

**ЭЛИМИНАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА
В ПРОЦЕССЕ ПОЛИПЛОИДИЗАЦИИ РОДА MORUS L.****Э.М.АХУНДОВА, Н.С.КАЛАНТАРОВА**
Бакинский Государственный Университет

В настоящей работе представлены результаты исследований уровня клеточной ДНК у растений полиплоидного ряда шелковицы. Растения условно разделены на три группы: низкоплоидные $2n=2x-4x$, среднеплоидные $2n = 6x-9x$ и высокоплоидные $2n = 12x - 22x$. Исследование среднего звена полиплоидного ряда шелковицы ($6x - 9x$) позволило установить порог, с которого начинается элиминация генетического материала при полиплоидизации у шелковицы. Установлено, что у гексаплоида при трехкратном увеличении набора хромосом содержание ДНК на клетку возрастает лишь в 2,4 раза по сравнению с диплоидом. Изучение содержания клеточной ДНК в полиплоидном ряду шелковицы, показало кратное хромосомному набору увеличение уровня клеточной ДНК у низкоплоидов; несоответствие числу хромосомного набора увеличение клеточной ДНК у среднеплоидов и высокоплоидов.

В настоящее время общепризнано, что полиплоидия является важнейшим фактором видообразования растений. Повсеместное распространение полиплоидов, связанное с их адаптивной пластичностью, их более высокая жизнеспособность и жизнедеятельность доказывает, что геномные мутации нашли себе широкую арену почти у всех представителей растительного царства. Полиплоидные ряды встречаются у большинства организмов, начиная с более примитивных форм, грибов, папоротников и водорослей, вплоть до высших растений, где процесс полиплоидизации особенно усилился. Однако ряд исследователей предполагает, что в длительной эволюции большую роль сыграл диплоидный уровень, и что дублирование генов не могло способствовать прогрессивной эволюции.

В монографиях В.Гранта (1971) и Дж.Стеббинса (1971) по видообразованию растений рассматривается значение полиплоидии в эволюции высших растений (1,2). В.Грант (1971) полагает, что естественная гибридизация, ведущая к полиплоидии, является одним из важнейших механизмов, определяющих эволюцию высших растений.

Wagner (1970) отмечает, что полиплоидия, часто возникающая в течение эволюции, явление случайное, не имеющее значения для эволюционных преобразований. Некоторые авторы считают, что эволюционная пластичность и эволюционный прогресс связаны с понижением уровня плоидности, предполагая, что основным процессом является уменьшение генетического материала за счет потери отдельных хромосом и за счет гаплоидизации (3).

Противоположного мнения придерживается С.Оно (1973), подробно изложивший свою точку зрения в книге «Генетические механизмы прогрессивной эволюции». Основная мысль автора заключается в том, что только избыточность генетического материала может способствовать появлению новых признаков (4). Автор считает, что дупликация геномов является более совершенным способом, чем дупликация отдельных генов. Однако роль полиплоидии нельзя ограничивать и сводить только к полезным признакам и свойствам, которые предпочитают отбором. Полиплоидия может быть признаком, не дающим в настоящее время никаких преимуществ. Однако, в определенных экологических условиях эти свойства могут оказаться очень важными и необходимыми для процветания или выживания особей. Такое вероятное преимущество полиплоидной клетки Барлоу назвал «эволюционной стратегией», считая, что не обязательно, чтобы полиплоид в настоящем обладал явным преимуществом над диплоидом (5). Зачастую, в постоянно изменяющихся условиях внешней среды полиплоидный уровень оказывается более совершенным и приемлемым (6,7).

Материал и методика

Изучение растений, имеющих большое многообразие генетических форм в естественных условиях и предрасположенных к индуцированной полиплоидии, таких как *Morus L* (шелковица), может внести ясность в понимание феномена полиплоидии. Предрасположенность к полиплоидизации шелковицы подтверждается тем, что в естественных условиях род *Morus L* отличается многообразием генетических форм, различающихся по хромосомному набору. В природе наряду с диплоидами ($2n = 28$), триплоидами ($2n = 42$), тетраплоидами ($2n = 56$), гексаплоидами ($2n = 84$), октоплоидами ($2n = 112$) существует 22 – плоидная, 308 хромосомная шелковица, занимающая рекордное место по числу хромосом среди цветковых растений (8).

В настоящей работе представлены результаты исследований, включающие полиплоидный ряд шелковицы. Растения условно разделялись на три группы: низкоплоидные $2n=2x=28$, $2n=3x=42$, $2n=4x=56$; среднеплоидные $2n=6x=48$, $2n=7x=98$, $2n=8x=112$, $2n=9x=126$; высокоплоидные $2n=12x=168$, $2n=13x=182$, $2n=14x=196$; $2n=15x=210$; $2n=17x=238$, $2n=22x=308$.

Содержание ДНК определялось по методу Nieman and Poulsen(9). Подсчет клеток проводился по методу Брауна в модификации Обручевой(10). Пересчет данных на одну хромосому производили путем деления показателей одной клетки на соответствующее число хромосом. При этом имеется ввиду, что основная масса ДНК клетки сосредоточена в ядре, и что погрешности, которые могут быть, благодаря игнорированию содержания ДНК в небольшом количестве в органеллах цитоплазмы клетки, являются общими для всех изученных форм шелковицы.

Результаты и обсуждение

Возникновению полиплоидии способствуют три фактора: способность к вегетативному размножению и большая продолжительность жизни, первичное видообразование, сопровождающееся хромосомными перестройками и

высокая частота естественной межвидовой гибридизации. Неравномерное распространение полиплоидии в растительном царстве объясняется отсутствием одного из основных факторов (11).

У рода *Morus L* имеются все три вышеуказанных фактора. В условиях естественного роста шелковица отличается долговечностью (300 лет). Шелковица прекрасно размножается вегетативным способом. Виды *Morus L*, отличающиеся различным уровнем пloidности, прекрасно скрещиваются между собой. Наличие в естественных условиях разнообразных по уровню пloidности видов и форм свидетельствует о высокой частоте генетических изменений в эволюции этого рода. Цитологические исследования различных видов рода *Morus L* показали, что эта культура относится к группе растений, отличающихся наличием очень мелких хромосом. Размер основной массы хромосом у видов *Morus L* колеблется в пределах 1,0 – 0,5 μ . По – видимому, именно эта особенность шелковицы является причиной образования у этого рода высокопloidных форм и видов. Согласно мнению *Darlington* между размером клеток, величиной хромосом и полиплоидией существует реципрокная зависимость.

В наших ранних исследованиях для определения уровня клеточной ДНК использовались низкопloidные и высокопloidные сорта и формы шелковицы. Было установлено, что содержание ДНК у низкопloidов возрастает кратно хромосомному набору. У высокопloidов такой закономерности не наблюдается. У 22-пloidа при одиннадцатикратном увеличении хромосомного набора содержание ДНК на клетку увеличивается в 5 раз (12-14). Отсутствие в этих исследованиях среднего звена полиплоидного ряда шелковицы не дало возможности конкретно установить с какого уровня пloidности происходит коррекция генетического материала, названная впоследствии «полиплоидным сбросом».

Исследование среднего звена, полиплоидного ряда шелковицы (6х-9х) позволило установить порог, с которого начинается элиминация генетического материала в процессе полиплоидизации у шелковицы. Нами подтвердилась закономерность кратного хромосомному набору увеличения содержания ДНК в клетках низкопloidов (табл. 1). Было установлено, что содержание ДНК на клетку у триплоида в 1,5 раза, у тетраплоида в 2 раза выше по сравнению с диплоидами. У гексаплоида при трехкратном увеличении набора хромосом содержание ДНК на клетку возрастает лишь в 2,4 раза по сравнению с диплоидом. Подобная закономерность, т.е. некрatное хромосомному набору увеличение содержания ДНК на клетку (2,5-2,8 раза) наблюдалась у остальных представителей среднего звена полиплоидного ряда шелковицы. В более значительной степени несоответствие пloidности содержания ДНК на клетку наблюдалось у высокопloidов шелковицы. Так, содержание ДНК на клетку у 12-пloidа против ожидаемого шестикратного увеличения повышалось лишь в 3,1, у 13-пloidа – 3,3, у 14-пloidа – 3,4 раза. Таким образом, увеличение числа хромосомного набора в 6-7 раз у 12-15 пloidа сопровождается повышением содержания ДНК на клетку в 3,1-3,7 раза. Более существенное различие между содержанием клеточной ДНК и набором хромосом наблюдалось у 17-пloidа (4,5 раза) и 22-пloidа (5,6 раза).

Основным выводом, вытекающим из наших работ, является закономерность кратного увеличения содержания ДНК на клетку до определенного уровня плоидности, в данном случае этот уровень, тетраплоидный. Начиная с гексаплоидного уровня, подобная закономерность нарушается. У высокоплоидов 6–8-кратное увеличение набора хромосом сопровождается лишь 3–4 кратным увеличением содержания ДНК на клетку. У 22-плоидной 308-хромосомной шелковицы при 11-кратном увеличении числа хромосом наблюдается 5-кратное увеличение содержания ДНК на клетку.

Таблица 1

Содержание ДНК в листьях полиплоидных сортов и форм шелковицы (*Morus L.*)

Варианты	Плоидность, x	Число хромосом	ДНК		
			$мг\%$	В одной клетке $г \cdot 10^{-12}$	На хромосому $г \cdot 10^{-14}$
Кинриу	2	28	12,41±0,3	0,564	2,0
Зариф-гут	2	28	11,75±0,4	0,547	1,95
Ханлар-гут	3	42	11,70±0,2	0,848	2,0
Тегеран-гут	4	56	14,78±0,6	1,089	1,95
Гибрид 4x x 8x	6	84	19,20±0,9	1,34	1,59
Гибрид 12x x 2x	7	98	10,76±0,5	1,33	1,36
Гибрид 12x x 4x	8	112	11,89±0,5	1,42	1,27
Гибрид 12x x 6x	9	126	11,79±0,3	1,54	1,22
Гибрид 22x x 2x	12	168	13,38±1,2	1,73	1,01
Гибрид 22x x 4x	13	182	14,53±0,8	1,83	1,01
Гибрид 22x x 6x	14	196	16,18±0,4	1,91	0,97
Гибрид 22x x 8x	15	210	17,78±0,3	2,07	0,99
Гибрид 22x x 12x	17	238	15,93±0,6	2,53	1,06
Хар-гут	22	308	16,78±0,5	3,18	1,03

Особый интерес представляют показатели ДНК на хромосому. Установлено, что содержание ДНК на хромосому у ди-, три- и тетраплоидов находится на одинаковом уровне, составляя $1,95-2,0 г \cdot 10^{-14}$. У гексаплоида содержание ДНК на хромосому снижается до $1,59 г \cdot 10^{-14}$, у 7-9 плоидных форм шелковицы колеблется в пределах $1,27-1,36 г \cdot 10^{-14}$. Двукратное снижение содержания ДНК на хромосому отмечается у всех высокоплоидов шелковицы (12x-22x).

Некратное изменение содержания ДНК после определенного уровня плоидности было отмечено рядом исследований. Уменьшение размера хромосом и содержания ДНК у различных видов в процессе полиплоидизации представляет теоретический интерес и показывает возможность использования высокохромосомных полиплоидов на практике. У различных семейств, располагающих полиплоидным рядом, также установлены факты размельчения хромосом с увеличением плоидности. У разных культур уровень плоидности, с которого начинается размельчение хромосом или снижение содержания ДНК, неодинаковый.

Другой стороной этого же вопроса является частая встречаемость полиплоидов у представителей семейств, имеющих мелкие хромосомы. По данным И.Абдуллаева, М.Джафарова (1965) и С.Раджабли (1966), размеры хро-

мосом у полиплоидов шелковицы начинают уменьшаться с гексаплоидного уровня. Крупные хромосомы И.Абдуллаевым и С.Раджабли обозначены как А - , средние В - и мелкие С - хромосомы (15,16).

Согласно полученным нами данным именно с гексаплоидного уровня плоидности отмечается несоответствие степени плоидности содержания ДНК на клетку.

Факт уменьшения количества ДНК на хромосому и клетку среднеплоидных и высокоплоидных форм шелковицы указывает на существование в клетке приспособительной коррекции, обеспечивающей уменьшение излишних количеств ДНК при сохранении большого числа хромосом. Этот механизм коррекции против избыточной генетической информации вступает в силу лишь в случае достижения клеткой соответствующего уровня полиплоидизации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Grant V. Plant specialiation. New York and London, 1971.
2. Stebbins G.L. Chromosomal evolution in higher plants, London, 1971, 216 p.
3. Wagner W.H. Sr. Biosystematics and evolutionary noise. – Taxon, 1970, v. 19, № 2, p. 55-87.
4. Оно С. Генетические механизмы прогрессивной эволюции. М.: Мир, 1973, 227 с.
5. Barlow P.W. Endopoliploidy: towards an understanding of its biological significance – Acta biother, 1978, v. 27, p. 1-18.
6. Акифьев А.П., Гришанин А.К. Некоторые биологические аспекты диминуции хроматина. Ж. Общей биологии, 1993, 54, №1, с.15-16.
7. Axundova E.M. Ekoloji genetika, Bakı, 2006, 263s.
8. Janaki Ammal Z.K. The origin of the black mulberry. S. of the Royal Horticultural Society, 1948, v. 73, № 4, p. 90-93.
9. Nieman R.H. and Poulsen L.L. Spectrophotometric estimation of nucleic acid of plant leaves. Plant Physiology, 1963, 38: p.31-55.
10. Обручева Н.В. Определение числа клеток методом Брауна.//Физиология растений. 1964, т.6, с.551.
11. Чуксанова Н.А. Полиплоидия и видообразование у растений. Теоретические и практические проблемы полиплоидии. М.: Наука, 1974, с. 64-80.
12. Axundova Э.М. Полиплоидия и ДНК. Баку, Элм, 1983, 107 с.
13. Axundova E.M., Kələntərova N.S., Nəcəyeva Ş.U., Əlizadə G.İ. Morus L. cinsində ploidlik səviyyəsinin artması ilə əlaqədar DNT fraksiyalarının dəyişməsi. Respublika Elmi Konfransının materialları. Bakı, 2007., s.94.
14. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Новосибирск; Изд-во Новосибирского ун-та, 2002, с. 284.
15. Абдуллаев И.К. Полиплоидный ряд в роде Morus L и некоторые вопросы формо- и видообразования ДАН Аз.ССР, т. XXI, № 11, 1965, с. 59-64.
16. Раджабли С.И. Цитологическое исследование шелковицы. В сб.: «Экспериментальная полиплоидия и селекция растений». Новосибирск, 1966, с. 216-234.

**MORUS L. CİNSİNİN POLİPLOİDLƏŞMƏSİ İLƏ
ƏLAQƏDAR GENETİK MATERİALIN ELİMİNASİYASI**

E.M.AXUNDOVA, N.S.KƏLƏNTƏROVA

XÜLASƏ

Morus L. cinsinin poliploid sırasına daxil olan bitkilərdə hüceyrə səviyyəsində DNT-nin miqdarı təyin olunmuşdur. Bitkilər şərti olaraq üç qrupa bölünmüşdür: aşağı ploidli $2n = 2x - 4x$; orta ploidli $2n = 6x - 9x$ və yüksək ploidli $2n = 12x - 22x$. Müəyyən olunmuşdur ki, aşağı ploidlik səviyyəsində DNT-nin bir hüceyrədə miqdarı ploidlik dərəcəsinə münasib olaraq artır. Orta ploidli bitkilərdə həmin asılılıq müşahidə olunmur, yəni $6x - 9x$ ploidlərdə DNT-nin bir hüceyrədə miqdarı 3 - 4,5 əvəzində yalnız 2,4 - 2, 8 dəfə artır.

Yüksək ploidli bitkilərdə isə həmin uyğunsuzluq daha kəskin dərəcədə təzahür edir. 22 - ploidli, 308 - xromosomlu bitkilərin hüceyrələrində DNT-nin miqdarı nəzəri gözlənilən 11 dəfəyə qarşı yalnız 5 dəfə artmış olur.

Aparılan tədqiqat işində ilk dəfə olaraq genetik materialın eliminasiyasının hansı poliploidlik səviyyəsindən başlanması dəqiqləşdirilib.

**ELIMINATION GENETIC MATERIAL
OF PROSESS POLIPLOIDIZATION THE GENUS MORUS L.**

E.M.AKHUNDOVA, N.S.KALANTAROVA

SUMMARY

We aimed at tracing the variations of the DNA content in mulberry poliploid forms with different chromosome sets. Both the extreme forms of 28 and 308 chromosomes (22x) and triploid (3x) and tetraploid (4x) forms which are intermediate chromosome number (6x-17x) were two times. chosen as the object of investigations.

In the cells of triploid and tetraploid forms of mulberry a normal 1,5-or 2 fold increase of DNA content per cell is observed.

In the cell of middleploid and hyperploid forms with 308 chromosomes ($2n=308$) the chromosome number increases 11 times as much as diploid ($2n=28$).

Meanwhile of DNA content per cell increases only 5-fold so that its content per chromosome reduced.