

## ИТОГИ ИЗУЧЕНИЯ МЕЖВИДОВЫХ ГИБРИДОВ В РОДЕ *NERETA* L. В НИКИТСКОМ БОТАНИЧЕСКОМ САДУ

Ю.В. АКСЁНОВ, кандидат биологических наук  
Никитский ботанический сад – Национальный научный центр

### Введение

Отличительной чертой растений рода *Nepeta* L., входящего в состав семейства яснотковые (Lamiaceae), является их эфиромасличность. Наличие эфирного масла в различных органах растения позволяет считать некоторые виды котовника перспективными для введения в культуру и использовать их для получения натурального эфирного масла, пряно-ароматического и лекарственного сырья. Изучение природного разнообразия котовников как источника для получения оригинального эфирного масла показывает, что далеко не все виды могут быть использованы в хозяйственной деятельности человека. Возделываемые виды котовника не вполне отвечают требованиям производства (плантации *N. cataria* L. эффективно эксплуатируются в течение 2-4 лет и требуют замены в связи со значительным выпадением растений, а *N. transcaucasica* Grossch, имея низкорослые кусты с плагиотропными ветвями, очень плохо поддается механизированной уборке). Поиски природных видов, которые смогли бы составить достойную конкуренцию культивируемым видам, не дали положительного результата. Значительных успехов удалось достичь при использовании метода отдаленной гибридизации [4, 5]. Плодотворная работа в этом направлении проделана Симферопольским ВНИИЭМК. Особое внимание было уделено подбору исходного материала для скрещивания [12]. При скрещивании *N. transcaucasica* (материнская форма) и *N. grandiflora* Vieb. (отцовская форма) были получены гибриды, отвечающие требованиям механизированной уборки сырья, устойчивые к условиям среды, с высоким содержанием эфирного масла и хорошим его качеством. Методом индивидуального отбора был выделен сортообразец, давший начало сорту Юбилей Вавилова [11]. В Никитском ботаническом саду работа с гибридными котовниками была продолжена [8]. Известно, что при направленном скрещивании возникает новая генотипическая изменчивость, которая широко используется в селекции растений. Однако потенциал генотипической изменчивости возрастает еще больше, если взаимодействие генов происходит на разных уровнях пloidности [6]. Соединение методов направленной межвидовой гибридизации и экспериментальной полиплоидии позволяет качественно по-новому подходить к вопросу синтеза новых гибридных форм котовника.

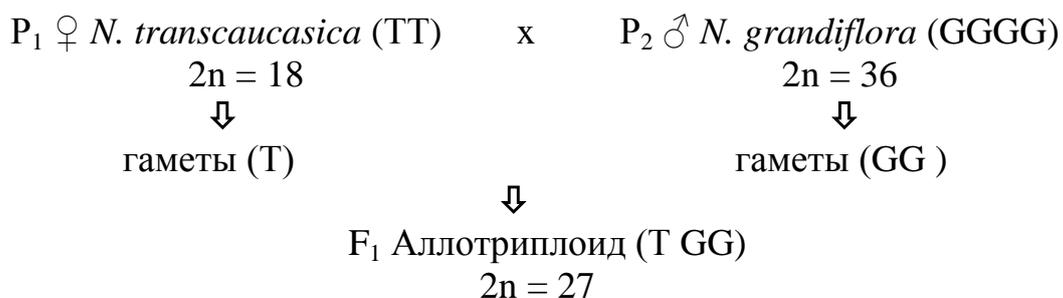
### Объекты и методы исследования

Материалом для исследования послужили растения трех видов рода *Nepeta*: *N. transcaucasica*, *N. grandiflora*, *N. cataria*, а также гибридные формы котовников. Полиплоиды получали действием водного раствора колхицина (0,1% с экспозицией 24 часа) на проростки семян (224 шт.) от поликросса растений сорта Юбилей Вавилова. Межвидовую гибридизацию проводили по общепринятым методикам, а также по методике, разработанной в отделе новых ароматических и лекарственных растений НБС–ННЦ [9, 14]. Эфирное масло получали из надземной части растений в фазе массового цветения. Массовую долю эфирного масла определяли методом гидродистилляции на аппаратах Гинзберга [7]. Изучение особенностей мужской генеративной сферы проводили согласно методикам и указаниям, изложенным в работах Эрдтмана [15]. Компонентный состав эфирного масла определяли методом газожидкостной хроматографии на приборе Хром-41. Определение числа хромосом проводили на временных препаратах. Листочки фиксировали в смеси спирта и ледяной уксусной кислоты (3:1) и выдерживали от 4 часов до суток. Препарат окрашивали ацетокармином и несколько раз подогревали в пламени спиртовки. Затем промывали 45%-ным раствором уксусной кислоты и помещали в смесь Гойера.

### Результаты и обсуждение

Исходным материалом для дальнейших исследований послужил сорт Юбилей Вавилова. Он же стал критерием оценивания для анализа всех последующих гибридов (контролем).

Рассмотрим механизм образования гибридных форм. Известно, что растения *N. transcaucasica* (котовник закавказский) имеют соматический набор хромосом, равный 18 и являются природным диплоидом, а вот *N. grandiflora* (котовник крупноцветковый) в диплоидном наборе имеет 36 хромосом (природный аутететраплоид) [13]. При их скрещивании образуются 9-хромосомные гаметы котовника закавказского (Т) и сбалансированные 18-хромосомные гаметы котовника крупноцветкового (GG) (рис. 1).



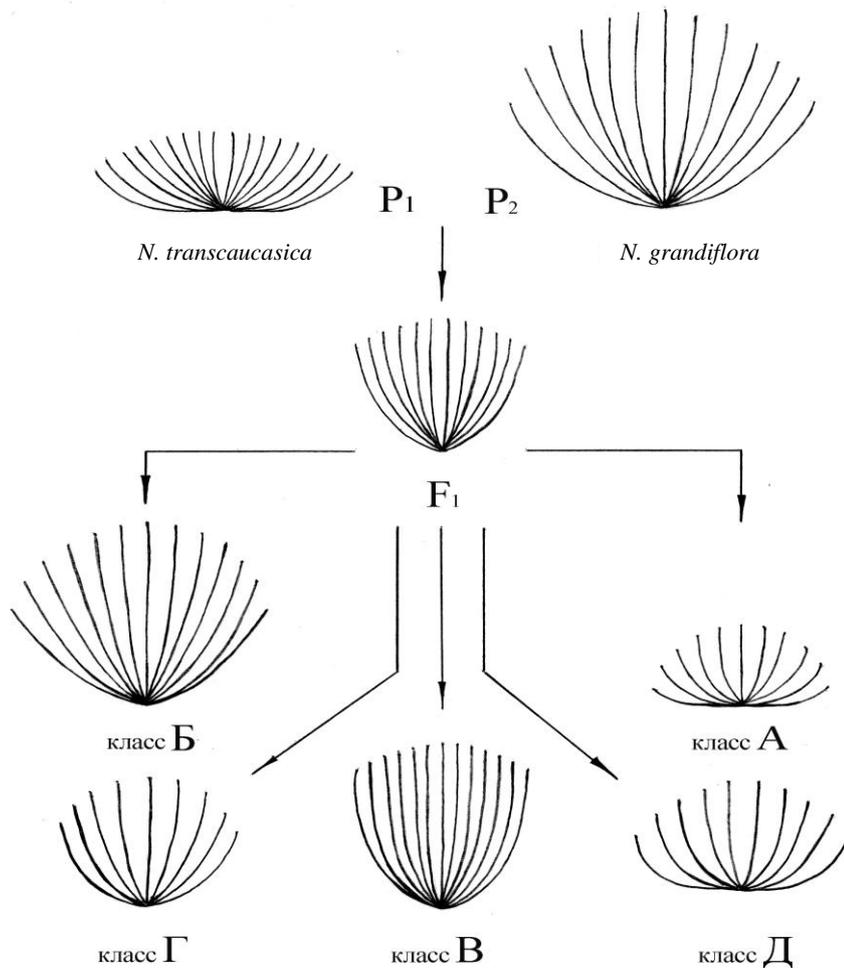
**Рис. 1. Схема получения первого поколения котовника гибридного**

У полученного гибрида (речь идет о растениях гибридного сорта Юбилей Вавилова) проявление основных морфологических признаков носит промежуточный характер. Взрослые растения имеют мощные ортотропные побеги (признак, унаследованный от *N. grandiflora*), достаточно высокое содержание эфирного масла и хорошее его качество (признаки *N. transcaucasica*). Одним из главных недостатков аллотриплоида является его частичная фертильность. Растения очень плохо завязывают семена и полноценные семена можно собрать с особей в возрасте 4-5 лет.

Семена, полученные от поликросса котовника гибридного, подверглись действию искусственного мутагенеза (замачивание в водном растворе колхицина концентрацией 0,05% с экспозицией 24 часа) с целью получения полиплоидных форм. В результате эксперимента было выделено 15 новых гибридных форм, которые подверглись дальнейшему изучению. По комплексу морфологических признаков все они заметно отличались от родительской формы.

Процессы расщепления во втором гибридном поколении по признаку «габитус взрослого растения» демонстрирует приведенная ниже схема (рис. 2).

Полученное гибридное потомство мы сгруппировали в 5 классов, в соответствии со степенью сходства по ряду морфологических признаков. Класс «А» (формы № 2 и № 13) фенотипически близок к виду *N. transcaucasica*, но в то же время отличается от него по ряду признаков (особенности строения стебля, листовой пластинки, характер опушения). Класс «Б» – (формы №№ 7, 11, 15) по габитусу сходные с *N. grandiflora*. Класс «В» объединил формы №№ 9, 10, 12, 14, близкие к растениям сорта Юбилей Вавилова по форме куста. Такой тип куста можно характеризовать как «компактный». В тоже время гибриды №№ 1, 3, 6 (класс «Г») имеют более рыхлый куст, который можно назвать «среднекомпактным». Гибриды №№ 4 и 5 объединены в класс «Д», отличительной особенностью которого являются раскидистые кусты.



**Рис. 2. Расщепление во втором гибридном поколении по признаку «габитус взрослого растения»**

Кроме габитуса, растения новых гибридных форм имели целый ряд морфологических признаков, которые отличают их от исходных родителей. Это и детали строения семени, морфологические особенности вегетативных и генеративных органов, палинологические особенности [1, 2].

Основным критерием при отборе перспективных гибридов была их пригодность для промышленного возделывания. Для этого они должны иметь мощный габитус, высокое содержание эфирного масла и хорошее его качество. Руководствуясь этими требованиями, было отобрано и вегетативно размножено 5 форм: № №4, 9, 10, 11, 12.

Цитологическое изучение апикальной части молодых листочков позволило установить, что гибридные формы № 4 и № 11 в диплоидном наборе имеют 27 хромосом. Следовательно, эти формы сохранили родительский генетический материал (рис. 1). При сравнении морфологических признаков взрослых растений сорта Юбилей Вавилова и



удлиненное с пышными широко отставленными друг от друга мутовками, а у 4 гибридной формы соцветие кистевидное с удлиненными осями II порядка. Да и по количеству цветов на главной оси соцветия гибриды заметно отличаются от исходного родителя. Если в контроле их  $412 \pm 24$  шт., то у гибрида № 9 их уже  $487 \pm 24$  шт., а у гибрида № 11  $824 \pm 49$  шт.

Таблица 1.

**Морфологические особенности некоторых гибридных форм рода**  
*Nepeta*

Орган	Показатель	Контроль	Гибридная форма №					
			3	4	9	10	11	12
Куст	высота (см)	72-76	62-68	70-75	68-74	80-85	100-115	80-85
	диаметр (см)	60-80	50-90	70-90	60-80	75-95	70-100	70-80
	кол-во стеблей (шт.)	40-68	15-32	35-95	35-55	35-50	20-35	30-50
Лист	длина (мм)	4,62± 0,220	4,18± 0,250	5,40± 0,344	5,25± 0,492	5,25± 0,441	4,98± 0,376	5,08± 0,436
	ширина (мм)	3,13± 0,150	3,91± 0,234	3,66± 0,355	4,10± 0,481	3,82± 0,484	3,30± 0,244	4,11± 0,416
	индекс	1,47	1,07	1,47	1,28	1,37	1,51	1,23
Соцветие	длина гл. оси (см)	26,34± 5,948	21,15± 3,487	22,24± 4,050	16,52± 3,953	20,95± 5,062	37,44± 6,634	23,66± 5,157
	кол-во мутовок (шт.)	14-16	12-14	10-12	12-14	12-14	14-16	13-15
	кол-во цветков (шт.)	412 ± 24	323 ± 14	637 ± 36	487 ± 24	503 ± 31	884 ± 49	623 ± 38
Чашечка	длина(см)	8,70± 0,219	11,91 ± 0,320	6,68± 0,324	7,74± 0,194	8,92± 0,402	6,96± 0,317	7,83± 0,204
Венчик	длина(мм)	14,10± 0,420	19,58 ± 0,946	16,54 ± 0,376	16,68 ± 0,504	18,43 ± 0,419	11,20 ± 0,224	18,07 ± 0,380
	ширина ниж. губы(мм)	6,96± 0,314	13,95 ± 0,150	6,68± 0,294	8,24± 0,340	9,27± 0,274	6,01± 0,318	9,59± 0,220
Пыльца	экв. диаметр (мкм)	40,5 ± 3,86	50,2 ± 2,57	41,6 ± 2,72	41,1 ± 2,01	46,8 ± 3,15	47,5 ± 4,52	39,8 ± 2,28
	дл. полярной оси(мкм)	35,8 ± 3,35	45,5 ± 2,53	36,8 ± 2,70	36,6 ± 1,63	41,5 ± 2,49	41,4 ± 3,67	33,4 ± 2,84

Значительные морфологические отличия отмечены и в репродуктивной сфере. Параметры чашечки у гибридной формы № 10 и сорта Юбилей Вавилова примерно сходные. Размеры чашечки гибридных

форм № 4 и № 11 близки к таковым у *N. grandiflora*, а у форм № 9 и № 12 – к *N. transcaucasica*. Сравнивая размеры венчиков, снова обнаруживаем возможность компоновать растения в группы. Размеры венчика растений сорта Юбилей Вавилова близки к одному из исходных родителей – *N. transcaucasica*. Гибридные формы № 10 и № 12 имеют венчики, по своим параметрам близкие к таковому у *N. grandiflora*, но со значительно более развитой нижней губой. Размеры венчика у гибридных форм № 4 и № 9 занимают промежуточное положение между исходными родителями, но форма № 9 имеет значительно более крупную нижнюю губу. Цветы гибридной формы № 11 заметно мельче, чем у всех упомянутых выше котовников.

Рассматривая особенности семян, отмечаем, что форма семени – признак варьирующий и при их изучении мы руководствовались тем, какая форма чаще встречается в общей массе семян. Семена гибридных форм № 10 и 12 фенотипически близки к таковым у исходного родителя *N. transcaucasica* и имеют обратнойцевидную форму. Семена контрольных растений и форм №№ 4, 9, 11 объединяет гибриды с широкоэллипсоидальной, тупояцевидной и близкой к ним формой семени.

Внешние особенности строения семенного рубчика у контрольных растений и форм №№ 4, 10, 12 совпали, а вот у гибридов № 9 и 11 форма рубчика сходна с таковой у *N. grandiflora*. По признаку «поверхность семени» эремы сорта Юбилей Вавилова и гибридной формы № 11 объединены нами в один класс, а вот семена гибрида № 4 имеют сильно шероховатую поверхность семени, не сходную с таковой ни у одного из родителей.

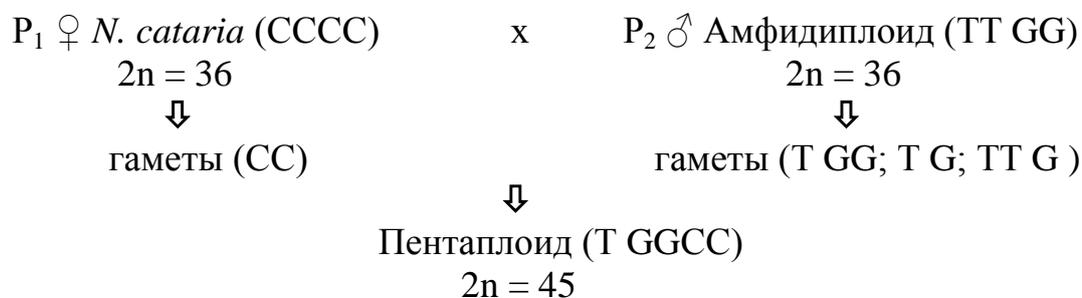
Все перечисленные нами отличия не являются новообразованиями и вполне могут быть объяснены рекомбинацией генов во втором гибридном поколении и их взаимодействием на разных уровнях.

Но главной отличительной особенностью именно этих гибридов стало значительное количество аномалий в морфологии буквально всех органов. Отмечено, что среди гибридных растений достаточно часто встречаются побеги с несвойственным для семейства *Lamiaceae* листорасположением – мутовчатым вместо накрест супротивного. Причем количество листьев в мутовке может быть равным трем (в этом случае стебель становится 6-гранным в поперечном сечении) или даже четырем (в этом случае стебель 8-гранный). Аномальные побеги могут единично встречаться среди побегов одного куста либо составлять до 5% от общего числа побегов. Причем переход к мутовчатому листорасположению может происходить как от корня до вершины соцветия, так и носить сегментный характер (например, от 4 до 8 листовых ярусов). Проявления тератологических изменений отмечены также на листьях (они могут быть 2-вершинными или

сросшимися), чашечке (появление 6 и более зубцов) и венчике цветка (срастание нижней губы и появление многолопастной верхней губы).

Палинологический анализ гибридных форм №№ 9, 10, 12 показал, что в составе их пыльцы преобладают экваториально 8-прямобороздные пыльцевые зерна, то есть пыльцевые зерна нового, не свойственного котовникам типа. Если в составе пыльцы растений сорта Юбилей Вавилова пыльцевые зерна нового типа составляют не более 10%, то у 12 гибридной формы их 38,1%, у гибрида № 9 – 59,0%, а для 10 гибридной формы эта величина уже составляет 82,2%.

Особое внимание заслуживает гибридная форма № 3. С целью создания нового ароматического растения, совмещающего в себе высокую урожайность и оригинальный состав эфирного масла, были проведены скрещивания с участием 3 видов [3]. В эксперименте приняли участие сложные индуцированные амфидиплоиды и растения *N. cataria* (рис. 4).



**Рис. 4. Схема получения трехвидового гибрида *Nepeta***

Полученные растения заметно отличаются от всех описанных выше гибридов. Куст по-прежнему сохраняет мощный габитус, но буквально все органы заметно отличаются от исходных форм: лист стал плотнее, с более гофрированной поверхностью, округлой формы. Соцветия крупные, но очень плотные, с сильно укороченными междоузлиями. Чашечка и венчик очень крупные, даже в сравнении с другими гибридными формами. Среди растений данной гибридной формы очень часто встречаются аномальные отклонения от нормального морфологического плана строения.

Среди особей гибридной формы № 3 выделялись несколько растений, которые имели более компактный куст. Детальный анализ позволил выявить некоторые отличия в репродуктивной сфере этих растений при полной идентичности вегетативных органов. Эти растения имели еще более крупную, S-образно изогнутую чашечку и сильно увеличенный венчик. В результате цитологических исследований было установлено, что эти растения имеют 54 хромосомы – то есть являются гексаплоидами. Вероятнее всего в их образовании приняли участие нередуцированные 36-хромосомные гаметы амфидиплоида (ТТGG) и сбалансированные 18-хромосомные гаметы котовника кошачьего (СС) [10].

Морфологические особенности, которыми обладают новые гибридные формы, очень интересны с научной точки зрения, так как позволяют проследить возможные пути эволюционирования рода *Nepeta*, оценить значимость проявившихся новых признаков, но не дают комплексного представления о хозяйственной ценности новых растений. А ведь именно содержание эфирного масла и его качество были главными критериями, по которым оценивались перспективные гибриды (табл. 2).

Таблица 2

**Изучение хозяйственно ценных признаков новых гибридных форм  
котовника в условиях ЮБК**

Гибридная форма	Укос	Надземная масса с 1 растения, г	Массовая доля эфир. масла, % от сырой массы	Сбор эфирного масла, г/раст.	Сбор эфирного масла, кг/га
контроль	I	233,5±26,29	0,34±0,031	0,80±0,092	38,2±4,34
	II	146,3±18,24	0,35±0,036	0,51±0,055	24,1±2,12
	сумма	379,7±40,05	-	1,31±0,121	62,3±5,67
№ 3	I	168,0±14,95	0,36±0,030	0,60±0,055	28,5±2,11
	II	107,0±98,15	0,36±0,029	0,38±0,231	18,3±1,56
	сумма	275,4±24,67	-	0,98±0,101	46,8±4,12
№4	I	172,6±18,56	0,64±0,054	1,10±0,112	52,6±4,98
	II	121,4±11,83	0,64±0,060	0,78±0,067	37,0±3,50
	сумма	293,9±27,90	-	1,88±0,175	89,5±7,98
№ 9	I	190,1±20,22	0,41±0,039	0,78±0,080	37,1±3,56
	II	142,0±16,06	0,42±0,041	0,60±0,058	28,4±2,70
	сумма	332,01±35,24	-	1,38±0,123	65,5±6,61
№ 10	I	348,7±33,12	0,46±0,048	1,59±0,145	75,7±6,06
	II	180,8±16,18	0,47±0,050	0,84±0,80	40,0±3,55
	сумма	529,5±49,09	-	2,43±0,202	115,7±9,76
№ 11	I	416,3±39,13	0,37±0,028	1,52±0,161	72,3±6,69
	II	210,2±20,20	0,37±0,032	0,77±0,70	36,8±3,45
	сумма	626,5±58,27	-	2,29±0,212	109,1±10,01
№ 12	I	253,9±20,12	0,59±0,055	1,49±0,133	70,9±6,16
	II	158,4±14,76	0,60±0,057	0,95±0,089	45,2±4,24
	сумма	412,3±39,40	-	2,44±0,230	116,1±10,12

Согласно полученным нами данным, все отобранные гибриды отличаются высоким содержанием эфирного масла. Форма № 12 по

данному признаку превосходит контроль на 70,3%, а форма № 4 – на 86,0%. При этом гибридная форма № 4 и контрольные растения имеют идентичный генетический материал, а форма № 12 несет увеличенный до 36 набор хромосом. Гибридная форма № 3, у которой генетический материал удвоился в сравнении с родительской формой, по массовой доле эфирного масла превосходит контроль всего лишь на 3,5%. Таким образом можно заключить, что увеличение пloidности не приводит к значительному повышению массовой доли эфирного масла, а лишь является расширенной базой для индивидуального отбора.

Что касается качества эфирного масла, то следует отметить, что все гибридные формы как в первом, так и во втором гибридном поколениях унаследовали особенности компонентного состава исходного родителя – цитронеллольного клона № 776 *N. transcaucasica*. Процентное содержание цитронеллола может варьировать в зависимости от многих факторов, но всегда является преобладающим компонентом в составе эфирного масла. В условиях ЮБК среднее количество цитронеллола в эфирном масле растений сорта Юбилей Вавилова составляет 79,99% (min – 74,21%, max – 87,26%), что на 6% больше, чем указано в литературных источниках. Все отобранные нами новые гибридные формы унаследовали от родителя качественный состав эфирного масла. В составе эфирного масла идентифицирован 21 компонент, при доминировании 13 основных. Большая часть новых гибридов (№№ 4, 9, 11, 12) уступает родительской форме по содержанию цитронеллола (68,40 – 73,34% у гибрида №4), две формы (№3, №10) по данному показателю немного превосходят контроль (от 75,65 до 93,13% у гибрида №10). Общей особенностью эфирных масел всех гибридных котовников является низкое содержание непетолактонов. В результате наблюдений удалось установить, что содержание данного класса соединений может варьировать в пределах: контроль – 1,81–2,41%; форма №3 – 1,44–2,93%; форма №4 – 0,57–1,51%; форма №11 – 2,21–5,11%; форма №12 – 1,87–4,02%. У гибридных форм № 9 и № 10 общее содержание непетолактонов составляет менее 0,15%.

В случае с гибридной формой № 3 химический состав масла неоднороден. У пентаплоида он поликомпонентный, но при переходе к более сбалансированной форме ( $2n=54$ ) снова наблюдаем доминирование синтеза цитронеллола. Следовательно, этот признак, передаваясь с геномом котовника закавказского (Т), всегда является доминантным.

### Выводы

Из изложенного выше вытекают следующие заключения:

- применение методов отдаленной гибридизации открывает широкие возможности для получения новых растений с заранее заданными свойствами;
- при переходе гибридных форм на более высокий уровень пloidности наблюдается значительное варьирование морфологических признаков,

обусловленное новыми рекомбинациями генов и особенностями их взаимодействия;

– увеличение количества генетического материала не всегда приводит к заметному увеличению качественных и количественных показателей полезной продуктивности гибридных растений (сбор надземной массы сырья, массовая доля эфирного масла и его компонентный состав);

– применение отдаленной гибридизации в сочетании с методами экспериментального мутагенеза позволяет создавать сложные межвидовые гибриды даже с участием трех видов. Полученные растения не всегда значимы для хозяйственных целей, но чрезвычайно интересны в научном плане как модель для демонстрации возможных путей формообразования и эволюционирования рода в целом.

### Список литературы.

1. Аксёнов Ю.В., Работягов В.Д. Изучение наследования морфологических признаков семян межвидовых гибридов *Nepeta L.* // Бюлл. Никит. ботан. сада. – 1997. – Вып. 78. – С. 46-50.

2. Аксёнов Ю.В., Работягов В.Д. Изучение морфологических особенностей новых гибридных форм котовника в условиях Южного берега Крыма. // Бюлл. Никит. ботан. сада. – 2001. – Вып. 82. – С. 5-7.

3. Аксёнов Ю.В., Работягов В.Д. Синтез аллоплоидов в роде *Nepeta L.* и их цитологическое изучение. // Черноморский ботанический журнал. – 2009. – Т. 5, №4. – С. 541-546.

4. Аринштейн А.И., Мочкаль Л.М. Межвидовая гибридизация в роде *Nepeta L.* (котовник) с целью получения исходного материала для селекции // Труды ВНИИ ЭФМК. – Симферополь, 1980. – Т. 13. – С. 10-14.

5. Аринштейн А.И., Серкова А.А., Мочкаль Л.М. Межвидовая гибридизация как источник получения новых форм при селекции котовника (*Nepeta L.*) // III симпозиум «Актуальные вопросы изучения и использования эфиромасличных растений и эфирных масел»: Тез. докл. – Симферополь, 1980. – С. 4-5.

6. Борович С. Принципы и методы селекции растений. – М.: Колос. – 1984. – 344 с.

7. Гинзберг А.С. Упрощенный способ определения количества эфирного масла в эфирносах. // Химико-фармацевтическая промышленность. – 1932. – № 8-9. – С. 326-329.

8. Работягов В.Д., Андреева Н.Ф., Капелев О.И. Межвидовая гибридизация в роде *Nepeta L.* // V Всесоюз. симпоз. «Основные направления научных исследований по интенсификации эфирномасличного производства» (Кишнев, 17-19 сент. 1990 г.): Тез. докл. – Симферополь, 1990. – С. 36-37.

9. Работягов В.Д., Машанов В.И., Андреева Н.Ф. Интродукция эфиромасличных и пряно-ароматических растений. – Ялта: ГНБС, 1999. – 32 с.
10. Работягов В.Д., Митрофанова И.В., Аксёнов Ю.В. Геномная инженерия представителей рода *Nepeta* L. *in situ* и *in vitro*. // Бюлл. Никит. ботан. сада. – 2009. – Вып. 98, – С. 5-8.
11. Серкова А.А., Аринштейн А.И., Кравец Т.И. Новый сорт котовника гибридного Романтика // Труды ВНИИ ЭФМК. – 1983. – Т. 15. – С. 57-63.
12. Серкова А.А. Исходный материал и селекция котовника: Автореф. дис. канд. с/х наук. – Симферополь. – 1985. – 23 с.
13. Хромосомные числа цветковых растений (*Nepeta* L.). – Л.: Наука, 1969. – С. 367.
14. Чувашина Н.П. Цитогенетика и селекция отдаленных гибридов и полиплоидов смородины. – Л.: Наука. – 1980. – 121 с.
15. Эрдтман Г. Морфология пыльцы и систематика растений // Введение в палинологию. – М.: Изд-во иностр. лит-ры, 1956. – С. 395-407.