

**Грузинский институт садоводства, виноградарства
и виноделия**

Л. К. Вашакидзе

**Цитологические характеристики грузинских
генотипов винограда**

Культурные сорта винограда (*vitis vinifera* ssp. *sativa* D.C.) гетерогенны, характеризуются сильным полиморфизмом; некоторые ценные хозяйственные и селекционные признаки под влиянием окружающей среды подвергаются сильным модификационным изменениям, из-за чего их прогнозирование в поколениях только по внешним фенотипическим признакам осложнено.

Исходя из вышесказанного, по дескрипторам, составленным Международным институтом генетических ресурсов растений (IPGRI) для 80 сельскохозяйственных культур и, среди них - для винограда, при получении полноценной информации о сорте, обязательным условием является исследование растений комплексно, по морфологическим, цитологическим и молекулярным маркерам.

Объект исследования – допущены к распространению согласно закону Грузии о винограде и вине, 25 аборигенных, 8 диких и один одичавший сорт и форма винограда, 5 высокоурожайных клонов и 3 гибридных сорта, выведенных научной селекцией.

Методика исследований – в генетике [Дубинин, Щербаков, 1965; Немцева, 1970] в цитологии [Прозина, 1987; Паушева, 1988; Автандилов, 1990] и современные дескрипторы виноградной лозы (*Vitis* ssp., 1997).

Изучались: критерии клетки меристемы – параметры (длина, ширина, диаметр ядра), морфология хромосом, число хромосом, ploидность; активность клеточного деления, цитогенетика митоза и мейоза, частота аберрантных клеток и спектр аберраций и др.

Полученные данные обрабатывались методами математической статистики [Лакин, 1990 и др.], кластерный анализ проводился с использованием SPSS^R статистического программного пакета по методу Бююля и Цефеля [2002].

Результаты и их обсуждение

Критерии клеток. Меристематические ткани корней грузинских генотипов винограда характеризуются маленькими клетками различной величины; длина 16.1 ± 0.3 – 19.7 ± 0.3 мкм, ширина – 11.6 ± 0.3 – 15.0 ± 0.2 мкм и диаметр ядра 4.2 ± 0.1 – 6.0 ± 0.1 мкм.

Максимальными показателями характеризуются длина клетки сорта Муджуретули (19.7 мкм); ширина сорта Цицка (15.0 мкм), диаметр ядра – Горули мцване и Цулукидзис тетра (5.9-6.0 мкм); а минимальными показателями - длина (16.1 мкм) и ширина (10.0 мкм) сорт Тавквери; диаметр ядра Оджалеши (4.2 мкм), остальные сорта занимают промежуточное место между ними. (Рис.1)

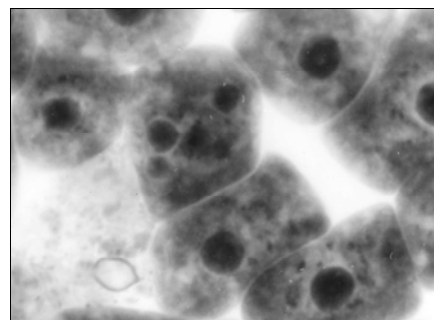
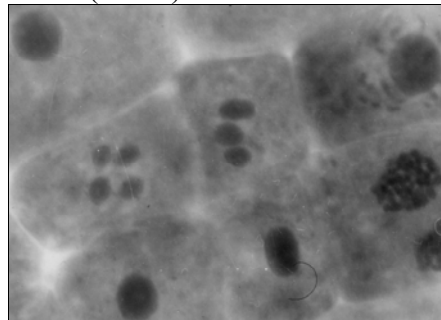


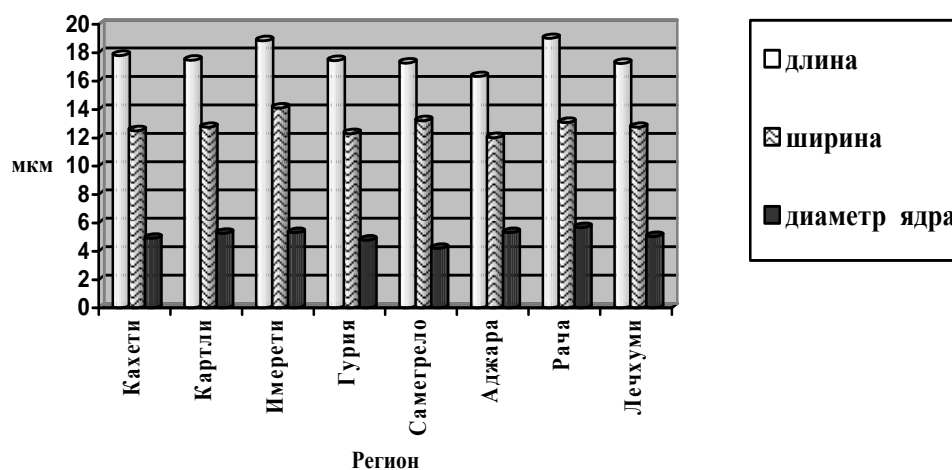
Рис. 1
Меристематические клетки сортов винограда Горули мцване и Тавквери

Данные показатели по коэффициенту вариации – мало изменяющиеся признаки, имеют ампелографическую ценность и могут быть использованы маркерами при идентификации сорта.

Существующая между критериями клеток разница наблюдается и по регионам. Максимальные параметры – длина (19.7) мкм, ширина (14.1 мкм) и диаметр ядра (5.7 мкм) характерны для сортов винограда регионов Рача и Имеретии, а минимальные – для сортов Аджарского региона, сорта остальных регионов занимают промежуточное положение между ними (диаграмма 1).

Диаграмма 1

Параметры клеток грузинских генотипов винограда по регионам



Плоидность. Существующими исследованиями хромосомное число вида, сорта и форм постоянно и оно остается неизменным в онтогенезе и филогенезе [Топалэ, 1983 Sundarson. Ray, Seethaih, 1973; Hazra, Sharma, 1970; и др.].

В результате кариологического изучения районированных аборигенных, культурных, а также полученных научной селекцией гибридных сортов винограда, клонов, некоторых диких и одичавших сортов и форм, установлено, что хромосомный комплекс их клеток диплоиден ($2n=38$), хотя выделенные среди них селекционерами: В.Гоциридзе, В.Лоладзе, Ц.Эсакия крупноягодные формы сортов Ркацители, Саперави, Цоликоури, клона сорта Горула – тетраплоидны, триплоидны и диплоидно-тетраплоидные.(Рис.2).

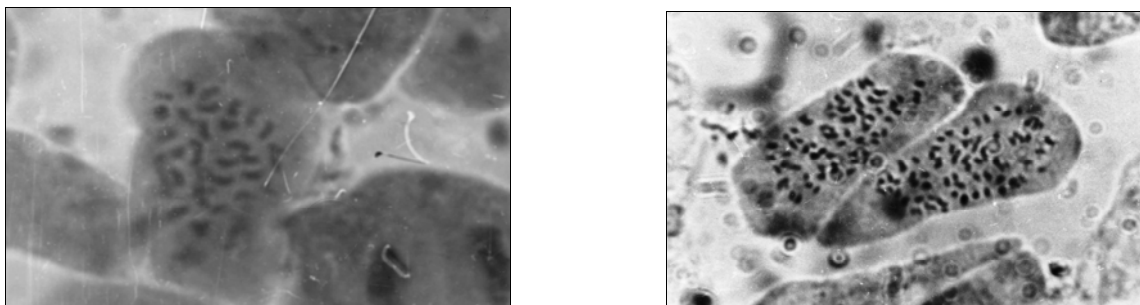


Рис. 2
Метафазная пластинка сорта винограда Цоликоури
($2n=38$) и его клона ($2n=4x=76$)

Митоз. Высокая активность деления клеток, в соответствии с общим состоянием организма, показатель сильного роста. Как свидетельствуют микроскопические исследования, в меристематических клетках грузинских генотипов винограда процесс митоза протекает нормально и характеризуется более высокой активностью. Их митотических индексов колеблется в пределах от 4.8 ± 0.2 до $8.6 \pm 0.3\%$, что указывает на высокий потенциал роста грузинских сортов (табл. 1).

Таблица 1

Активность деления клеток грузинских генотипов винограда

Сорт	Количество просмотренных клеток N	Количество клеток находящихся в делении					
		профаза	метафаза	анафаза	телофаза	Всего	
						n	%
Ркацители	4880	46	138	102	73	379	7.8±0.4
Саперави	5809	50	117	103	85	355	6.1±0.3
Горули мцване	4332	31	32	101	9	173	5.7±0.4
Горула	4233	35	73	87	25	220	5.1±0.3
Будешури цители	4007	31	51	77	43	202	5.0±0.3
Чинури	4143	15	90	93	16	214	5.2±0.3
Цицка	4160	25	76	40	60	201	4.8±0.3
Цоликоури	5900	55	172	75	63	365	6.2±0.3
Крахуна	4187	37	75	63	19	204	4.9±0.3
Оцханури сапере	4192	47	88	75	17	227	5.4±0.3
Александроули	4177	21	120	122	50	323	7.7±0.4
Муджуретули	4214	25	125	103	54	307	7.3±0.4
Цулукидзис тетра	4055	17	43	97	55	212	5.2±0.3
Усахелоури	4130	19	115	89	18	241	4.8±0.3
Кахури мцване	4733	45	129	107	87	368	7.8±0.4
Асуретули шави	5407	53	137	109	81	380	7.0±0.3
Тавквери	5578	29	22	26	35	485	8.6±0.3
Киси	4521	14	112	133	94	353	7.8±0.4

Цитогенетика. Ускоренное развитие цивилизации поставило человечество перед существенной проблемой – опасностью загрязнения окружающей среды как в глобальном, так и в региональных масштабах, что является мощным экологическим фактором и может воздействовать на генетическую программу всего живого, изменить, усилить мутационные процессы.

В связи с отмеченным, с целью предотвращения загрязнения отрицательными мутационными формами генофонда, необходимо учредить мониторинг за его цитогенетикой; т.к. в нем (генофонде) резко выражена склонность к соматическим, почковым мутациям, которые часто носят отрицательный характер и, в результате вегетативного размножения, могут быть распространены в новых насаждениях.

В результате микроскопических исследований грузинских промышленных сортов винограда и некоторых высокоурожайных клонов выявилось, что в геноме клеток меристематических тканей грузинских генотипов, исключая единичные случаи, изменения не индуцируются. Хромосомный комплекс в основном диплоидный $2n=38$. Изменения зафиксированы только в клетках клона сорта Горула, где рядом с диплоидными, наблюдалось существование тетраплоидных клеток ($2n=4x=76$), число которых составляет $12.0\pm 2.5\%$.

Что касается изменений в структуре хромосом, оно различается по сортам и регионам. Частота анафазных аберрантных клеток по отдельным сортам колеблется в среднем от $0.3\pm 0.02\%$ до $2.3\pm 0.9\%$. Самый низкий показатель ($0.3\pm 0.02\%$) характерен для сорта Усахелоури, а высокий ($2.3\pm 0.9\%$) - для Горули мцване. По регионам показатель достигает $0.7-1.5\%$. Низкий характерен для Рача-Лечхуми, а сравнительно высокий (1.5%) для сортов винограда Картлийской виноградной зоны (Табл.2).

Изменения в хромосомной структуре в основном возникают как в пресинтетической (G_1), так и постсинтетической (G_2) стадии (Рис.2), находятся в пределах допустимой нормы и не могут оказать никакого влияния на жизненный цикл растения.

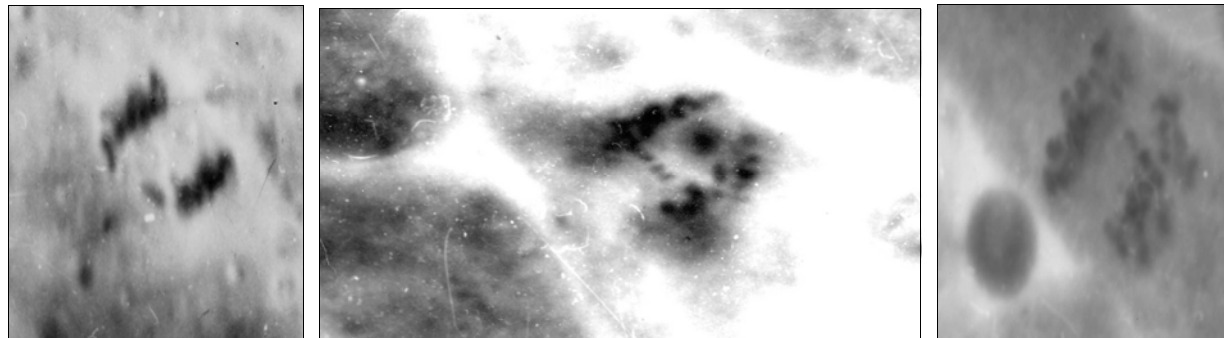


Рис. 2 Спектр хромосомных aberrаций в процессе митоза

Изменения фиксируются и в процессе мейотического деления клона Горула №21. в I и II анафазах микроспорогенеза отмечается нарушений по сравнению с контролем; нарушения представленные в виде единичных и двойных хромосомных мостов и фрагментов; асимметричными, трехполюсными анафазами, неравномерным распределением хромосом; повышено число измененных диад (Рис.3), что отражается и на качестве оплодотворяемости пыльцевых зерен, которая у клона, по сравнению с сортом (86.4%), относительно ниже и составляет 70.2%.

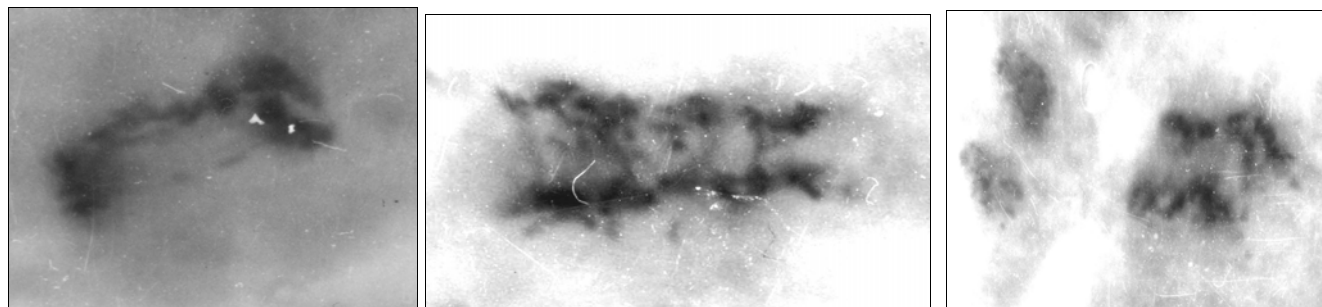


Рис. 3 Спектр хромосомных aberrаций в процессе мейоза

Таблица 2

**Частота и спектр хромосомных aberrаций в меристематических
клетках грузинских генотипов винограда**

Сорта	Количество просмотренных корней	Количество просмотренных анафаз	Изменённых анафаз		Мосты (%)				Фрагменты (%)		слепшие хромосомы (%)	отстальные хромосомы (%)	асимметричные хромосомы (%)
			n	P±Sp (%)	I	II	-	=	-	-			
Ркацители	20	524	3	0.6±0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	100
Саперави	“	293	6	2.0±0.8	-	-	-	-	33	-	-	-	67
Тавквери	“	396	5	1.3±0.6	50	-	-	10	20	-	20	-	-
Чинури	“	649	8	1.2±4.3	25	25	-	-	25	-	-	-	25
Горула	“	818	11	1.4±1.1	36	-	-	-	18	-	-	18	27
Горули мцване	“	302	7	2.3±0.9	43	-	-	-	14	-	-	-	43
Цицка	“	524	6	1.1±0.5	33	-	-	-	17	-	-	-	50
Цоликоури	“	599	8	1.3±0.5	25	-	-	-	-	-	-	-	75
Крахуна	“	402	3	0.7±0.4	25	-	-	-	50	-	-	-	25
Оцханури сапере	“	798	3	0.4±0.2	25	-	-	-	-	-	-	-	75
Александроули	“	706	4	0.6±0.3	25	-	-	-	25	-	-	25	25
Муджуретули	“	792	5	0.6±0.3	40	-	-	-	-	-	20	-	40
Цулкидзис тетра	“	769	9	1.6±0.4	22	-	-	-	33	-	-	22	22
Усахелоури	“	637	2	0.3±0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	100
Чхавери	“	732	10	1.4±0.4	50	-	-	-	20	-	10	-	20
Сацурави	“	315	4	1.3±0.1	50	25	25	-	-	-	-	-	-

Ядрышко с генетической точки зрения связано с хромосомами, выполняет значительную роль в процессе деления, с его помощью происходит синтез рибосомных субъединиц и рибосомных РНК и построение белков-гистонов. Ядрышко подвергается

циклическим изменениям. В некоторых растениях исчезает в конце профазы или в начале метафазы, а что касается винограда, согласно исследователям [Араратян, 1942] и моим экспериментальным данным [Вашакидзе, 2006], здесь имеет место его необычное поведение. В 20-30% метафаз ядрышко обесцвечивается, уменьшается в размерах, принимает форму лабильной капли, не разрушается и в такой форме переходит в анафазу.

В результате анализа материалов исследования стабильности и изменчивости фенотипических признаков грузинских генотипов винограда, проведенных на клеточном и организменном уровнях, сделаны следующие выводы:

- критерии меристематической клетки: длина 16.3-19.7 мкм, ширина 10.0-14.1 мкм, диаметр ядра 4.2-6.0 мкм, ядерно-плазменный коэффициент 0.065-0.133. Доля места происхождения сорта (с точностью $p < 0.01$), на изменчивость длины 16.5%, ширины _ 17.43% и диаметра ядра _ 38.87%;

– число хромосом, как для диких и одичавших, так и культурных, а также полученных научной селекцией сортов и форм, в основном диплоидно – $2n=38$, хотя среди них выделяются клоны Цоликоури, Саперави, Ркацители и Горула с тетра- и триплоидным, диплоидно-тетраплоидным строением;

– активность деления клеток $4.8 \pm 0.2 - 8.6 \pm 0.3\%$; количество aberrантных клеток в пределах нормы; различается по сортам в пределах $0.3 \pm 0.02\% - 2.3 \pm 0.9\%$ и представлено как в пресинтетический, так и постсинтетической стадии.

Критерии меристематической клетки согласно коэффициенту изменчивости, почти для всех сортов, являются признаками большого постоянства и малоизменчивости ($10\% > C_v < 20\%$), имеют ампелографической и селекционной ценности и можно успешно использовать при моделирования тест-систему для идентификации сортов как теоретической, так и практической точки зрения.

Литература:

1. Автандилов Г. Г. - Медицинская морфометрия. Москва, 1990, стр. 248-267.
2. Араратян. Г. – О кариотипе и ненормальностях митоза у винограда// Докл. АН СССР, 1942, том XXXIV, №6.
3. Дубинин Н. П., Щербаков В. К. – Взаимодействие естественных химических мутагенов. // ДАН СССР, 160. 1.стр. 128. Москва, 1965.
4. Топале Ш. Г.-Цитологические исследования сортового фонда винограда.-В кн.; Научно-технический прогресс в виноградарстве и виноделию Кишинев, 1980.
5. Паушева З. П. – Практикум по цитологии растений. Москва, 1988.
6. Sudharsan, Raj A.,Seethaiah L.-Cytological studies in grape (*Vitis vinifera* L.)- Cytologia,1973,38,4.
7. Hazra R., Sharma A. - Chromosomes of some Indian Vitaceae-Folia Biological, 1970, 18, 2.
8. Немцева Л.С.- Метафазный метод учета перестроек хромосом. Москва. 1970.
9. Лакин Г.Ф.-Биометрия.4-е изд.. Москва.1990.
10. Вашакидзе Л.К.-Научные основы идентификации грузинских сортов винограда и оптимизации некоторых фитотехнических мероприятий.//Автореф.докт.диссертации. Тбилиси,2006..

Цитологические характеристики грузинских генотипов винограда

Л.К. Вашакидзе
Институт садоводства, виноградарства и виноделия.
Пр-т Маршал Геловани 6. 0159, Тбилиси. Грузия.

Резюме

В статье приводятся результаты изучения: критериев клетки меристемы – параметры (длина, ширина, диаметр ядра), морфология хромосом, число хромосом, плоидность; активность клеточного деления, цитогенетика митоза и мейоза, частота абберантных клеток и спектр аббераций и др. их стабильность и изменчивость.

По коэффициенту изменчивости количественных признаков выявлены ампелографические и селекционно - ценные признаки - большого постоянства и малоизменчивости ($10\% < C_v < 20\%$); для идентификации сорта выделены цитологические маркеры.

Cell parameters of Georgian grapevine genotypes

L. Vashakidze

Institute of Horticulture, Viticulture and Oenology.
6 Marshal Gelovani Ave. 0159. Tbilisi. Georgia.

S U M M A R Y

Cell criteria like parameters, karyometry, morphology of chromosomes and their number, ploidy, activities of mitosis, chromosomal mechanism of heredity – cytogenetics, number of cell aberrations, specter and others have been investigated in indigenous varieties and their genetic biodiversity, hybrid varieties, wild and wildy growing forms of grapevine.

According to the coefficient of stability and variability the ampelographic and breeding characters were selected and the suitable markers for identification varieties were distinguished.