ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱ: ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆԴԵՍ
АКАДЕМИЯ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР. БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ АРМЕНИИ
т. XXV, № 3, 1972

УДК 581.3

О. А. МНАЦАКАНЯН, М. Г. ОГАНЕСЯН, К. А. ВАРТАНЯН

ИССЛЕДОВАНИЕ РАННЕГО ЭМБРИОГЕНЕЗА У МЕЖВИДОВОГО НЕКРОТИЧЕСКОГО ГИБРИДА ПШЕНИЦЫ

В последние годы явление гибридного некроза привлекает внимание генетиков различных стран. Согласно мнению большинства исследователей, гибридный некроз контролируется взаимодействием двух доминантных комплементарных генов Ne_1 и Ne_2 [1, 6, 8, 9]. Современный этап изучения проблемы настоятельно требует привлечения наряду с генетическими также биохимических, физиологических, цитологических и эмбриологических методов исследования.

Известно, что взаимодействие материнских и отцовских геномов начинается с момента сингамии, т. е. слияния в единую систему мужских и женских гамет. Изучение особенностей развития зиготы, зародыша и эндосперма в гибридном организме, сочетающем комплементарные гены некроза Ne_1 и Ne_2, позволит выяснить, в какой степени их действие, обуславливающее некроз, отражено в структурах эмбриогенеза. Подобное исследование тем более необходимо, что в литературе почти нет цитологических и эмбриологических сведений, касающихся времени возникновения и формы выражения комплементарного действия некротических генов в клеточных структурах.

В настоящей работе приводятся результаты изучения характера и темпов оплодотворения и ранних стадий эмбриогенеза при скрещивании сортов твердой и мягкой пшеницы, несущих факторы некроза Ne_1 и Ne_2. Исследование проводилось при сравнении с родительскими сортами по схеме:

Арандани × Гостианум 0237—межвидовой, сильнонекротический, летальный гибрид.

Арандани × Арандани—внутрисортовой гибрид.

Гостианум 0237 × Гостианум 0237—внутрисортовой гибрид.

Искусственно опыленные завязи фиксировались смесью Карнуа (6:3:1) методом темпоральной фиксации. Препараты окрашивались железным гематоксилином по Гейденгайну и основным фуксином по Фельгену с подкраской светлым зеленым.

Сравнительное изучение препаратов по оплодотворению у родительских сортов и межвидового некротического гибрида Арандани × Гостианум 0237 позволяет установить, что в вариантах с внутрисортовым скрещиванием Арандани × Арандани, Гостианум 0237 × Гостианум 0237 (родительские сорта) через 30 мин после опыления происходит излияние со-

держимого пыльцевой трубки в полость зародышевого мешка. Через час после опыления в указанных вариантах наблюдается слияние спермиев с женскими ядрами, которое завершается через 2 часа образованием дополнительных ядрышек (рис. 1).

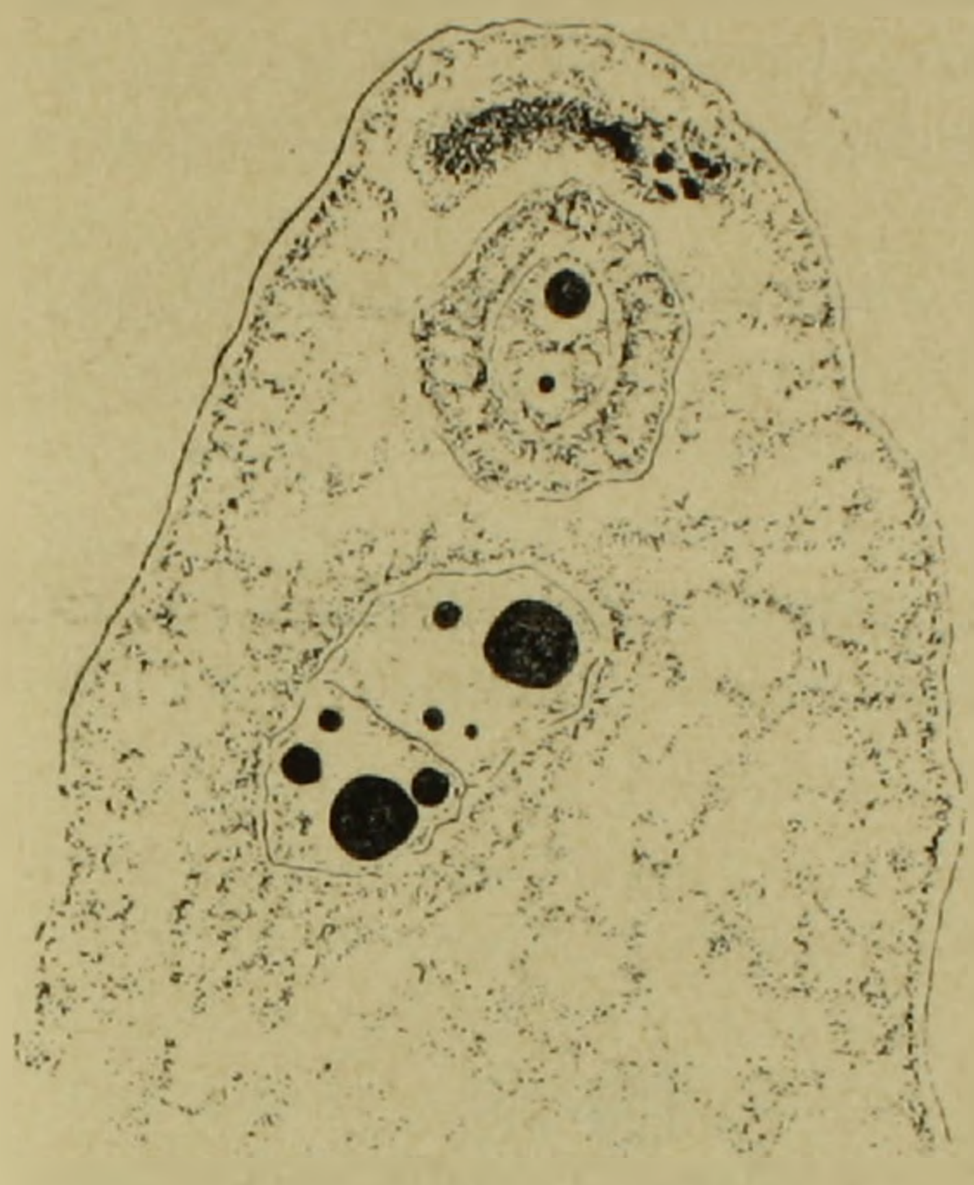

Рис. 1. Женские ядра с дополнительными ядрышками после слияния со спермиями.

Рис. 2. Двухклеточный зародыш, окруженный эндоспермальными ядрами.

В варианте межвидового скрещивания (Арандани×Гостианум 0237) спустя 30 мин и 1 час после опыления ни в одной из исследованных завязей не обнаружено излияния содержимого пыльцевой трубки в полость зародышевого мешка. В этом варианте этот процесс и слияние спермиев с женскими ядрами происходит заметно позднее, через 2—3 час. после опыления, одной из причин чего является, видимо, замедленный рост пыльцевых трубок одного вида в тканях столбиков другого—явление, нередко наблюдаемое при отдаленной гибридизации [2, 3, 5].

Через 5 час. после опыления при внутрисортовом скрещивании наступает первое деление оплодотворенного ядра центральной клетки. У межвидового некротического гибрида оно происходит через 7 час. после опыления, когда в зародышевых мешках родительских сортов уже образуется 4—6-ядерный эндосперм. Через 14 час. число эндоспермальных ядер в вариантах с внутрисортовым скрещиванием достигает 8—9, в то время как у межвидового некротического гибрида оно равняется 4—5.

Первое деление оплодотворенной яйцеклетки во всех вариантах наступает одновременно, через 24 час. после опыления; к 32 час. завершается образование двухклеточного зародыша (рис. 2). К этому времени число эндоспермальных ядер у родительских сортов достигает 52—61, у межвидового некротического гибрида оно едва доходит до 24—27. Таким образом, наблюдаемое на начальных этапах эмбриогенеза отставание в темпах развития эндосперма у межвидового некротического гибрида (по сравнению с родительскими сортами) увеличивается с возрастом.

Через 48 час. после опыления во всех вариантах формируется 6—8-клеточный зародыш и образуется клеточный эндосперм. В отличие от родительских сортов, у некротического гибрида клеточные перегородки между ядрами эндосперма в микропилярной части зародышевого мешка выражены нерезко и местами вообще отсутствуют. Видимо, переход ядерного эндосперма в клеточный здесь еще не завершен, что также свидетельствует об отставании темпов развития эндосперма в этом варианте, по сравнению с другими.

Во всех вариантах наблюдаются случаи амитотического деления ядер эндосперма путем почкования (рис. 3).

С 32-часового срока фиксации среди нормальных эндоспермальных ядер с 3—4 ядрышками замечается появление гигантских ядер с насыщенной хроматиновым веществом кариплазмой и 8—10 ядрышками (рис. 4). Наличие таких ядер эндосперма отмечено также другими исследователями и рассматривается ими как результат эндомитоза или слияния нескольких нормальных ядер [4, 7]. Нам кажется правомерным также предположение об образовании их вследствие гипертрофированного разрастания обычных ядер.

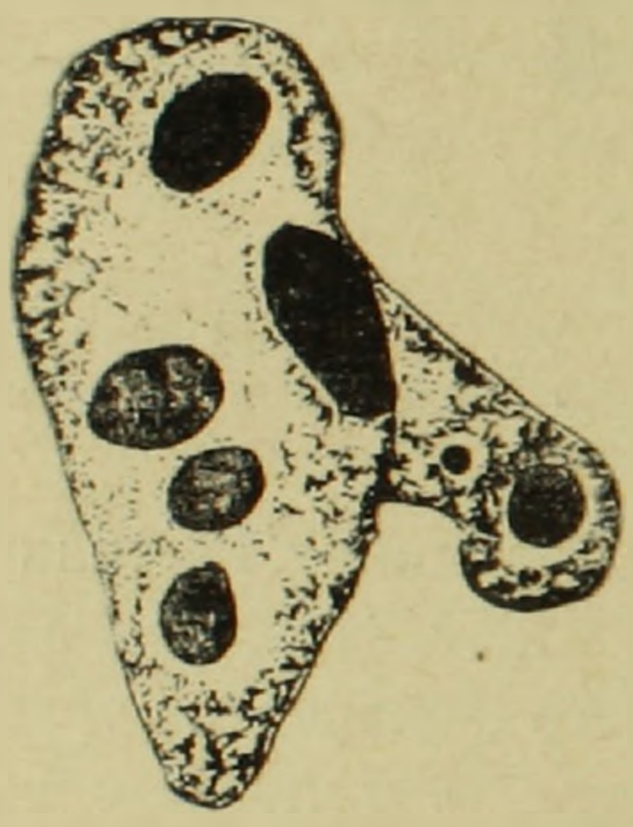

Рис. 3. Амитотическое деление эндоспермального ядра путем почкования.

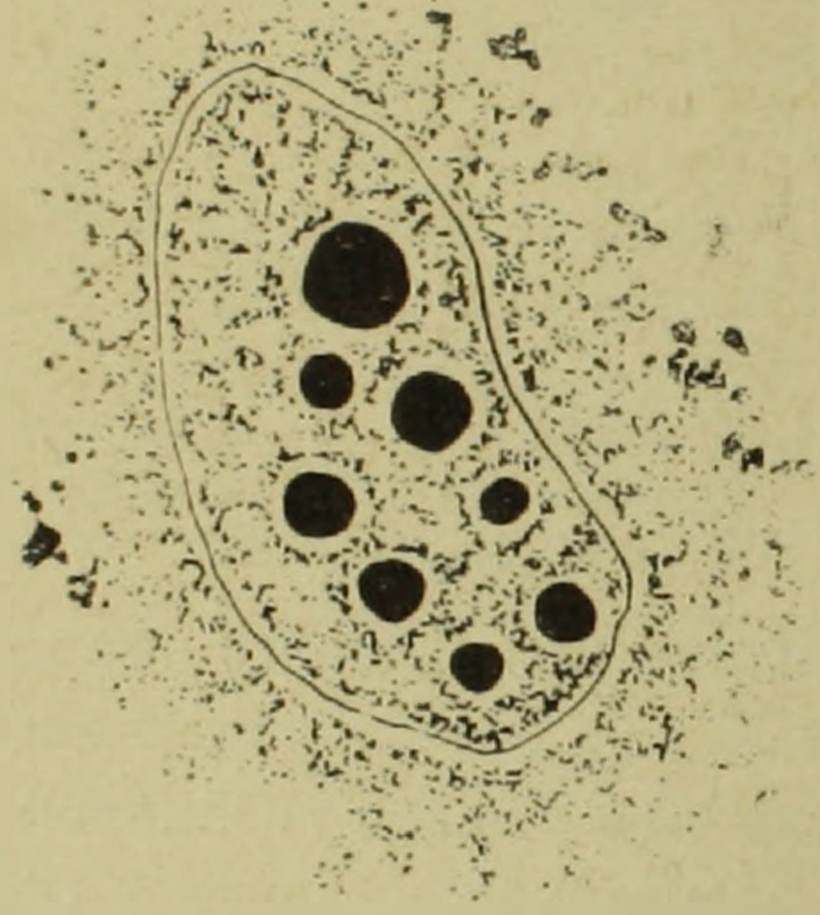

Рис. 4. Гигантское эндоспермальное ядро с 8-ю ядрышками.

Наряду с этим, в процессе развития эндосперма в эндоспермальных ядрах всех вариантов наблюдается тенденция к слиянию ядрышек с образованием громадных бесформенных ядрышковых телец. К 48 час. эта тенденция усиливается, охватывая бо́льшее число клеток и приобретая более глубокий характер. При этом все ядрышки сливаются в единую бесформенную массу, заполняющую все ядро. Кариоплазма темнеет и насыщается крупными хроматиноподобными структурами. Подобное гетеропикнотическое состояние ядер свидетельствует об их дегенерации. Дегенерирующие эндоспермальные ядра встречаются в основном в микропилярной, прилегающей к зародышу, части зародышевого мешка. Это позволяет предположить, что дегенерация и разрушение эндоспермальных ядер являются следствием повышенной потребности развивающе-

гося зародыша в питательных веществах, на удовлетворение которой и расходуются продукты распада этих ядер.

По предварительным наблюдениям, разрушение околозародышевого слоя эндоспермальных ядер у некротического гибрида выражено сильнее. Это, видимо, можно объяснить бóльшим дефицитом в питании зародыша, так как нормально развитому зародышу в этом варианте соответствует значительно менее развитый, по сравнению с другими вариантами, эндосперм.

Необходимо отметить, что в варианте с межвидовым скрещиванием Арандани × Гостианум 0237, наряду с описанными картинами развития зародыша и эндосперма, у некоторой части завязей обнаружены формы оплодотворения, резко отклоняющиеся от нормы.

Излияние содержимого пыльцевой трубки в полость зародышевого мешка и в этих случаях происходит с некоторой задержкой, по сравнению с вариантами внутрисортового скрещивания, но в общем нормально для межвидового гибрида. Слияние спермия с яйцеклеткой также осуществляется нормально, о чем свидетельствует появление дополнительных ядрышек в ядре. А вот судьба второго спермия остается неясной, так как никаких признаков слияния его с полярными ядрами обнаружить не удается. Во все сроки фиксации, начиная с трех часов, полярные ядра остаются тесно прижатыми друг к другу и содержат только по одному крупному ядрышку. Дополнительных ядрышек не обнаружено (рис. 5). Дальнейшего развития полярных ядер в таких зародышевых мешках не происходит.

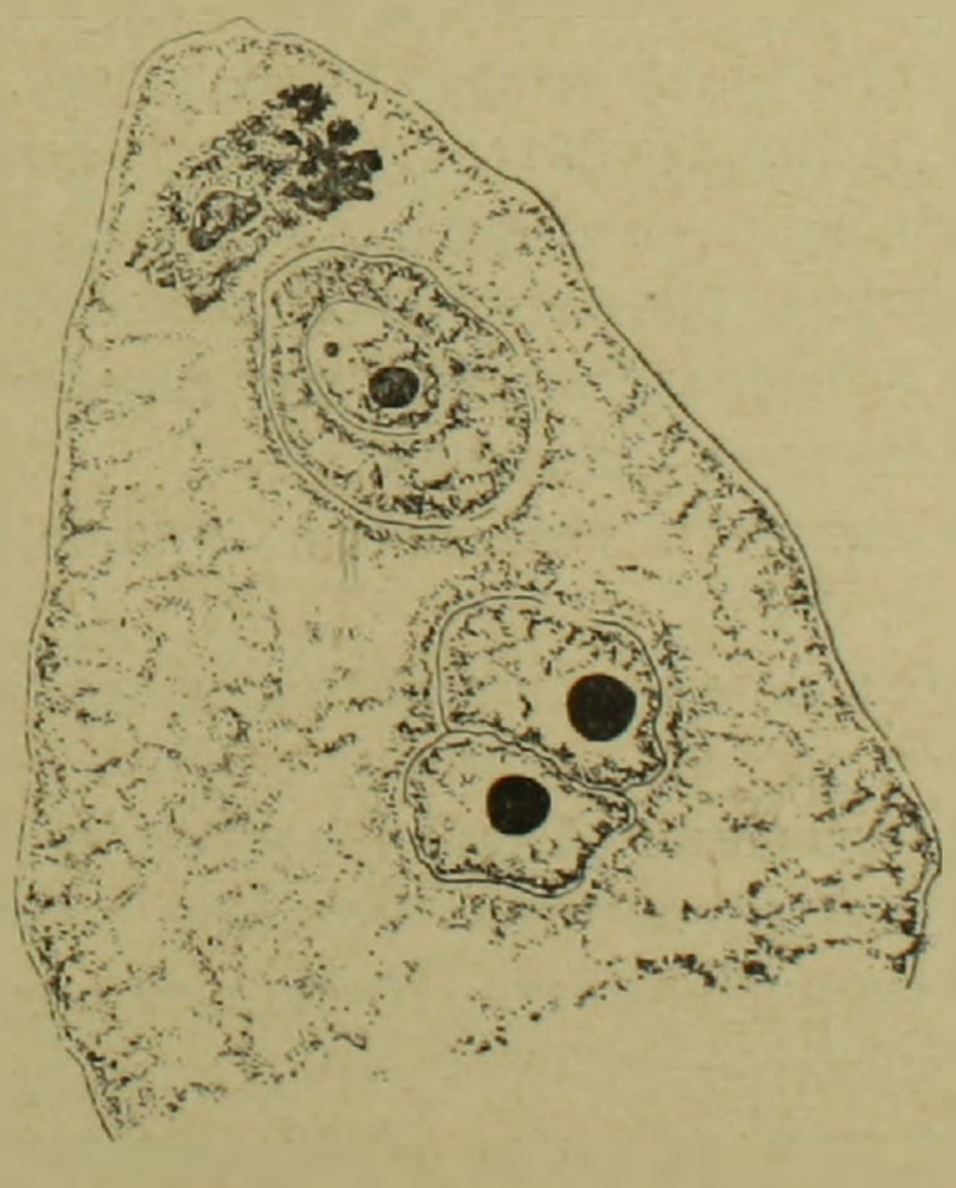

Рис. 5. Зародышевый мешок с оплодотворившейся яйцеклеткой и полярными ядрами без следов оплодотворения (дополнительные ядрышки отсутствуют).

Отсутствие дополнительных ядрышек в полярных ядрах дает основание предположить, что в подобных зародышевых мешках либо не происходит слияния второго спермия с полярным ядром, и спермий в этом случае дегенерирует, либо имеет место нормальное слияние гамет, но вследствие биохимической несовместимости в оплодотворенных полярных ядрах происходит подавление специфического функционирования хромосом в ядрышкообразующем локусе и блокировка образования дополнительных ядрышек. Так как синтетическая деятельность ядрышкового локуса и ядрышек непосредственно связана с процессами, подготавливающими деление, подавление этой деятельности приводит к блокировке митоза и прекращению развития первичного эндоспермального ядра. Это, в свою очередь, оказывает ингибирующее действие на процессы, связанные с развитием зиготы, вследствие чего деления последней с образованием зародыша не происходит.

Таким образом, сравнительное исследование раннего эмбриогенеза у межвидового некротического гибрида пшеницы Арандани×Гостианум 0237 и его родительских сортов позволяет прийти к выводу, что все характерные для гибрида особенности развития, отличающие его от родительских сортов, касаются развития первичного эндоспермального ядра и эндосперма и заключаются в подавлении темпов развития последних. Даже в случаях, представляющих резкое отклонение от нормы и приводящих к прекращению развития оплодотворенной яйцеклетки, причиной является отсутствие оплодотворения или блокировка развития полярных ядер.

В качестве одной из причин большей подверженности изменениям при гибридизации первичного эндоспермального ядра, по сравнению с зиготой, можно допустить триплоидную природу его. При гибридизации, особенно отдаленной, геномы родительских компонентов могут содержать гены, приводящие при комплементарном взаимодействии к возникновению той или иной формы биохимической несовместимости. Эта несовместимость со всеми ее последствиями будет сильнее там, где дозы генов выше, т. е. в данном случае в эндосперме.

На основании проведенных исследований можно сделать следующие выводы.

Рост пыльцевой трубки в тканях столбика, излияние ее содержимого в полость зародышевого мешка и слияние спермиев с женскими ядрами при межвидовой гибридизации (Арандани×Гостианум 0237) происходит медленнее, чем при внутрисортовой. Развитие эндосперма у межвидового некротического гибрида заметно отстает от родительских форм.

По характеру и темпам развития зародыша на ранних этапах эмбриогенеза не обнаружено разницы между межвидовым некротическим гибридом и родительскими сортами.

Наряду с указанными особенностями, у некоторой части завязей межвидового некротического гибрида Арандани×Гостианум 0237 наблюдаются формы развития, резко отклоняющиеся от нормы. При этом в зароды-

шевых мешках, вследствие отсутствия развития первичного эндоспермального ядра, яйцеклетка не развивается.

Лаборатория генетики
растений АрмНИИЗ

Поступило 24.IX 1971 г.

Ս. Հ. ՄՆԱՑԱԿԱՆՅԱՆ, Մ. Հ. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ, Ք. Հ. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ

ՅՈՐԵՆԻ ՄԻՋՏԵՍԱԿԱՅԻՆ ՆԵԿՐՈՏԻԿ ՀԻԲՐԻԴԻ ՎԱՂ ԷՄԲՐԻՈԳԵՆԵԶԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒՄԸ

Ամփոփում

Ուսումնասիրվել են փոշոտման ու բեղմնավորման, ինչպես նաև սաղմի զարգացման վաղ շրջանի տեմպերն ու բնույթը կարծր և փափուկ ցորենների Ne_1 և Ne_2 ֆակտորներ կրող սորտերի խաչաձևման ժամանակ (Արանդանի և Հոստիանում 0237)։ Համեմատությունը կատարվել է ծնողական ձևերի հետ (ներսորտային խաչաձևում)։

Պարզվել է, որ փոշեխողովակների աճը սոնակի հյուսվածքներում, նրանց ներթափանցումը սաղմնապարկ և սպերմաների միաձուլումն իգական կորիզների հետ միջտեսակային խաչաձևման ժամանակ կատարվում է ավելի դանդաղ, քան ներսորտայինի ժամանակ (ծնողական ձևեր)։

Էնդոսպերմի զարգացմամբ ևս միջտեսակային հիբրիդը ետ է մնում ներտեսակային հիբրիդներից։

Ըստ սաղմի զարգացման տեմպերի ու բնույթի միջտեսակային հիբրիդի և ծնողական ձևերի միջև տարբերություններ չեն նկատվել։

Նշված առանձնահատկությունների հետ մեկտեղ Արանդանի × Հոստիանում 0237 միջտեսակային լետալ հիբրիդի մոտ նկատված են նորմայից շեղվող զարգացում ունեցող սաղմնապարկեր։ Այսպիսի սաղմնապարկերում էնդոսպերմի առաջնային կորիզի զարգացման բացակայության հետևանքով նորմալ բեղմնավորված ձվաբջիջը չի զարգանում։

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бабаджанян Г. А.* Биологический журнал Армении, XXIII, 11, 1970.
2. *Батыгина Т. Б., Долгова О. А.* и *Коробова С. Н.* ДАН СССР, 136, 6, 1961.
3. *Медведева Г. Б.* Доклады ВАСХНИЛ, вып 1, 1936.
4. *Модилевский Я. С., Оксиюк П. Ф.* и др. Цитоэмбриология основных хлебных злаков. Киев, 1958.
5. *Поддубная-Арнольди В. А.* Общая эмбриология покрытосеменных растений. М., 1964.
6. *Саркисян Н. С., Мкртчян А. А., Бабаджанян Г. А.* Биологический журнал Армении, XXIV, 4, 1971.
7. *Шулындин А. Ф., Суркова Л. И.* Отдаленная гибридизация растений. 1970.
8. *Hermsen Y. J.* Genetica, 33, 1963.
9. *Zeven A. C.* Euphytica, 18, 1, 1969.