — 3. Тарасова Е. М. Кариологическое изучение некоторых диких и культурных видов рода *Allium* L. — Автореф. канд. дис. М., 1973. — 4. Тарасова Е. М. Хромосомы растений и их идентификация. — Докл. ТСХА, 1979, вып. 256, с. 174—179. — 5. Щапова А. И., Кравцова Л. А. Сравнительное изучение кариотипов двух видов лука, различающихся по суммарной длине хромосом набора. — Изв. Сиб. отд. АН СССР, сер. биол., 1974, № 15, вып. 3, с. 74—77. — 6. Battaglia E. — *Phytomorphology*, 1955, vol. 5, p. 171—184. — 7. Battaglia E. — *Caryologia*, 1963, vol. 16, N 1, p. 1—46. — 8. Khoshoo T., Atal C., Scharma W. — *Res. Bul. Panjab.*, 1960, *Univ. Sei. (N. S.)*, N 11, p. 37—47. — 9. Kollman F. — *Israel J. Bot.*, 1971, vol. 20, N 1, p. 13—20. — 10. Koul A., Gohil R. — *Chromosoma*, 1970, vol. 29, N 1, p. 12—19. — 11. Levan A. — *Hereditas*, 1932, Bd 16, H. 3, p. 257—294. — 12. Levan A. — *Hereditas*, 1935, Bd 20, H. 3, p. 289—330. — 13. Murin A. — *Caryologia*, 1964, vol. 17, N 3, p. 575—578. — 14. Pattau K. — *Amer. J. Human Genetics*, 1960, vol. 12, p. 250—257. — 15. Roy S. — *Cytologia*, 1978, vol. 43, N 1, p. 97—100. — 16. Sen S. — *Folia Biologica*, 1973, vol. 36, N 3, p. 383—392. — 17. Taylor W. — *Amer. J. Bot.*, 1925, vol. 12, N 2, p. 104—115. — 18. Ved Brat S. — *Chromosoma*, 1965, vol. 16, N 4, p. 486—499. — 19. Vossa C. — *Heredity*, 1976, vol. 36, N 3, p. 383—392.

Статья поступила 12 апреля 1982 г.

SUMMARY

Karyotypes of wild-growing onion *A. species* N 60 and garlic *A. sativum* L. were systematized by methods of quantitative analysis of chromosomes. Morphometric characteristics of karyotypical groups marked out were determined; idiograms and formular of karyotypes were received. Non-accidental character was marked of cell distribution of satellite chromosomes of various types. Despite the morphological similarity of chromosome sets of these species there are statistically essential differences in morphometrical characteristics of their karyotypical groups. Data received indicate the belonging of *A. species* N 60 to *Porrum* section and can be used for further specification of systematic location of species belonging to this section.