

Кариологический анализ *Stevia rebaudiana* Bertoni (сем. Asteraceae)

Хроленко Ю.А.¹, Горпенченко Т.Ю.¹, Яцунская М.С.¹,
Ромашова М.В.², Барсукова Е.Н.²

1 – ФГБУН Биолого-почвенный институт ДВО РАН,
2 – ГНУ Приморский НИИСХ Россельхозакадемии

Владивосток 2014.

- *Stevia rebaudiana* Bertoni – двулистник сладкий многолетнее растение из сем. Asteraceae. Этот вид является эндемиком плоскогорий Северо-восточного Парагвая.
- Интерес к новому для Приморского края растению, несомненно, связан с наличием в нем соединений, обуславливающих сладкий вкус. Эти соединения в 50-400 раз слаще сахарозы, очень низкокалорийные и применяются при профилактике диабета и ожирения (Chang et al., 1997; Chang, Cook, 1983).



- Сложность промышленного производства стевии в Приморье, как и в других регионах России, заключается в том, что корни растений погибают при температуре 0..-2°C, поэтому на зиму ее необходимо выкапывать и переносить в теплицы и каждый год закладывать плантации рассадным способом (Живчикова Р.И., 2003).

4

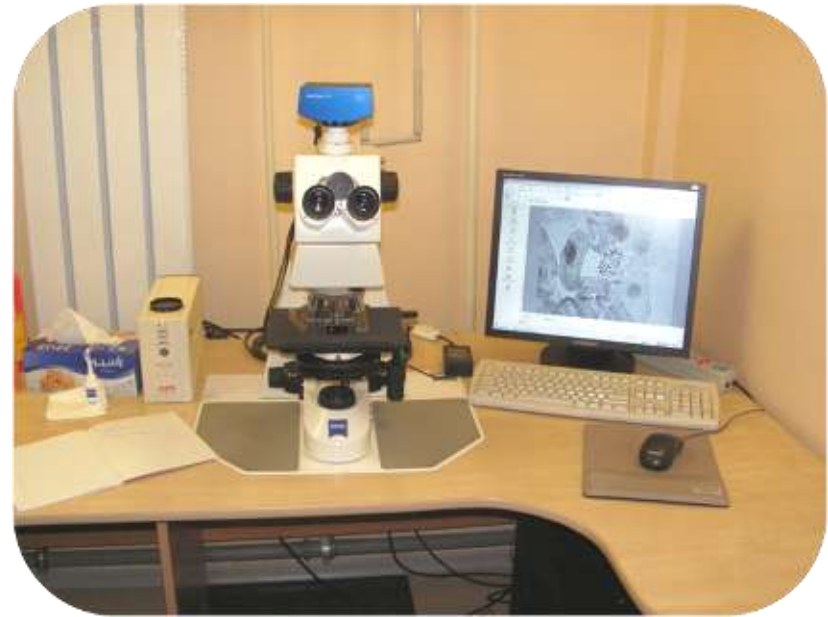


- Интродукцию растений влажных субтропиков в климатические условия Приморья можно рассматривать как адаптацию к крайне суровым условиям. Зачастую такие адаптации сопровождаются структурными перестройками кариотипа. В настоящей работе приведены результаты кариологических исследований стевии в связи с ее введением в культуру.

6

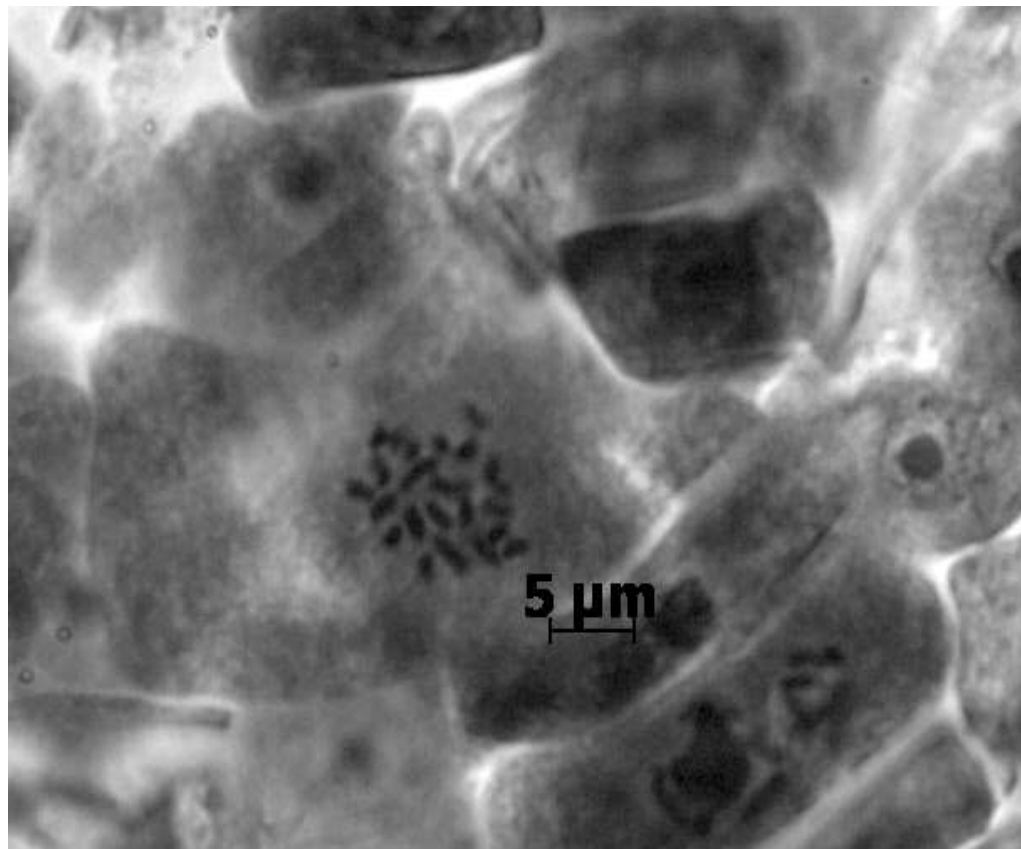
Материалы и методы

Цитологический анализ проводился на клетках апикальной меристемы придаточных корешков, полученных на микрорастениях стевии, выращенных *in vitro*. Для цитологии использовались стандартные методики, модифицированные применительно к данному объекту (Смирнов, 1968; Муратова, 1995). Для получения максимального числа делящихся клеток корешки микрорастений обрабатывали 0.2% раствором колхицина в течение 2 ч. В качестве фиксатора использовали уксуснокислый спирт (1:3). Перед окрашиванием материал протравливали 4% железоммонийными квасцами. В ацетогематоксилине материал выдерживали в течение 6–12 ч при комнатной температуре. Готовые препараты фотографировали в масляной иммерсионной системе под микроскопом Axioskop-40 с помощью встроенной видеокамеры AxioCam HRc (Zeiss, Germany).



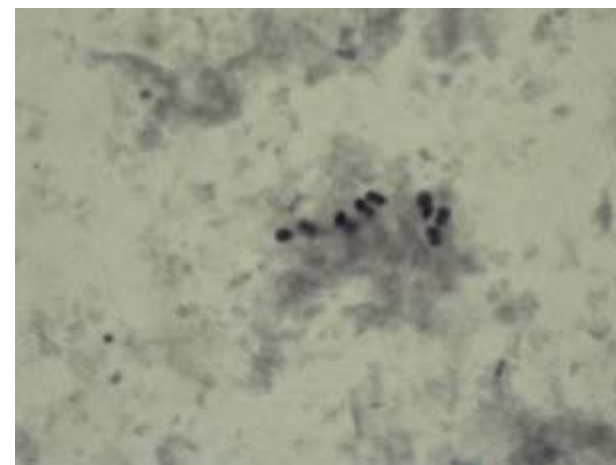
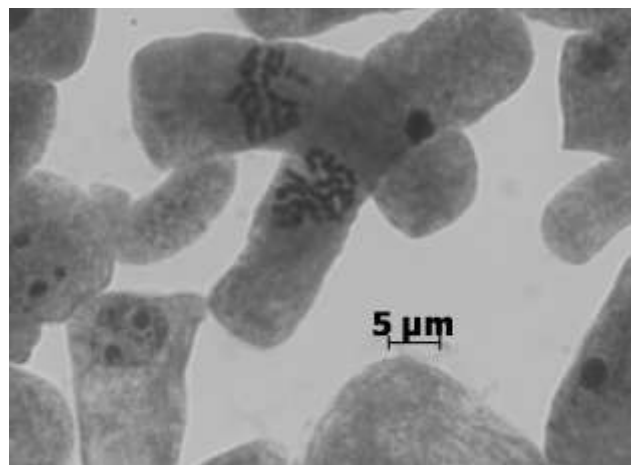
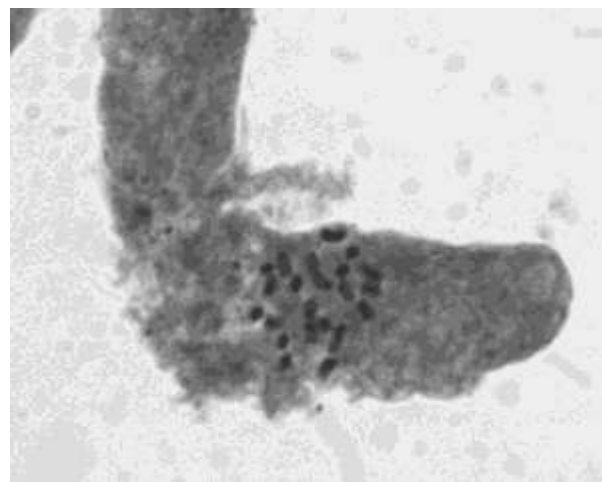
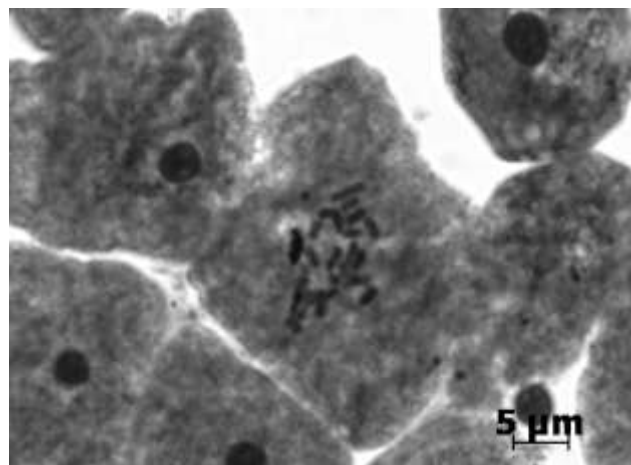
- При исследовании кариотипа стевии установлено следующее число хромосом $2n=22$. Пределы изменчивости по числу хромосом от 9 до 33, модальное число хромосом 22. Наблюдается миксо- и анеуплоидия. Полученные результаты позволяют сделать заключение, что стевия является диплоидом с основным числом $x=11$. Наше определение соответствует установленному ранее числу хромосом для стевии (Frederico et al., 1996; Oliveira et al., 2004; <http://www.tropicos.org/Project/IPCN>).

Кариотип *Stevia*
rebaudiana Bertoni
($2n=22$).



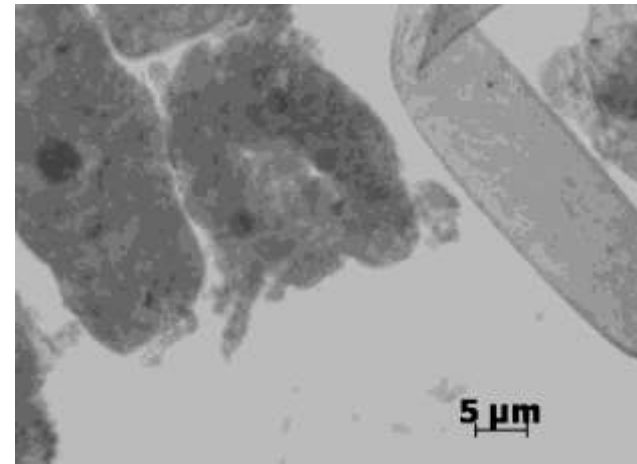
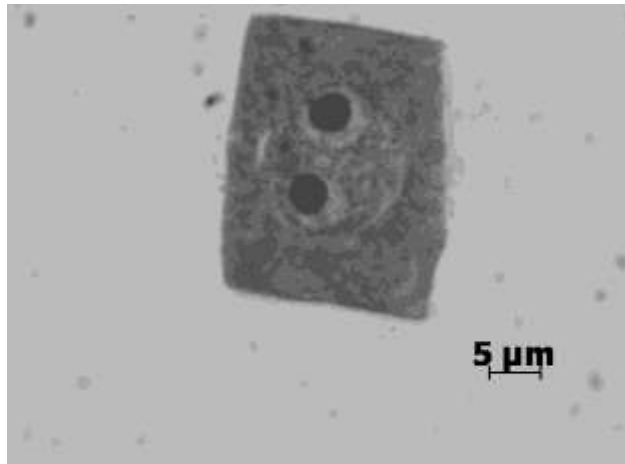
9

Клетки апикальной меристемы корешков с разным набором числа хромосом

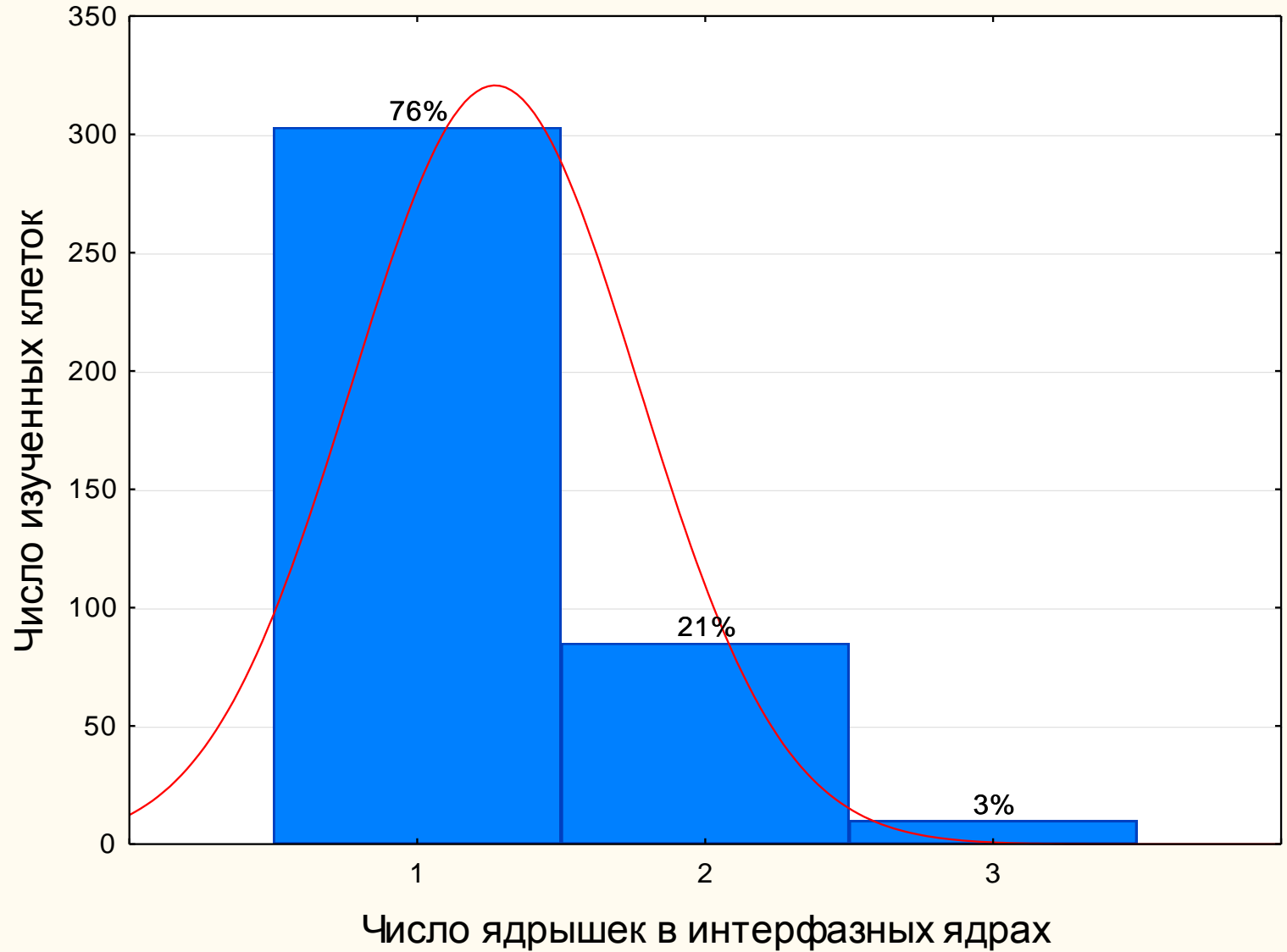


- Изучение кариотипов мелкохромосомных видов растений имеет свои особенности и сложности, для них разрабатываются специальные методические приемы [Муравенко, 2005]. Измерение таких хромосом не может проводиться с достоверной точностью, так как разрешающая способность светового микроскопа составляет 0.5 мкм [Гриф, 1992].
- В работе использовалась современная цифровая система регистрации изображений метафазных пластинок. Цифровые фотоснимки позволяют детализировать изображение путем увеличения его масштаба. При проведении кариологического анализа были использованы митотические хромосомы на стадии поздней профазы; в это время они находятся в состоянии неполной конденсации и их длина больше, чем на стадии метафазы. Установлено, что среди хромосом двулистика сладкого есть двуплечие и с неопределенным положением центромеры.
-

Различное число ядрышек в интерфазных ядрах стевии.

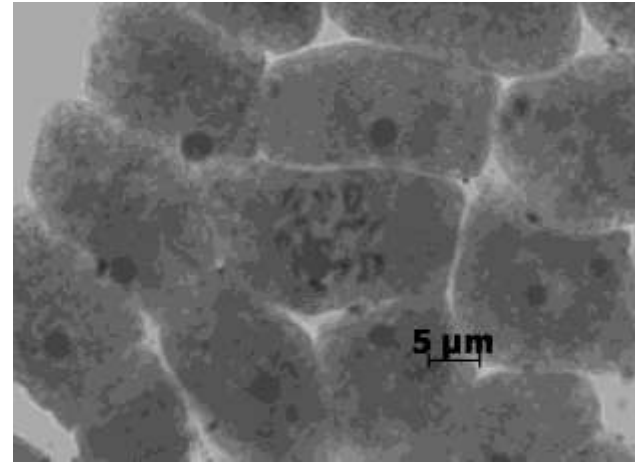
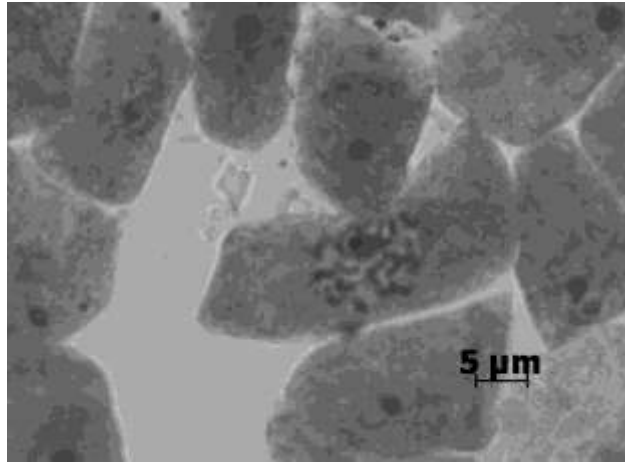


Проведено изучение ядрышек в интерфазных ядрах (для стевии изучено 398 ядер), выявлено, что их число варьирует от 1 до 3. Среднее количество ядрышек составляет 1.264 ± 0.025 . Наиболее часто встречаются интерфазные ядра с 1 и 2 ядрышками (76% и 21% соответственно), значительно реже встречаются ядра с 3 ядрышками (3%).



13

Связь ядрышек с районами вторичных перетяжек хромосом



- Формирование ядрышек обусловлено активностью определенных локусов хромосом – ядрышковых организаторов, расположенных чаще всего в районах вторичных перетяжек хромосом, где находятся гены, контролирующие синтез рРНК и образование рибосом – пусковых механизмов синтеза белка (Кикнадзе, 1972). По числу ядрышек, образующихся в телофазе митоза, можно судить о количестве нуклеолярных хромосом. По максимальному числу ядрышек в интерфазных ядрах можно определить количество ядрышкообразующих хромосом. Интерфазные ядра стевии содержат от 1 до 3 ядрышек, что позволяет предположить наличие 1-2 пары нуклеолярных хромосом.

Заключение

- Из литературы известно, что у отдельных видов растений на границах ареалов и в интродукции закрепляются высокоплоидные цитотипы как наиболее адаптированные к суровым условиям (Малахова и др., 2008; Екимова и др., 2009; Екимова и др., 2011). Однако, несмотря на наблюдаемую анеуплоидию стевия адаптируется к новой экологической нише на постоянной хромосомной основе в пределах генотипической нормы реакции.
- *Stevia rebaudiana* содержит 22 хромосомы и является диплоидом ($2n=22$) с основным числом $x=11$. Хромосомы изученного вида мелкие, по морфологии двуплечие, но есть хромосомы с неопределенным положением центромеры. Интерфазные ядра содержат от 1 до 3 ядрышек, что позволяет предположить, что в кариотипе стевии содержится 1-2 пары нуклеолярных хромосом.

Спасибо за внимание.