

Д. О. АВАКЯН, В. О. БАБАЯН

ЕСТЕСТВЕННОЕ МУТИРОВАНИЕ КЛЕТОК ЭМБРИОНАЛЬНО РАЗНОВОЗРАСТНЫХ СЕМЯН ПШЕНИЦЫ

В истории исследования естественных мутаций особое место занимают работы, показавшие зависимость этого процесса от физиологического состояния семян. Еще в 1933 г. М. С. Навашин [12] указал на роль старения семян в появлении хромосомных перестроек. В последующих исследованиях, как отмечает Н. П. Дубинин [8], была вскрыта комплексная природа факторов естественного мутирования, связанная с действием целого ряда физических, химических и физиологических воздействий.

К факторам физиологического характера, по-видимому, нужно отнести и различное эмбриональное состояние семян. Исследования показали, что эмбрионально разновозрастные семена обладают разными физиологическими свойствами. Так, А. А. Агинян [1] установил, что в зависимости от эмбрионального возраста семян изменяется продолжительность яровизации. Т. Ф. Бланковская [6] сообщает, что фаза спелости семян определяет процессы развития растений. Она протекает тем медленнее, чем меньше эмбриональный возраст семян. О. С. Энгель [14] вскрыла обратную зависимость между эмбриональным возрастом семян и их радиочувствительностью.

Наши исследования [4, 5] показали, что при облучении дозой в 700 р семян 7-дневного возраста погибает 88,9% растений, 15-дневного возраста—68,0, а спелых (контрольных)—всего 30%.

Физиологические свойства организма в большей мере зависят от содержания воды в тканях, с этим связано состояние коллоидных систем, процессы метаболизма, насыщенность кислородом и пр.

Опыты показывают, что за равный промежуток времени неспелые семена на единицу сухого вещества поглощают почти в 3 раза больше воды, чем спелые. При высушивании в комнатных условиях или в термостате при 60—105° отдача воды у неспелых семян, особенно до молочной спелости, происходит также легко и быстро.

Кроме того, в литературе имеется много данных о различной изменчивости растений, полученных от эмбрионально-разновозрастных семян [1, 3, 7, 13 и др.].

Все сказанное дает основание считать, что эмбрионально разновозрастные семена физиологически резко отличаются от спелых. Эти отличия обуславливаются недостаточностью дифференцированности и митотической активностью тканей зародыша, большим содержанием воды, неполной оформленностью оболочек раздела, недостаточным качественным и количественным содержанием эндосперма и пр. На наш взгляд

это приводит к высокой склонности клеток неспелых семян к естественному мутированию.

Исследования проводились над озимой пшеницей турцикум (сорт Арташати 42), выведенной путем индивидуального отбора, а поэтому, нужно полагать—гомогенной.

На разных этапах эмбриогенеза семена заготавливались следующим образом: на изолированном посеве, сделанном специально для этой цели, по возможности отбирались одинаковые, цветущие колосья и брались под изолятор из кальки. Благодаря изоляции отобранные колосья помечались и предохранялись от случайного переопыления. Семена убирались через 5, 15, 25, 40 (спелые) дней, считая со дня изоляции, т. е. цветения. Собранные семена до их полного созревания хранились в пучках, в комнатных условиях.

Следует отметить, что созревание является необходимым условием работы с неспелыми семенами.

Известно [2, 11], что формирование зародыша и эндосперма зерновки начинается через несколько часов после оплодотворения и заканчивается на 25—26 день. Снятые с материнского растения зерна в неспелом виде еще не закончили дифференциацию, такие семена без созревания, в процессе которого они формируют необходимые для прорастания зачатки органов растения, не прорастают.

Обмолачивание снопиков производилось перед опытом, для которого отбирались одинаковые зерна. Семена проращивались в чашках Петри на фильтровальной бумаге в термостате при 25°C. Для фиксации, через 34 часа, отбирались однообразные корешки, длиной 10—15 мм. Фиксация производилась смесью Карнуа—3 части абсолютного спирта и 1 часть ледяной уксусной кислоты. После окраски ацетолакмидом готовились временные давленные препараты.

В клетках меристемы корешков определялись митотическая активность клеток, уровень мутирования клеток и типы перестроек хромосом в анафазе по схеме Н. П. Дубинина, В. К. Щербакова и др. [9].

Для определения митотической активности клеток меристемы корешков пшеницы просматривалось 4000 клеток (табл. 1).

Таблица 1
Митотическая активность клеток в зависимости от эмбрионального
возраста семян пшеницы

Возраст семян в днях	Количество просмотренных клеток	Количество делящихся клеток	Митотическая активность в %	Достоверность разницы к 40-дневным се- менам
5	4000	236	$5,9 \pm 0,37$	9,7
15	4000	326	$8,15 \pm 0,43$	5,8
25	4000	438	$10,9 \pm 0,49$	1,6
40	4000	485	$12,1 \pm 0,52$	—

Приведенные в табл. 1 данные показывают, что митотическая активность клеток меристемы корешков возрастает параллельно увеличению эмбрионального возраста семян.

Для определения естественного мутирования в зависимости от эмбрионального возраста семян просмотрено 200 анафаз в клетках меристемы корешков (табл. 2).

Таблица 2

Уровень естественного мутирования меристемы клеток корешков эмбрионально разновозрастных семян пшеницы

Возраст семян в днях	Фаза спелости семян	Количество корешков	Количество просмотренных анафаз	Количество измененных анафаз в %	Количество измененных анафаз	Достоверность разницы к спелым семенам
5	зеленая	—	200	$24,00 \pm 3,02$	48	3,5
15	молочная	—	200	$11,00 \pm 2,20$	22	3,0
25	восковая	—	200	$3,50 \pm 1,30$	7	2,2
40	полная	—	200	$0,50 \pm 0,49$	1	—

Данные табл. 2 показывают, что уровень естественного мутирования клеток зависит от эмбрионального возраста семян. Он возрастает с уменьшением возраста последних.

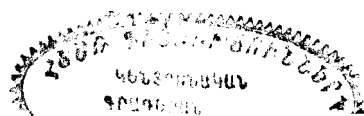
От эмбрионального возраста семян зависит не только уровень мутирования, но и типы хромосомных перестроек (табл. 3).

Таблица 3

Типы хромосомных перестроек при естественном мутировании клеток корешков эмбрионально разновозрастных семян

Возраст семян в днях	Количество перестроек	Из них следующих типов							
		—	=	I—	I=	I	X—	X=	X
5	48	16	4	1	2	8	6	6	5
15	22	6	5	—	2	5	—	—	4
25	7	—	1	—	—	5	—	—	1
40	1	—	—	—	—	1	—	—	—

Н. П. Дубинин, В. К. Щербаков [10] различают 2 типа естественного мутирования. Первый характеризуется задержанным проявлением цитогенетического эффекта. В этом случае мутации хромосом возникают в фазе S клеточного цикла на уровне хроматид. Другой тип мутаций характеризуется незадержанным проявлением цитогенетического эффекта — мутации происходят на всех фазах клеточного цикла. Растениям, а также и животным характерен тот или иной тип мутирования или оба. Так, А. Михаэлес [15] сообщает, что при естественном мутировании у *V. faba* возникают только хроматидные перестройки. То же самое наблюдается в культуре клеток человека [16]. Интересно отметить, что у незрелых семян возникают перестройки обоих типов (табл. 3). При этом



с уменьшением эмбрионального возраста, количество перестроек хроматидного происхождения уменьшается, а хромосомного—увеличивается. Так, у 25-дневных семян перестройки хроматидного происхождения составляют 85,7%, у 15-дневных 81,8, а у 5-дневных они резко снижаются и составляют лишь 64,5%.

Данные по спелым (40-дневным) семенам не приводятся, т. к. у них наблюдается только одна перестройка—хроматидная.

Как нам кажется, приведенные данные можно объяснить именно возрастным, физиологическим состоянием семян; с уменьшением эмбрионального возраста семян увеличивается их общая чувствительность, в том числе и в автомутагенам, чем и следует объяснить полученные нами результаты.

В ы в о д ы

1. Неспелые семена пшеницы обуславливают низкую митотическую активность клеток меристемы, которая возрастает по мере созревания.

2. Неспелые семена обладают высоким уровнем естественного мутирования хромосом. Наивысший—в начале эмбриогенеза, в конце эмбриогенеза у спелых семян он достигает нормы.

3. Самый широкий спектр хромосомных перестроек наблюдается у семян зеленой спелости. С увеличением эмбрионального возраста семян спектр сужается.

4. С уменьшением эмбрионального возраста семян увеличивается количество нарушений, возникающих в фазе g_2 митотического цикла на уровне хроматид, и уменьшается количество перестроек на уровне хромосом.

Лаборатория радиационной генетики
АН АрмССР

Поступило 27.VII 1966 г.

Գ. Հ. ԱՎԱԳՅԱՆ, Վ. Օ. ԲԱԲԱՅԱՆ

ՑՈՐԵՆԻ ԷՄԲՐԻՈՆԱԼ ՏԱՐԱՀԱՍՏԱԿ ՍԵՐՄԵՐԻ ԲՋԻՋՆԵՐԻ ԲՆԱԿԱՆ ՄՈՒՏԱՑՈՒՄՆ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Էմբրիոնալ տարահասակ սերմերն ունեն տարբեր ֆիզիոլոգիական հատկանիշներ, այդ էլ բերում է չհասած սերմերի բնական մուտացման, որի ուսումնասիրությունն է նվիրված այս աշխատությունը:

Ուսումնասիրությունը կատարվել է աշնանացան ցորեն տուրքիկումի (Արտաշատի 42 սորտի) վրա:

Արմատիկների մերիստեմայի բջիջներում որոշվել են՝ բջիջների միտոտիկ ակտիվությունը, բջիջների մուտացման մակարդակը և քրոմոսոմների վերականգնումների տիպերը անաֆազում ըստ Ն. Պ. Դուրինինի և Վ. Կ. Շչերբակովի առաջարկած սխեմայի:

Պարզվել է, որ սերմերի էմբրիոնալ հասակի մեծացմանը զուգընթաց մեծանում է արմատիկների մերիստեմայի բջիջների միտոտիկ ակտիվությունը: Բնական մուտացման ուսումնասիրության տվյալները ցույց են տվել, որ սերմերի էմբրիոնալ հասակից է կախված ոչ միայն մուտացման մակարդակը, այլև քրոմոսոմային վերակառուցումների տիպերը:

Սրվել են հետևյալ եզրակացությունները.

1. Ցորենի շհասած սերմերն ունեն մերիստեմայի բջիջների ցածր միտոտիկ ակտիվություն, որը բարձրանում է հասունացմանը զուգընթաց:

2. Չհասած սերմերն ունեն քրոմոսոմների բնական մուտացման մեծ մակարդակ, որը ամենից բարձր է էմբրիոգենեզի սկզբում, իսկ վերջում հասուն սերմերի մոտ նա հասնում է նորմայի:

3. Քրոմոսոմային վերակառուցումների ամենից լայն սպեկտր նկատվում է կանաչ հասունության սերմերի մոտ: Սերմերի էմբրիոնալ հասակի մեծացմանը զուգընթաց՝ սպեկտրը սեղմվում է:

4. Սերմերի էմբրիոնալ հասակի փոքրացման զուգընթաց մեծանում է միտոտիկ ցիկլի G_2 փուլում առաջացած քրոմատիդային փոփոխությունների քանակը և փոքրանում է G_1 փուլում առաջացած քրոմոսոմային վերակառուցումների քանակը:

5. Սերմերի էմբրիոնալ հասակի փոքրացմանը զուգընթաց բարձրանում է նրա ընդհանուր զգայունությունը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Агниян А. А. О природе яровизации и изменчивости растений. Изд. Глав. упр. с.-х. науки, Ереван, 1958.
2. Александров В. Г., Александрова О. Г. Ботанический журнал, т. 24, 5—6, 1939.
3. Бабалян В. О. Агробіологія, 5, 1963.
4. Бабалян В. О., Бабалян Р. С., Авакян Д. О., Азатян Р. А. Изв. АН АрмССР (биол. науки), т. 18, 7, 1965.
5. Бабалян В. О., Бабалян Р. С., Авакян Д. О., Азатян Р. А. Изв. АН АрмССР (биол. науки), т. 17, 12, 1964.
6. Бланковская Т. Ф. Научные доклады высшей школы (биол. науки). Изд. Высшая школа, 1, 1966.
7. Виноградова Е. И. Журн. Селекция, семеноводство, 2, 1961.
8. Дубинин Н. П. Ботанический журн., 43, 8, 1958.
9. Дубинин Н. П., Шербаков В. К., Дубинина Л. Г., Кеслер Г. Н. Цитология, 7, 72, 1963.
10. Дубинин Н. П., Шербаков В. К. II Московское совещание по физиологии растений, 20—25 мая 1964 г. Тезисы докладов, 1964.
11. Медилевский Я. С., Бейлис Р. А. Журн. Ин-та ботаники АН УССР, 26—27, 1938.
12. Навашин М. С. Биологический журн. 2, 1938.
13. Трухинова А. Т. Агробіологія, 6, 1965.
14. Энгель О. С. ДАН СССР, т. 78, 4, 1951.
15. Michaelis A., Rieger R. Chromosoma 9, 514, 1958.
16. Sax H. J., Passano K. N. Amer. Naturalist. 95, 97, 1961.