

А. Х. ДАНИЕЛЯН. А. С. КАРАГЕЗЯН

ЦИТОЭМБРИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ МИКРОСПОР И МУЖСКОГО ГАМЕТОФИТА ПРИ ОБЛУЧЕНИИ СЕМЯН ТАБАКА

Исследовалось влияние облучения семян разными дозами рентгеновских лучей на генеративную сферу табака. Предпосевное облучение семян вызывает ряд отклонений в развитии микроспор и мужского гаметофита, число которых увеличивается соответственно дозе облучения.

Одним из важнейших процессов проэмбрионального развития растений является микроспорогенез—образование микроспор, которые далее образуют пыльцевое зерно, мужской заросток или гаметофит.

В современных исследованиях огромное внимание уделено изучению мейоза у различных представителей покрытосеменных растений. Установлено, что нормальное течение мейоза, а также развитие гаметофита может быть нарушено под влиянием неблагоприятных условий, искусственного воздействия различными агентами (химическими, физическими).

Из литературных данных известно, что действие радиации проявляется с первых этапов мейоза. Наблюдаются изменения во вторичном археспории, что выражается в подавлении деления в некоторых его частях, в вакуолизации цитоплазмы, сильном сжатии хроматина и отхождении от ядерной оболочки. В диакинезе появляются униваленты и мультиваленты. Радиационные повреждения особенно четко проявляются в мета-, ана- и телефазе I и II делений. На этих этапах отмечается разнообразность хромосом по веретену, ацентрическое расположение хромосомной пластинки, отставание хромосом [5, 7], а также образование микроспороцитов с преждевременно расходящимися и отброшенными в цитоплазму хромосомами, слипанием хромосом [10].

Радиация оказывает тормозящее действие и вызывает дифференциацию тетрад микроспор. Нарушается синхронность деления. Вследствие асинхронности анафазы II с последующим образованием триады образуются гигантские пыльцевые зерна [8]. Иногда в одном микроспороците образуются три метафазные пластинки, результатом чего является образование шести ядер вместо четырех [11].

Из таких тетрад образуется большое количество стерильной пыльцы за счет микроспор с числом хромосом меньше гаплоидного [2].

При делении одноядерной пыльцы отмечается неравномерное расхождение хромосом и отставание их в анафазе [13]. Более того, наблюдается разбросанность хромосом в мета- и анафазе, вследствие чего

ядерное вещество распределяется неравномерно и не происходит дифференциации половых ядер [15]. Отмечается появление двух вегетативных клеток и от 2-х до 4 спермиев.

Все указанные нарушения при образовании микроспор имеются и при формировании мужского гаметофита. Это в первую очередь относится к размерам образующихся пыльцевых зерен—отмечены мелкие и гигантские зерна [2, 16]. Увеличение размеров пыльцевых зерен сопровождается повышением числа апертур [9]. Наблюдается также образование многоядерных—3,4 и 8—пыльцевых зерен [7, 13]. Радиация влияет на количество [17] и качество пыльцевых зерен. Под действием облучения пыльца формируется полустерильной [1], а с увеличением дозы отмечается полная стерильность [6, 14].

Таким образом, разными авторами у разных представителей покрытосеменных растений выявлены нарушения в процессе мейоза и формирования мужского гаметофита в результате действия различных факторов, в основном радиации

Материал и методика. Для выявления моментов мейоза и образования гамет нами в растворе Карнуа фиксировались бутоны разного возраста, собранные с растений табака сорта Самсун 36.

Изготавливались постоянные цитозембриологические препараты по общепринятой методике. Окраска в растворе Шиффа (реакция Фельгена) с подкраской лихт-грюном и гематоксилином по Гейденгайну. Рисунки выполнены с помощью микроскопа МБР-3 и рисовального аппарата РА-4.

Результаты и обсуждение. В статье приводятся данные о результатах исследований микроспорогенеза и микрогаметогенеза у растений табака при облучении семян разными дозами рентгеновских лучей (1, 2, 5, 7, 10, 20 и 25 кр). Подробного рода исследования проводились нами с облученной рассадой табака [4]. Все изучаемые варианты сравнивались с контролем, т. е. нормальным процессом образования микроспор и гамет, выявленным при изучении пыльников, собранных с необлученных растений. Эти данные согласуются с таковыми, довольно обстоятельно изложенными в работе Даниелян [3].

Ко времени образования археспориальной ткани стенки пыльника у табака состоят из 4-х слоев. Вскоре деление в археспориальной ткани полностью прекращается, и они становятся материнскими клетками микроспор—микроспороцитами. Последние переходят в состояние митотического покоя и подготавливаются к мейотическому делению, т. е. в микроспороцитах возрастает количество цитоплазмы, увеличиваются их ядра. По достижении определенных размеров микроспороциты вступают в профазу I-го мейотического деления. Эта фаза у табака, как и у абсолютного большинства других растений, является наиболее продолжительной по сравнению с другими фазами мейоза.

Следует отметить, что заметные изменения, возникшие под воздействием различных доз облучения, начинают выявляться именно начиная с профазы первого деления мейоза. До этого момента, несмотря

на огромное количество просмотренного материала по всем вариантам опыта, отклонения от нормы нами не отмечены.

Ядра микроспороцитов проходят все стадии I мейотического деления от появления в них тонких длинных хроматиновых нитей до окончания кинеза. Обычно процессы, протекающие во всех гнездах одного и того же пыльника у табака, отличаются синхронностью [3]. Однако под действием облучения эта синхронность нарушается, что проявляется на всех этапах споро- и гаметогенеза. Так, нередко в одном и том же гнезде пыльника, можно встретить различные фигуры I деления мейоза от метафазы до телофазы (табл. 1, рис. 1). Более того, этапы деления протекают с заметными нарушениями: наблюдается отставание хромосом, выброс группы хромосом вне сферы веретена, опережающие хромосомы и т. д. Иногда синхронность нарушается до такой степени (табл. 1, рис. 2), что в пределах одного и того же гнезда пыльника встречаются фигуры и I, и II деления мейоза, с нарушениями, отмеченными выше. В анафазе—телофазе хромосомы неодновременно и неправильно расходятся к полюсам, неполностью включаются в образующиеся четыре ядра (табл. 1, рис. 3), а остальные обособляются в отдельные группы, в конечном итоге образуя микроядра. Последние на более поздних стадиях развития лизируются, а микроспоры не получают гаплоидного набора хромосом.

После образования тетрад микроспор начинается лизис их оболочек. Вначале, сразу же после распада тетрад, одноядерные микроспоры имеют вид голых протопластов, и от внешней среды их отделяет лишь тонкий слой плазматической мембраны. В дальнейшем обособленные микроспоры вакуолизируются, покрываются четко выраженной экзиной и интиной, а внутри пыльцевого зерна протекают процессы, которые в итоге приводят к образованию мужских половых клеток.

Для табака характерен двухклеточный тип пыльцевого зерна. Этот факт был подтвержден при изучении многочисленных пыльников с пыльцевыми зернами контрольного варианта. Картина изменяется при изучении препаратов других вариантов, где семена табака были подвергнуты воздействию той или иной дозы облучения.

В первую очередь отмечается разница в величине пыльцевых зерен. Обычно в контрольном варианте пыльца у табака трех- или четырехборозднопоровая, округлой или овальной формы, почти одинаковых размеров. При облучении семян в растениях формируются пыльцевые зерна разных размеров, причем с увеличением дозы облучения количество мелких зерен значительно возрастает (табл. 1, рис. 4). Так, если при облучении в дозе 1 кр количество недоразвитых пыльцевых зерен составляет 11,1%, то при более высокой дозе 5 кр мелких пыльцевых зерен намного больше (12,8%). А облучение в дозе 20 кр вызывает появление гигантских пыльцевых зерен.

Существует также прямая зависимость между дозой облучения и увеличением количества стерильных пыльцевых зерен. Так, при минимальной дозе в 1 кр количество стерильных зерен, которые в отличие от

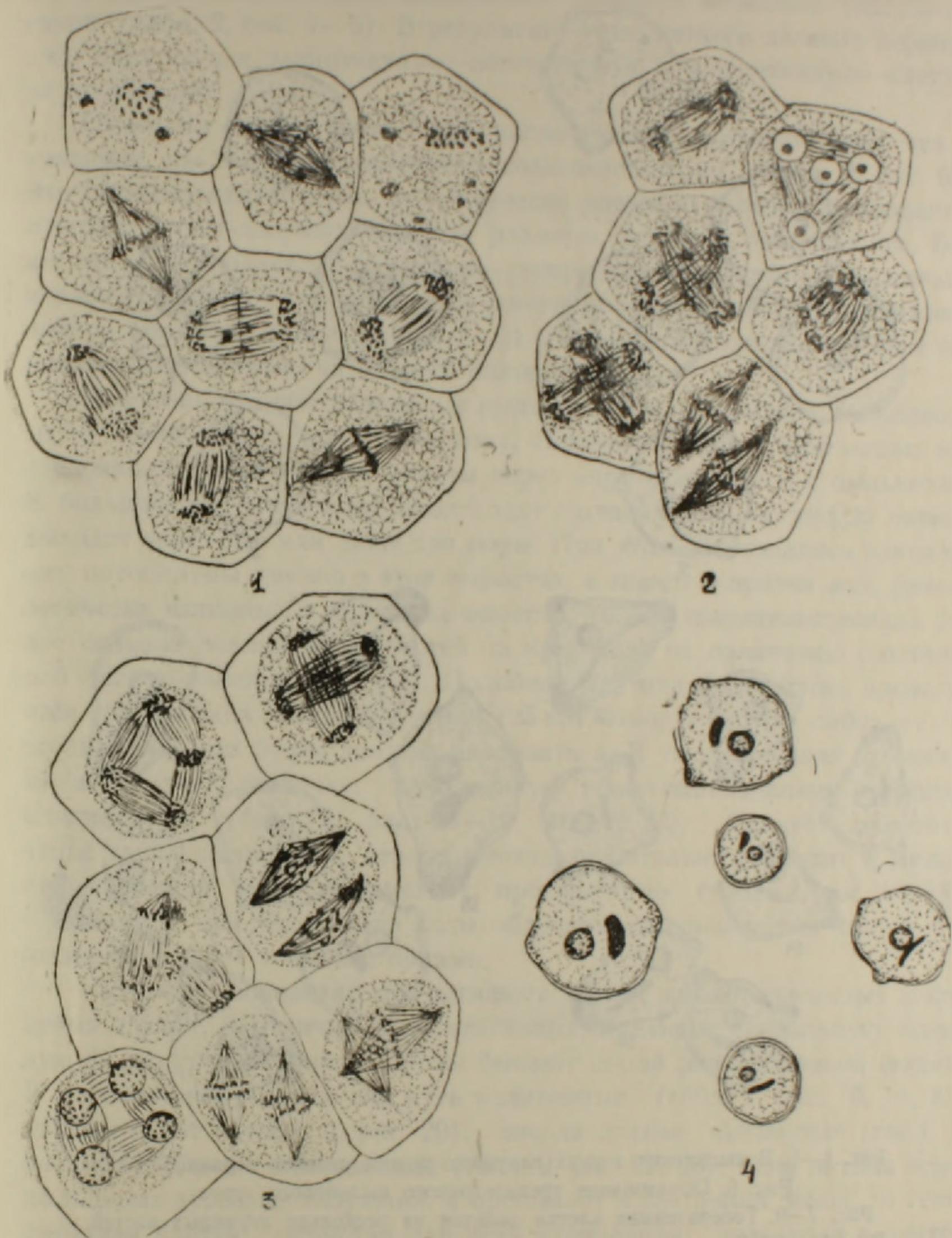


Рис. 1. Часть пыльника табака. В одном и том же гнезде пыльника видны различные фазы I деления мейоза.

Рис. 2. В одном гнезде пыльника встречаются фигуры как первого, так и второго деления мейоза.

Рис. 3. Мейоз в материнских клетках микроспор протекает с нарушениями.

Рис. 4. В пыльниках формируются пыльцевые зерна разных размеров.

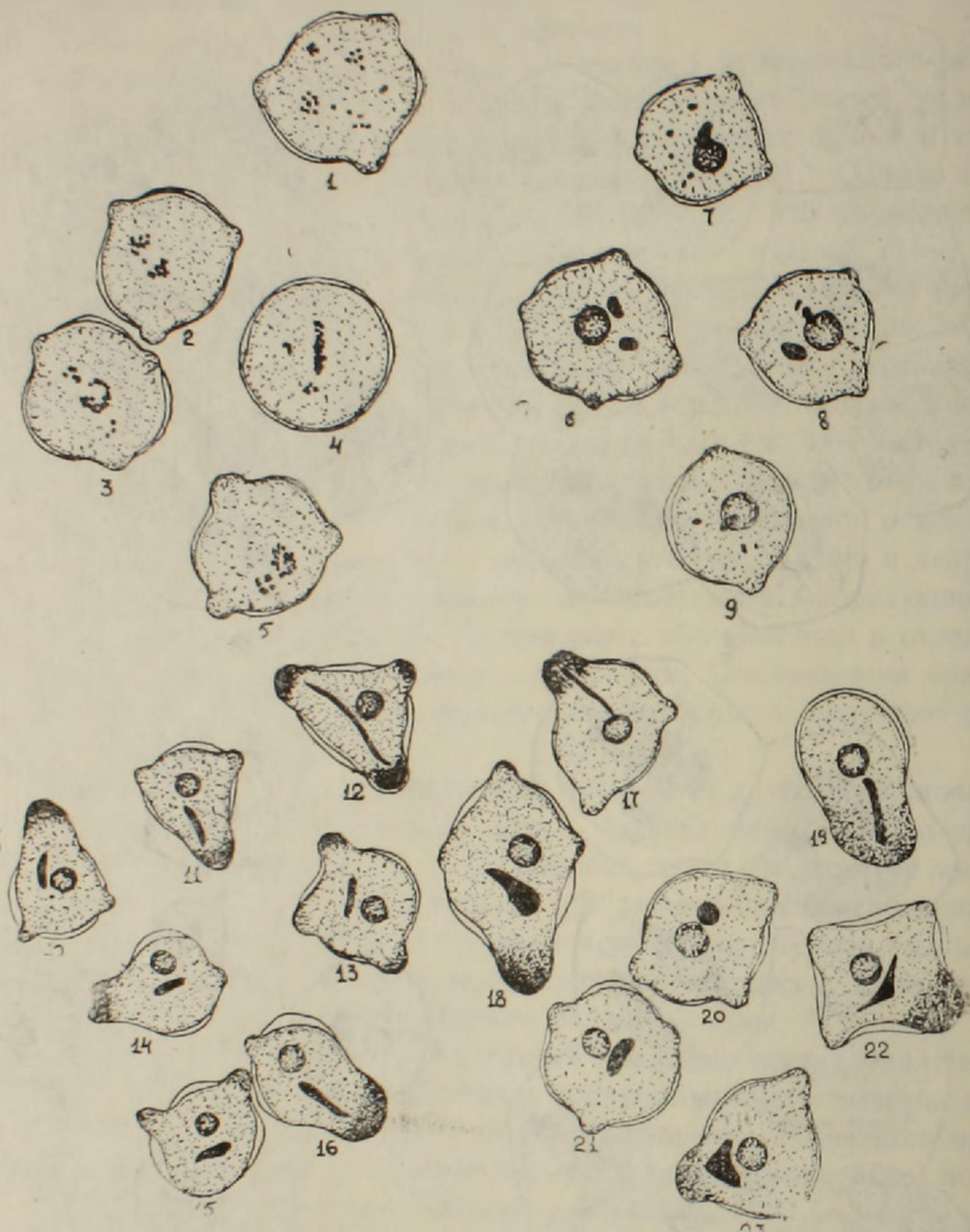


Рис. 1—5. В пыльцевых зернах нарушено первое деление первичного ядра.

Рис. 6. Образование трехклеточного пыльцевого зерна.

Рис. 7—9. Генеративная клетка делится на несколько неравных частей.

Рис. 10—23. В зависимости от состояния пыльцевого зерна генеративные клетки принимают различную форму.

фертильных очень бедны цитоплазмой, сморщенные и как бы пустые, составило 2,6%. С увеличением дозы их стало больше (при 5 кр—2,8, 7 кр—6,5%), а при самых высоких испытываемых дозах в 20 и 25 кр количество их составило соответственно 14,1 и 31,3%.

Нами были отмечены нарушения и другого характера. В пыльцевых зернах при первом делении первичного ядра, все хромосомы, образующие пластинку, располагаются не в одной плоскости, и не компакт-

ны, а разбросаны по всей цитоплазме, образуя несколько отдельных групп (табл. 2, рис. 1—5). В результате этого четкого деления первичного ядра на две равнозначные—вегетативную и генеративную—клетки не происходит.

Отмечены случаи (доза 7 кр), когда вместо двухклеточного, как в контроле, мы видим трехклеточное пыльцевое зерно (табл. 2, рис. 6). Это свидетельствует о том, что облучение ускорило процесс образования мужских гамет-спермиев. Однако размеры спермиев неодинаковы. Более того, наблюдается разделение генеративной клетки на несколько неравных частей, т. е. спермии не имеют положительного гаплоидного набора хромосом (табл. 2, рис. 7—9). Несомненно, это окажет свое отрицательное влияние на процесс оплодотворения.

Известно, что при попадании пыльцы на рыльце интина пыльцевого зерна, выпячиваясь через одну пору, образует трубку. При наших исследованиях выпячивание интины через пору отмечалось в пыльниках. В большинстве случаев это происходит с одной порой, но иногда интина выходит через две или даже три поры. При этом наблюдалось накопление цитоплазмы именно в этих выростах, а значит и приток всех физиологически активных и запасных веществ, о чем свидетельствовала более сильная реакция этих частей на красители по сравнению с остальной частью пыльцевого зерна. Подобная картина более четко проявляется при высоких дозах облучения (25 кр). Иногда интина набухает настолько, что как будто должна разорваться. В таких случаях это напоминает нарост, шапочку, наполненную темно-окрашенными зернами или каплями (табл. 2, рис. 10—12, 16—20, 23). Следует отметить, что в таких пыльцевых зернах интина значительно отходит и между ней и экзиной имеется заметное пространство (табл. 2, рис. 16, 18). Кроме того, при увеличении дозы облучения увеличивается количество пыльцевых зерен с такими порами.

Интересно поведение генеративных клеток в вышеописанных пыльцевых зернах. В отличие от вегетативных, имеющих стабильную округлую форму, генеративные клетки бывают самой разнообразной формы. В большинстве случаев они чуть удлиненные (табл. 2, рис. 10, 14, 21) или округлые (табл. 2, рис. 20), иногда сильно вытянутые (табл. 2, рис. 12, 17), реже клиновидные (табл. 2, рис. 22, 23). Если интина поры пыльцевых зерен не набухшая и пребывает в состоянии покоя, то генеративная клетка, округлая или чуть удлиненная, находится в центре пыльцевого зерна рядом с вегетативной (табл. 2, рис. 20). И как только интина выпячивается, генеративная клетка вытягивается и острием направляется в эту часть поры (табл. 2, рис. 17). Если интина выходит в две поры, то один конец генеративной клетки направлен в сторону одной поры, а другой вытянутый конец—в сторону другой (табл. 2, рис. 12). В своем движении генеративная клетка ориентирована в сторону поры, через которую выходит интина, в дальнейшем образующая пыльцевую трубку.

Таким образом, облучение семян табака вызывает ряд отклонений в развитии микроспор, мужского гаметофита, число которых увеличивается соответственно дозе облучения.

Ереванский государственный университет,
кафедра генетики и цитологии

Поступило 18.V 1974 г.

Ա. Խ. ԳԱՆԻԵԼՅԱՆ, Ա. Ս. ԿԱՐԱԳՅՈՉՅԱՆ

ՄԻԿՐՈՍՊՈՐՆԵՐԻ ԵՎ ԱՐԱԿԱՆ ԳԱՄԵՏՈՖԻՏԻ ԶԱՐԳԱՑՄԱՆ
ԲՋՋԱՍԱՂՄՆԱԲԱՆԱԿԱՆ ԱԹԱՆՉՆԱՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ՄԵԱԽՈՏԻ
ՍԵՐՄԵՐԻ ՃԱՌԱԳԱՅԹԱՀԱՐՄԱՆ ԳԵՊՔՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ու մ

Մեր կողմից ուսումնասիրվել են միկրոսպորոգենեզի և առական գամետոֆիտի զարգացման ընթացքը տարբեր դոզաներով (1, 2, 5, 7, 10, 20, 25 կր) ճառագայթահարված սերմերից ստացված ծխախոտի բույսերի մոտ:

Պարզվել է, որ փոփոխությունները հանդես են գալիս մեյոզի առաջին պրոֆազայից սկսած: Նախ և առաջ խախտվում է փոշեպարկի բներում ընթացող պրոցեսների սինխրոնությունը, որը հատուկ չէ ծխախոտի բույսերին նորմալ պայմաններում: Եվ այդ սինխրոնությունը նկատելի է սպորո- և գամետոգենեզի ամբողջ ընթացքում:

Արական գամետոֆիտի առաջացման ընթացքում նկատվել են հետևյալ խախտումները: Նախ և առաջ փոշեպարկերում ձևավորվում են տարբեր շափերի փոշեհատիկներ, ընդ որում մանր փոշեհատիկների քանակը ճառագայթահարման դոզային զուգընթաց ավելանում է: Նույն օրինաչափությունը նկատվում է ստերիլ փոշեհատիկների առաջացման մեջ: Խախտված է փոշեհատիկի առաջնային կորիզի բաժանման ընթացքը, որի հետևանքով երկկորիզանի փոշեհատիկի փոխարեն առաջանում է եռկորիզանի: Նկատվում է գեներատիվ կորիզի բաժանումը երկուսից ավելի անհավասար մասերի, այսինքն սպերմիաները չեն ունենում բրոմոսոմների հապլոիդ քանակ:

Այսպիսով, սերմերի ճառագայթահարումն առաջ է բերում մի շարք շեղումներ միկրոսպորների և արական գամետոֆիտի զարգացման պրոցեսում, որոնց քանակն ավելանում է ճառագայթահարման դոզայի բարձրացմանը համապատասխան:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бияшев Г. З., Сеилова Л. Б. Институт ботаники АН Казахской ССР, 1971.
2. Воробьева Г., Егамбердиев А., Сароцулу М. Генетические исследования хлопчатника, ФАН СССР, Ташкент, 1971.
3. Даниелян А. Х. Канд. дисс., Ереван, 1963.
4. Даниелян А. Х. Мат-лы Всесоюзн. симп., посв. 75-летию открытия акад. Навашиным двойного оплодотворения у покрытосеменных растений. М., 1973.
5. Жученко А. А., Грати В. Г., Андриюшенко В. К., Сафронова Л. И., Маслова Н. Ф., Нютин Ю. И., Выродов Д. А. Мат-лы Всесоюзного симп., посвященного 75-летию открытия акад. Навашиным двойного оплодотворения у покрытосеменных растений, М., 1973.

6. Камалова Г. В. Узб. биол. журн., 5, 1972.
7. Кузин А. М. Очерки по радиобиологии, М., 1962.
8. Лишенко И. В. Цитология и генетика, 2, 3, 1968.
9. Мигаль Н. Д., Коваленко В. М. Цитология и генетика, 4, 1970.
10. Радченко О. Н. Мат-лы Всесоюзн. симп., посвящ. 75-летию открытия акад. Навашниным двойного оплодотворения у покрытосеменных растений, М., 1973.
11. Руденко И. С. Цитология и генетика, 2, 4, 1968.
12. Руми В. А., Скокова А. А., Асриян Н. С. Генетическое исследование хлопчатника. ФАН, Ташкент, 1971.
13. Савченко И. И., Белоус В. Е., Ластович А. С. Мат-лы семинара по эмбриологии растений, 1973.
14. Сидорский А. Г. Радиобиология, 7, 1, 1967.
15. Скокова А. С., Асриян Н. С. АН ВСИО, IV Всесоюзн. совещ. по эмбриологии растений, 1971.
16. Суружу А. И. Мат-лы семинара по эмбриологии растений, 1974.
17. Узенбаев К. Х., Острикова В. М. Изв. АН Казахской ССР, серия биологическая, 3, 1972.