

Е. Г. СИМОНЯН

МИКРОСПОРОГЕНЕЗ У TRITICUM TIMORHEEVI

При создании новых форм растений методом отдаленной гибридизации часто большим препятствием является нескрещиваемость родительских компонентов, стерильность потомства, затруднительность создания константных линий. Причины нескрещиваемости и стерильности разнообразны и не могут быть выяснены без одновременного применения генетических, физиологических, биохимических, цитологических, эмбриологических и других методов исследований.

При разработке методики преодоления этих явлений немаловажное значение имеют цитологические и эмбриологические методы. Тем более, что факторы внешней среды, действуя непосредственно на воспроизводящую систему организма, его половые клетки вызывают в них глубокие изменения. Эти изменения могут привести к нарушениям, которые выражаются в потере жизнеспособности половых клеток, вследствие чего возникает частичная или полная стерильность.

В настоящее время описаны случаи стерильности пыльцы у кукурузы, пшеницы, сахарной свеклы, лука, риса, сорго, картофеля, льна, табака, фасоли и др. [7]. За последние годы опубликовано большое количество цитологических работ, вскрывающих причину стерильности отдаленных гибридов у различных культур.

По данным Савитской [15] гибрид *Beta vulgaris* ($2n=18$) и *B. procumbens* ($2n=18$) в отличие от других гибридов *B. vulgaris* с видами секции *Patellaris*, являющихся полностью стерильными, оказался полустерильным, давшим в последующем потомство. Изучение мейоза показало, что образование фертильных гамет у полустерильного гибрида объясняется образованием реституционных ядер, которые возникают в результате деления всех унивалентов во время первого мейотического деления в материнских клетках пыльцы. Интересные исследования проведены также на злаковых растениях.

Так, по данным Тулпуле [16] у межвидовых гибридов пшеницы, полученных путем скрещивания *Tr. dicoccoides* и *Tr. durum*, наблюдалась высокая стерильность отдельных растений. Стерильные растения в F_4 изучались цитологически, в результате которого были обнаружены следующие отклонения от нормального мейоза: сильное сгущение масс хроматина в каждой клетке, хроматидные фрагменты и цепочки хромосом в профазе и т. д.

Е. И. Устинова [12, 13] установила, что причина мужской стерильности у кукурузы связана с разрушением цитоплазмы на одноядерных и двуядерных стадиях. При этом в пыльцевых зернах стерильных форм

наблюдалось значительное уменьшение РНК и крахмала, а также отсутствие ДНК.

В. Ф. Любимова [8] показала, что степень стерильности пшенично-пырейных гибридов зависит не только от филогенетической близости скрещиваемых форм, но и от условий среды, при которых протекает мейотическое деление, формирование половых клеток и цветение. Тем же автором приводятся также данные, свидетельствующие о том, что такие факторы как свет, его интенсивность, продолжительность и качество, состояние ассимиляционной поверхности, наличие питательных веществ в почве и др. также оказывают большое влияние на формирование гамет.

В. А. Поддубная-Арнольди [10] приводит интересные данные, показывающие нарушения процессов мейотического деления у пшенично-пырейных гибридов и межвидовых гибридов в роде *Ta*гахасит, ненормальности в развитии и строении зародышевого мешка, а также нарушение нормального развития и строения эндосперма под влиянием гибридизации. В ряде случаев автор описывает полное отсутствие образования эндосперма, связанного с выпадением слияния вторичного ядра зародышевого мешка со спермием.

Итак, при гибридизации исследователи часто сталкиваются с явлением, при котором нормальное развитие и строение пыльцы может нарушиться, что приводит к появлению стерильности. Причиной указанного явления, как известно из литературных данных, являются: отсутствие прорастания пыльцы на рыльце пестика, замедленный рост пыльцевых трубок, неспособность мужских гамет осуществить оплодотворение, а также нарушения в ходе мейотического и постмейотического развития.

Подобное явление нами обнаружено у гибридов *Tr. Timopheevi* с рядом пшениц, в том числе с *Tr. eripaseum*, *Tr. persicum*, *Tr. dicoccum* и др. Известно, что пшеница тимофеева не раз была использована при межвидовых скрещиваниях с целью получения ценных сортов [1—6, 14]. Однако эти скрещивания не имели успеха, ибо полученное потомство являлось неплодовитым, кроме того гибриды не наследовали тех ценных свойств и признаков, которые экспериментаторы стремились передать им.

Более подробные и длительные работы в этом направлении проведены В. О. Гулканяном [1—4], который по-новому подошел к вопросу гибридизации этой пшеницы, предоставив ей широкие возможности оплодотворения, путем ветроопыления в пределах желаемых сортов. При этом получился значительно больший процент завязывания, однако гибриды не наследовали желаемых свойств и признаков.

Для выяснения причин такого явления необходимо было провести цитологическое исследование гибридов этого вида пшеницы с другими видами. С этой целью нами производилась фиксация соцветий на разных стадиях развития у гибридов *Tr. Timopheevi* × *Fr. dicoccum*, *Tr. Timopheevi* × *Tr. persicum*, *Tr. Timopheevi* × *Tr. compactum* var. *eripaseum*. Соцветия и тычинки фиксировались хром-ацетформолом по

С. Г. Навашину с предварительным окунанием в смесь спирта с уксусной кислотой в соотношении 3:1 на одну-полторы минуты. Срезы делались толщиной в 14 микронов, препараты окрашивались железным гематоксилином по способу Гейденгейна, рисунки были сделаны при помощи рисовального аппарата Аббе с увеличением об. 90 х ок. 10.

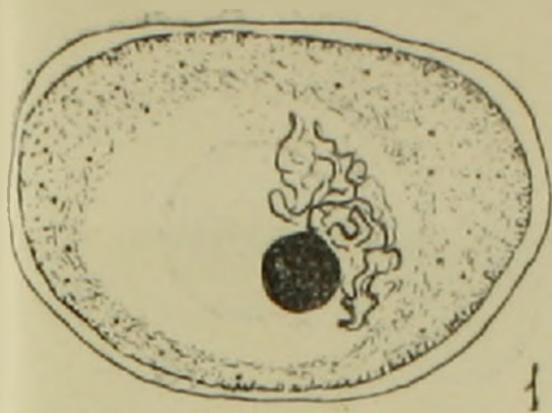
Данное исследование представляет собой результат воздействия гибридизации на мейоз у пшеницы тимофеева. Нами показано, что на начальных фазах развития мейоз протекает типично, т. е. деление материнских клеток микроспор у гибридов, как и у исходных форм происходит по сукцессивному типу и мы не замечаем каких-либо отклонений от нормы. Так, дифференцирующиеся в пыльнике археспориальные клетки хорошо отличаются от остальных клеток пыльника своими более крупными ядрами и ядрышками и более густой, интенсивно окрашивающейся цитоплазмой. В течение нескольких дней клетки археспория интенсивно делятся, затем деление прекращается и археспориальные клетки микроспор значительно увеличиваются в размерах, после чего приступают к мейотическому делению. В начале профазы ядра еще более увеличиваются, вокруг ядрышек образуется довольно густая, мелкозернистая масса хроматинового вещества и ядра вступают в первую стадию своего деления, в стадию синапсис (табл. 1, рис. 1). В дальнейшем хромосомы обособляются в виде бивалентов (табл. 2, рис. 20) и располагаются на экваторе веретена.

Нарушение нормального течения деления ядер и клеток, при образовании микроспор и мужского гаметофита начинается с этой стадии, когда отдельные биваленты начинают отставать. Это отставание продолжается и в последующих стадиях первого и второго мейотического деления (табл. 1, рис. 3, 6—11).

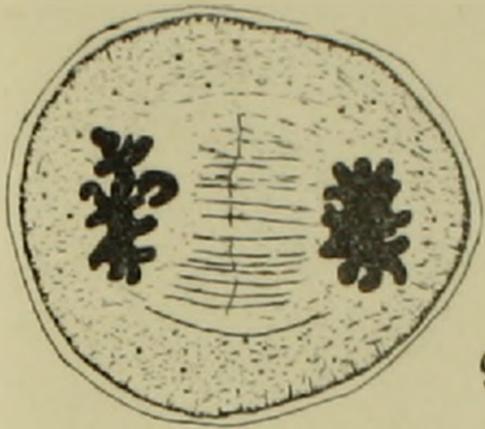
Интересно, что отставание, т. е. нарушение одновременности отхождения хромосом к полюсам наблюдается не только в отдельных дочерних клетках, но и в общем процессе деления. На рисунках хорошо видны стадии, когда в одних дочерних клетках (табл. 1, рис. 8, 10) уже образуются перегородки, а другие находятся соответственно в стадии начальной и поздней анафазы. В другом случае (табл. 1, рис. 12), в одной дочерней клетке уже наступило деление и образовалась перегородка, тогда, как в первом ядре деление еще не завершилось.

Наиболее часто наблюдается запаздывание в анафазе некоторых хромосом в обоих делениях мейоза (отсутствие одновременности, образование анафазных мостиков). При этом хромосомы располагаются на веретене в полном беспорядке (табл. 1, рис. 8, 11), в то время как одни хромосомы уже дошли до полюсов клетки, другие находятся на пути к ним, а третьи еще остаются на экваториальной плоскости.

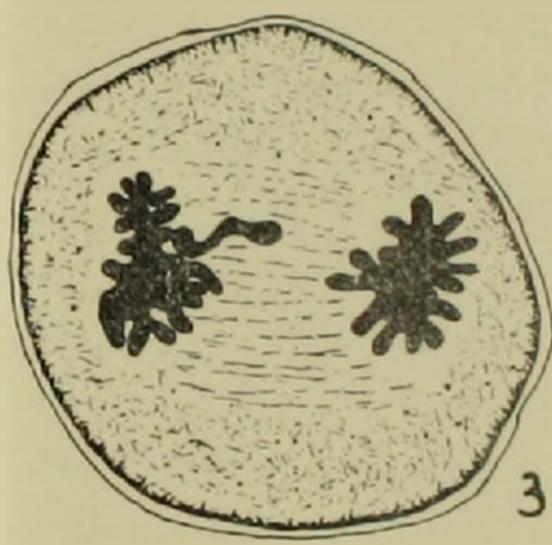
Некоторые из этих хромосом (табл. 11, рис. 20) в виде тонких вытянутых мостиков растягиваются через всю клетку, соединяя оба полюса. Во многих случаях на этой стадии, кроме целых хромосом видны многочисленные фрагменты. В одних случаях неправильности в расхождении хромосом к концу анафазы исчезают, отстающие хромосомы под-



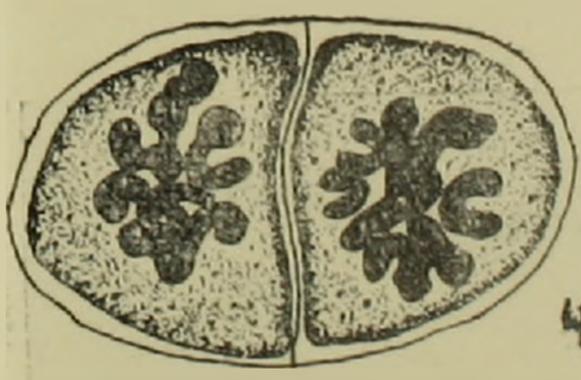
1



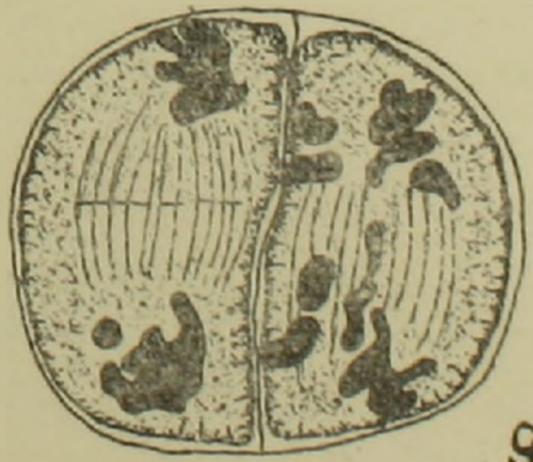
2



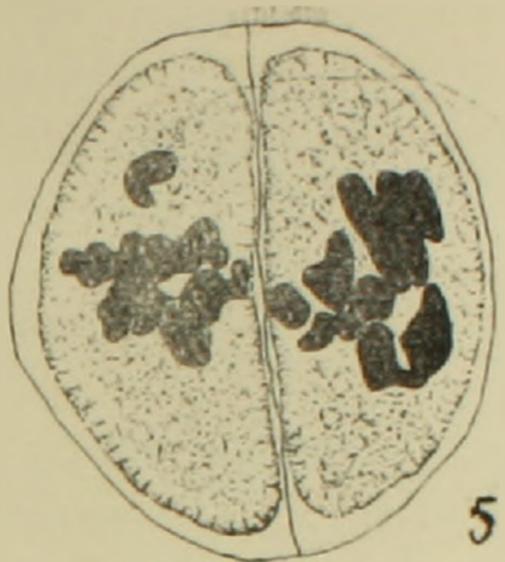
3



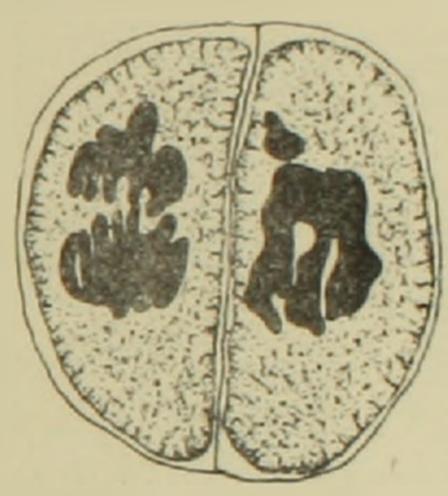
4



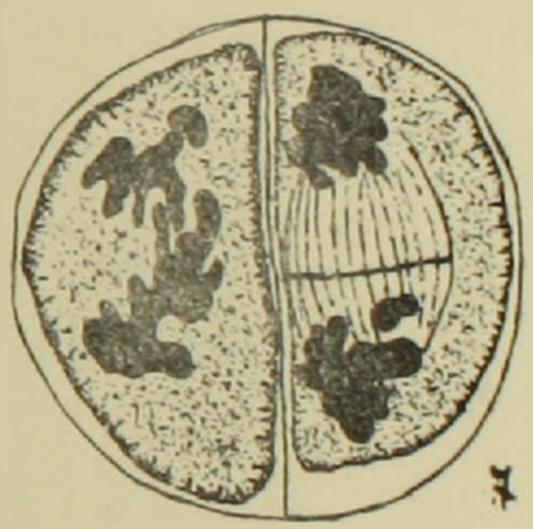
5



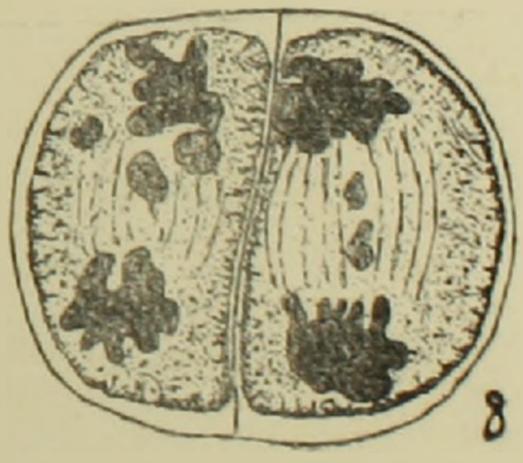
6



7



8



9

Таблица 1

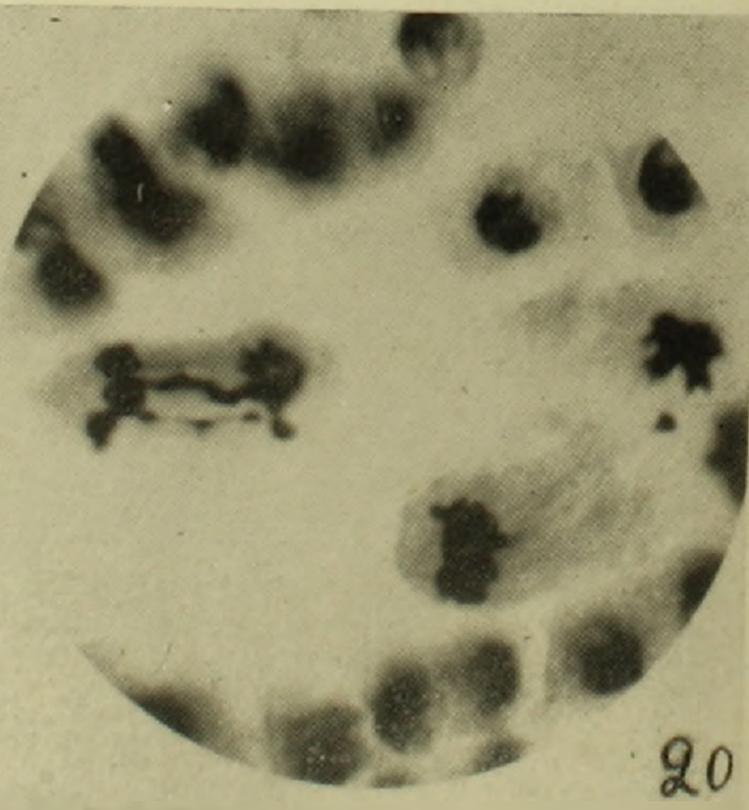
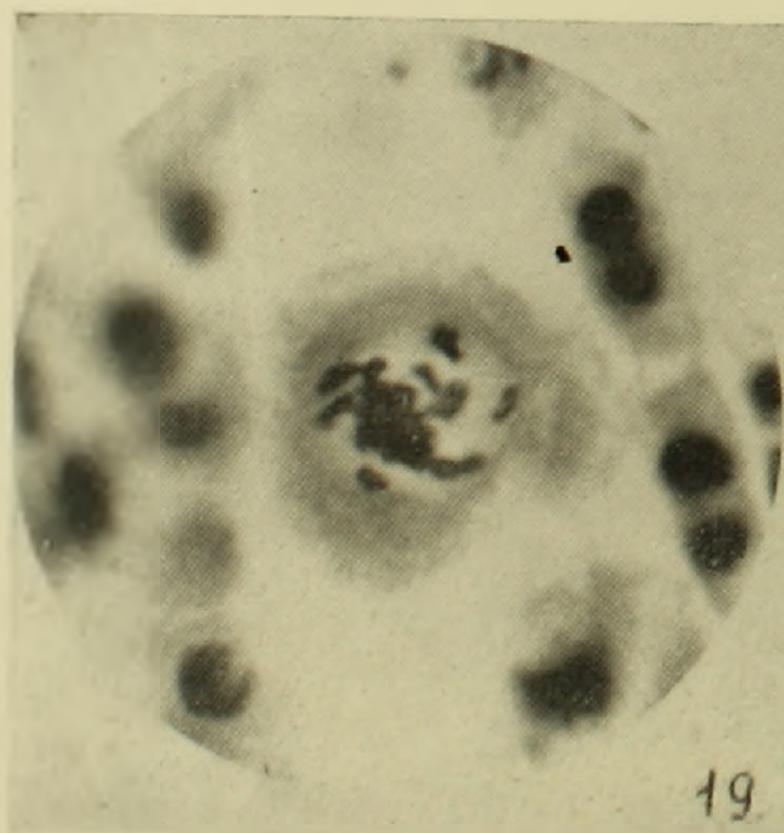
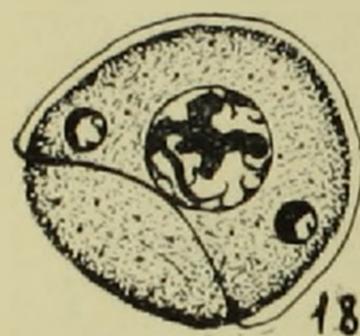
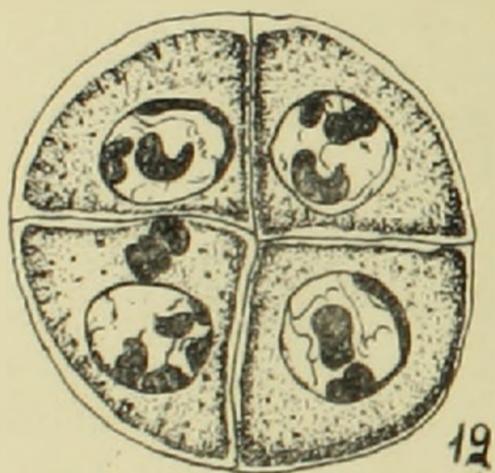
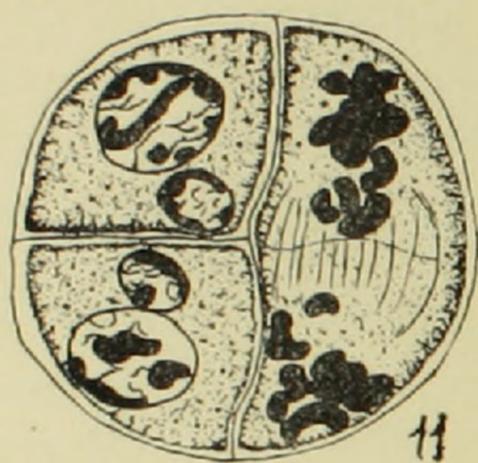
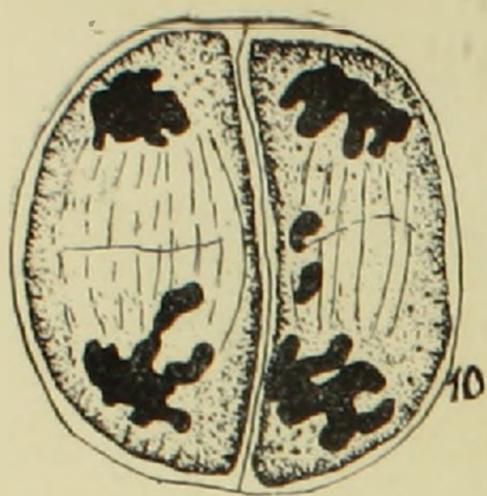


Таблица 2

тягиваются к полюсам и успевают включиться в дочерние ядра (табл. I, рис. 2—4); в других случаях часть хромосом не доходит до полюсов, в результате чего впоследствии образуются добавочные ядра, т. е. микроядра (табл. II, рис. 11—12, 14, 17, 19). Эти микроядра постепенно дегенерируют, но нередко их удается обнаружить на различных фазах развития мужского гаметофита. Как правило, такие ненормальности встречаются только у гибридов, характеризующихся высокой степенью стерильности; пыльцевые зерна, возникающие таким образом, нежизнеспособны.

Из приведенных рисунков видно, что клеточная перегородка закладывается непосредственно после первого деления мейоза и в каждой из 2 дочерних клеток—после второго деления. Однако, как мы отметили выше, перегородка образуется не одновременно, а очень часто в одной из клеток наступает раньше, чем в другой (табл. I, II, рис. 7, 11). Вскоре после распада тетрады на отдельные микроспоры (табл. II, рис. 13, 19), вокруг последних начинают формироваться собственные оболочки (табл. II, рис. 17, 18). При этом микроспоры значительно увеличиваются в размерах (табл. II, рис. 13, 18). Микроядра внутри микроспор образуются из одной (табл. II, рис. 18) или нескольких хромосом (табл. II, рис. 11—12). Последние бывают различных размеров, то более крупные, то более мелкие (табл. II, рис. 11, 18). В дальнейшем, уже в цветках, готовых к раскрытию, у стерильных форм обычно мы наблюдаем или совсем пустые пыльцевые зерна, имеющие только оболочки, или пыльцевые зерна с разрушающейся цитоплазмой и дегенерирующим ядром.

Нарушение нормального течения деления ядер и клеток при образовании микроспор может быть следствием очень глубоких и сложных физиологических и биохимических процессов, происходящих при этом. Только всестороннее исследование приведет нас к правильному пониманию нормальных и отклоняющихся от нормы процессов образования пыльцы и мужского гаметофита. Пока можно утверждать, что с цитологической стороны причиной стерильности пыльцы у исследованных нами гибридов является нарушение хода мейотического деления, вызванное влиянием отдаленной гибридизации.

Армянский институт земледелия

Поступило 4.VIII 1963 г.

Ե. Հ. ՍԻՄՈՆՅԱՆ

ՏԻՄՈՖԵՅԵՎԻ ՅՈՐԵՆԻ ՄԻԿՐՈՍՊՈՐՈԳԵՆԵՆԵԶԻ ՄԱՍԻՆ

Ս. մ. փ. ո. փ. ո. լ. մ.

Հեռավոր հիբրիդացման միջոցով բույսերի նոր ձևեր ու տեսակներ ստեղծելիս հաճախ խոչընդոտ են հանդիսանում այնպիսի երևույթներ, ինչպիսիք են չխաչաձևելիությունը և ստերիլությունը:

Զխաչաձևելիության և ստերիլության պատճառները բազմապիսի են և նրանք չեն կարող պարզաբանվել, և թե միաժամանակ շկիրառվեն գենետիկական, ֆիզիոլոգիական, բիոքիմիական, ցիտոլոգիական, էմբրիոլոգիական և այլ մեթոդներ:

Այս հարցերի պարզաբանման համար մեծ նշանակություն ունեն ցիտոլոգիական և էմբրիոլոգիական մեթոդները, հատկապես այն պատճառով, որ արտաքին միջավայրի գործոնները առաջին հերթին ազդում են օրգանիզմի վերարտադրողական սիստեմի վրա, նրանց սեռական բջիջների վրա, առաջադնելով նրանց մեջ խորր փոփոխություններ, որոնք փոխանցվում են ժառանգաբար:

Ստերիլության երևույթը ներկայումս հայտնի է եզիպտացորենի, ցորենի, շաքարի ճակնդեղի, սոխի, բրնձի, կարտոֆիլի, ծխախոտի, լոբու և այլ կուլտուրաների մոտ:

Հեռավոր հիբրիդացման ժամանակ հետազոտողները հաճախ են հանդիպում այնպիսի երևույթների, որոնց ժամանակ փոշեհատիկների նորմալ կաուուցվածքը կարող է խախտվել և սուաջ բերել ստերիլության երևույթ:

Վերը նշված երևույթի պատճառներից մեկն էլ ռեդուկցիոն բաժանման պրոցեսի խախտումն է: Այդ երևույթը մեր կողմից դիտվել է Տիմոֆեևի և այլ ցորենների խաչաձևման ժամանակ:

Մեր ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ ռեդուկցիոն բաժանումն իր սկզբնական ֆազերում ընթանում է տիպիկ ձևով և չի նկատվում որևէ խախտում: Սակայն մետաֆազում արդեն նկատվում է սուանձին քրոմոսոմների եսմնալը, որը շարունակվում է առաջին և երկրորդ մեյոտիկ բաժանումների ժամանակ:

Հետաքրքրական է այն հանգամանքը, որ քրոմոսոմների շարժումը դեպի բևեռները կատարվում է ոչ միաժամանակ: Նկատվում են այնպիսի դեպքեր, երբ մի խումբ քրոմոսոմներ արդեն հեռացել են բևեռները, մի այլ խումբ գտնվում են ճանապարհին, իսկ երրորդները՝ դեռևս իրենց տեղում են:

Ավելի հաճախակի միջնապատը գոյանում է ոչ միաժամանակ, այն դեպքում, երբ մի դուստր կորիզում արդեն գոյացել է վերջինս, մյուսի մեջ կորիզի կիսումը գտնվում է անաֆազային բաժանման տարբեր ֆազերում: Ետմնացած քրոմոսոմները հաճախակի կազմավորում են առանձին միկրոկորիզներ, ըստ որում վերջիններիս կազմի մեջ մտնում են մեկ կամ ավելի քրոմոսոմներ: Այդ միկրոկորիզները հետդհետե անհայտանում են, բայց հաճախակի կարելի է նրանց դիտել նոր գոյացած միկրոսպորների մեջ, կամ ավելի ուշ՝ ծաղկափոշիների մեջ:

Այսպիսով, կարելի է ասել, որ ցիտոլոգիական տեսակետից հեռավոր հիբրիդացման ժամանակ ցորենի մոտ ստերիլության պատճառներից մեկն էլ ռեդուկցիոն բաժանման ընթացքի խախտումն է:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Гулканян В. О. Изв. АН АрмФАН СССР, 8, 1941.
2. Гулканян В. О. Изв. АН Арм. ССР (естеств. науки), 4, 1946.
3. Гулканян В. О. О путях создания сортов пшеницы для высокогорных районов. Ереван, Изд. АН Арм. ССР, 1952.
4. Гулканян В. О. Изв. АН Арм. ССР (биол. науки). VIII, 8, 1955.

5. Декапрелевич Л. Л., Менабде В. Л. Тр. по прикл. бот., ген. и селекции, XX, 1929.
6. Захаржевский А. А. Журн. Яровизация, 3, 1940.
7. Лебедев В. В. Тр. Белоцерковского с.-х. ин-та, 1956.
8. Любимова В. Ф. Сб. Отдаленная гибридизация растений. М., Сельхозгиз, 1960.
9. Петрова К. А. Сб. Отдаленная гибридизация растений, М., 1960.
10. Поддубная-Арнольди В. А. Сб. Отдаленная гибридизация растений, М., Сельхозгиз, 1960.
11. Симонян Е. Г. Изв. АН Арм. ССР (биол. науки), т. XVII, 3, 1964.
12. Устинова Е. И. ДАН СССР, 1, 127, 3, 1959.
13. Устинова Е. И. Цитология, 3, 3, 1961.
14. Якубинер М. М. Тр. по прикл. бот., ген. и селекции, (серия А), 11, 1934.
15. Sawitsky Helen J. Amer. Soc. Sugar, Beet Technol, 11, 1, 1960.
16. Tulpule S. H. J. Yenet, and Plant Breed, 2, 1956,