

В. А. РЫБИН
ПОЛУЧЕНИЕ ТЕТРАПЛОИДОВ У КОНОПЛИ ПУТЕМ
ВОЗДЕЙСТВИЯ КОЛХИЦИНОМ

(Представлено академиком Н. И. Вавиловым 14 VI 1939)

Конопля была избрана мною в качестве объекта в опытах получения тетраплоидов по методу Блексли (1) по следующим соображениям. Приложимость балансовой теории определения пола к растительным объектам в последнее время была с особенной обстоятельностью показана в работе Ямамото (2) над щавелем. Поэтому вряд ли можно сомневаться в том, что экспериментально вызванная полиплоидия у конопли будет сопровождаться появлением у нее интерсексов. Между тем получение генотипически обоеполой конопли представило бы, несомненно, большой теоретический, а возможно и практический интерес.

Опыты проводились на двух образцах конопли, полученных из отдела технических культур Всесоюзного института растениеводства: Новгород-Северской (Детское Село, урожай 1937) и Итальянской 1797 (1).

Растения по достижении 20—30 см в высоту, когда они имели пару простых и две пары сложных листьев, погружались на сутки в 0.05—0.1%-й водный раствор колхицина. Перед погружением в колхицин простые листья, так же как и листочки сложные, обрезывались ножницами примерно на $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{2}$ их длины с целью облегчить поступление колхицина в ткани растения.

Погружение в раствор колхицина ни в одном случае не вызвало гибели растений.

Через 18—20 дней после погружения в колхицин опытные растения обнаружили характерные изменения (фиг. 1). Побеги имели более темную окраску. Листочки сложного листа имели как бы помятый вид, неправильную зубчатость краев листа, часто несимметричное развитие правой и левой половинок листочка, несколько тусклую, матовую поверхность пластинки. В местах отхождения боковых ветвей наблюдались своеобразные вздутия, напоминавшие по внешнему виду наплывы каллуса. Часто боковые побеги по своему диаметру в 2—3 раза превосходили диаметр главного стебля. Поперечные и плоскостные срезы листовых пластинок измененных листьев показали, что по сравнению с нормальными измененные листья обладают: 1) большей толщиной пластинки, 2) более крупными клетками паллисадной паренхимы, 3) более крупными волосками и замыкающими клетками устьиц (2).

(1) Оба образца были отобраны и переданы мне научным сотрудником Н. А. Беловицкой, за что выражаю ей мою искреннюю признательность.

(2) Блексли и Уормки (3) рекомендуют для обнаружения полиплоидных побегов на женских растениях конопли, где нет возможности пользоваться сравнением размера пыльцевых зерен, равно как и производить исследование мейозиса в пыльниках при помощи ацет-кармина, сравнивать анатомические элементы прицветников.

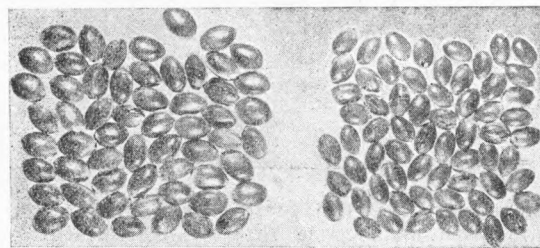
В настоящей статье я останавливаюсь более подробно лишь на одной паре опытных растений Новгород-Северской конопли горшка № 1, поскольку к настоящему времени лишь от них мною выращено тетраплоидное потомство (семена остальных опытных растений еще не высевались).

Мужское растение горшка № 1 цвело раньше женского, имело более крупные по сравнению с контролем цветки и пыльцу, состоявшую из смеси крупных и нормальных по размеру зерен. Женское растение зацвело на 40 дней позже. В это время цвело мужское растение Новгород-Северской конопли в горшке № 10. Оба растения этого горшка, как мужское, так и женское, несли описанные выше типичные признаки воздействия колхицина. Женское растение № 1 было помещено под находившимся в полном цвету мужским растением № 10. Изоляция обоих растений произведена не была и таким образом растение № 1 имело возможность частично опылиться и пыльцой, занесенной с других опытных и контрольных растений, цветших в другом конце оранжереи. Через 18 дней растение № 1 закончило цветение, завязав значительное количество семян. Семена собирались постепенно по мере их созревания. При сборе семян было замечено, что семена растения № 1 резко различны по своей величине: семена главного стебля и его боковых мелких веточек оказались вдвое крупнее семян двух больших боковых ветвей (фиг. 2). Столь резко выступавшее различие в величине семян наводило на мысль о том, что растение № 1 представляет собой химеру, у которой главный стебель с его мелкими веточками состоит из ткани, отличающейся



Фиг. 1. Слева—измененные под влиянием колхицина растения Итальянской конопли, справа—контроль

по числу хромосом от двух боковых ветвей. Для проверки этого предположения я прорастил, не дожидаясь весны, 6 крупных семян, собранных с главного стебля, обозначаемого далее как «ветвь D», и 6 мелких семян с двух боковых ветвей B и C. Цитологическое исследование главных корешков 6 сеянцев ветвей B и C и 5 сеянцев ветви D (корешок шестого сеянца был случайно погублен после фиксации) обнаружило, что все 6 сеянцев ветвей B и C имеют по 20 хромосом, тогда как все 5 исследованных сеянцев ветви D имеют тетраплоидное число 40.

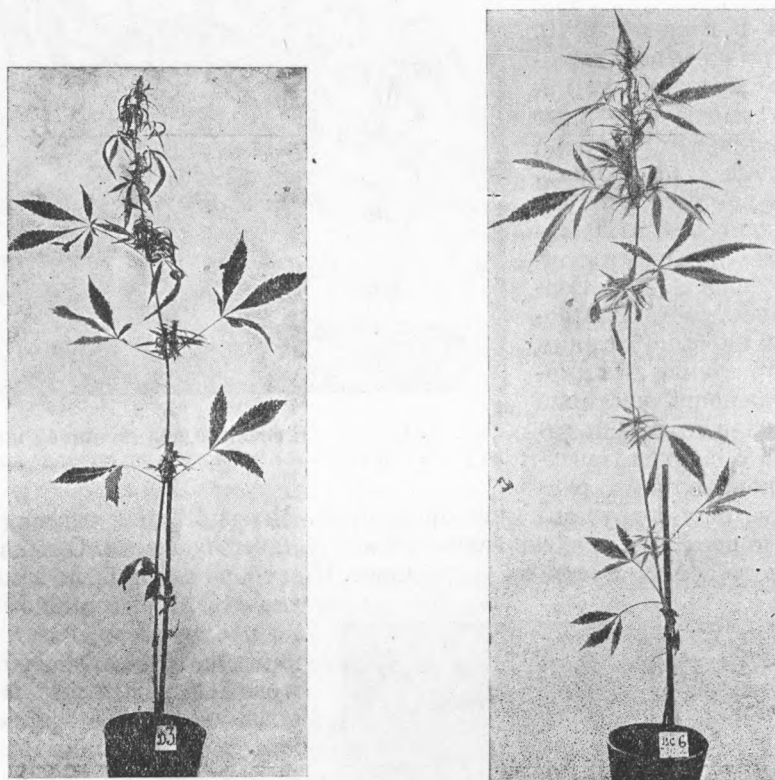


Фиг. 2. Семена Новгород-Северской конопли № 1: слева с боковых ветвей B и C, справа с главного стебля

При исследовании препаратов подтвердились данные Литардьера (4),

впервые указавшего, что в периферии кончика корня у конопли наблюдается значительное число клеток с числом хромосом, вдвое превышающим число хромосом в клетках плеромы. Интересно, что та же закономерность была обнаружена мною и у тетраплоидов; у последних в периферии большинства клеток имело октоплоидное число хромосом—80. Тетраплоидные пластинки у диплоидов и октоплоидные у тетраплоидов наблюдались мною и в плероме, но сравнительно в небольшом числе, что находится в согласии с данными Литардьера (4), полученными им при исследовании диплоидной конопли.

Два сеянца ветви *D* и один из ветвей *B* и *C* погибли по случайной причине на стадии двух первых листочков, а оставшиеся 4 тетраплоидных



Фиг. 3. Выращенные на электрическом свету женские растения конопли: слева тетраплоидное *D-3*, справа диплоидное *BC-6*

растения и 5 диплоидных были выращены на электрическом свету в лаборатории свето-физиологии Физико-агрономического института⁽¹⁾.

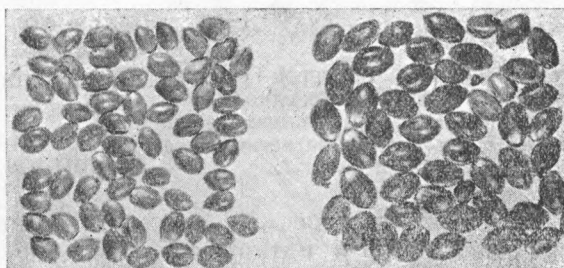
Все 4 тетраплоидных растения оказались женскими, а среди 5 диплоидных растений оказалось 2 мужских и 3 женских. Выращенные на электрическом свету растения конопли характеризовались малой облиственностью и удлинненными междоузльями (фиг. 3). Тетраплоидные растения отличались от диплоидных иным соотношением длины и ширины листочков сложного листа: у тетраплоидов отношение ширины

⁽¹⁾ Приношу благодарность заведывающему лабораторией проф. В. П. Мальчевскому, предоставившему мне возможность пользоваться оранжереей лаборатории. Я с признательностью отмечаю и ту помощь при выращивании растений, которую я получил со стороны научного сотрудника С. И. Доброхотовой.

листочков к их длине было больше. Клетки эпидермиса, палисадной и губчатой паренхимы и волоски у тетраплоидов значительно крупнее. С генеративной стороны растения, выращенные на электрическом свете, были вполне нормальны. Исследование мейозиса в пыльниках диплоидного растения *BC-5*, произведенное при помощи ацет-кармина, обнаружало его правильность. В метафазах гетеротипного деления во всех случаях было сосчитано по 10 бивалентов. Пыльца обоих диплоидных растений имела нормальную форму и размеры и хорошо прорастала на сахарном растворе.

Ввиду отсутствия среди тетраплоидов мужских растений⁽¹⁾, их пришлось опылить пылью диплоидных растений *BC-1* и *BC-5*. В результате этого опыления все 4 тетраплоидных растения завязали значительное количество семян. Семена тетраплоидных растений по размеру очень сильно превышали семена диплоидных растений (фиг. 4) и все должны иметь триплоидное число хромосом, поскольку опылителем было диплоидное растение⁽²⁾.

Из остальных опытных растений я остановлюсь здесь лишь на двух растениях Новгород-Северской конопля горшка № 6. На обоих растениях этого горшка погружение в колхицин сказалось особенно сильно. Мужское растение сильно задержалось в росте и осталось карликовым, достигнув в высоту всего 30 см. Листья его отличались особенно интенсивной темнозеленой окраской и заметной уродливостью листовых пластинок. Растение произвело небольшое число крайне уродливых цветков. Пыльники последних



Фиг. 4. Семена растений Новгород-Северской конопля, выращенных на электрическом свете: слева диплоидного растения, справа тетраплоидного

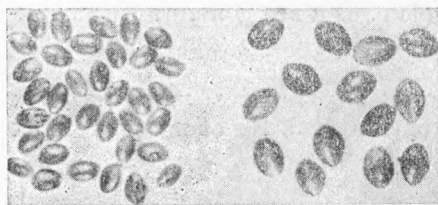
были сильно деформированы и имели выросты, по форме напоминавшие уродливые рыльца⁽³⁾. С помощью иглы из пыльников можно было извлечь пыльцу. Последней было мало. Пыльцевые зерна отличались очень крупными размерами, в 3—4 раза превосходя нормальные. Среди крупных зерен в смеси с ними были и зерна меньшего размера. Женское растение тоже очень сильно задержалось в развитии и имело явно уродливый вид. Главный стебель отмер и вместо него развились два сильных боковых побега и несколько более слабых побегов. Последние несли сильно деформированные листья с очень неправильными листочками. Растение выделялось среди остальных очень темной окраской листьев и почти вдвое меньшей высотой. Зацвело оно позже остальных опытных растений и ввиду того, что при цветении без изоляции на нем не было заметно завязывания семян, несмотря на то, что оно стояло в группе других растений, на него в продолжение ряда дней стряхивалась пыльца

⁽¹⁾ Любопытно, что одно из тетраплоидных растений (*D-3*) образовало в середине цветения небольшое количество мужских цветков, сидевших пучками и поодиночке среди женских цветков. Несмотря на нормальный внешний вид, пыльца растений *D-3* на растворе сахара не проросла.

⁽²⁾ Теоретически среди семян этого опыления должны находиться интерсексы состава XXU .

⁽³⁾ Отмечу, что цветки мужского растения горшка № 6 очень близко соответствовали изображению уродливых обоеполых цветков, помещенному в работе Корренса⁽³⁾ и заимствованному им из работы Шаффнера.

с опытных растений Итальянской конопли № 7 и 8. Оба последних растения имели пыльцевые зерна очень крупных размеров, вдвое превышавших контроль. При сборе семян с растения № 6 обнаружилось, что большинство плодов было пустых, нешигментированных, неодинакового размера. Однако кроме семян с уродливых веточек было собрано несколько десятков нормально развитых очень крупных семян. По своим размерам эти семена превышали тетраплоидные семена ветви *D* растения № 1 (фиг 5). При просмотре плоскостных срезов с поверхности листьев уродливых веточек растения № 6 обнаружилось, что эпидермис несет очень крупные волоски, в 3—4 раза превосходящие волоски листьев контрольных растений. Очень большими размерами отличались и замыкающие клетки устьиц. Пониженная плодовитость, размеры семян, в 3—4 раза превышающие



Фиг. 5. Семена Новгород-Северской конопли: слева диплоидной ветви растения № 1, справа измененной воздействием колхицина ветви растения № 6

норму, и очень крупные по сравнению с контролем волоски и устьица позволяют думать, что уродливые веточки растения № 6 имеют не тетраплоидное, а октоплоидное число хромосом.

У полученных мною четырех тетраплоидных растений первого поколения пол не изменился (¹. Изменение пола не наблюдалось и у тетраплоидных растений конопли, полученных Блексли и Уормки (³), равно как и у десяти тетраплоидных растений *Melandrium album*, полученных Вестергардом (⁷). Блексли (⁸) получил у конопли и тетраплоидное F_2 , но о выраженности пола у растений этого поколения автор в цитируемой работе ничего не говорит.

Приведенные в настоящем сообщении факты позволяют сделать следующие выводы.

1. Под влиянием воздействия растворов колхицина на молодые растения конопли у последней легко возникают побеги с полиплоидным числом хромосом.
2. Измененные побеги нетрудно обнаружить по внешнему габитусу, размерам пыльцы, толщине листовой пластинки и размерам анатомических элементов листа (волоски, замыкающие клетки устьиц, клетки палисадной паренхимы).
3. Тетраплоидные побеги не обнаруживают в какой-либо степени пониженной плодовитости и дают нормальное количество семян.
4. Наблюдается определенная положительная корреляция между числом хромосом и размером семян—семена тетраплоидные в 2—3 раза крупнее диплоидных.
5. Кроме тетраплоидных побегов на растениях, подвергавшихся воздействию колхицина, возникают, повидимому, и побеги с более высоким числом хромосом.

Всесоюзный институт растениеводства
Ленинград

Поступило
19 VI 1939

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ A. F. Blakeslee a. A. G. Avery, *Hered.*, 28, 393—411 (1937). ² I. I. Yamamoto, *Mem. Col. Agr. Kyoto Imp. Univ.*, 43, 1—59 (1938). ³ A. F. Blakeslee a. H. E. Warmke, *Sci.*, 88, 440—441 (1938). ⁴ R. de Litardière, *La Cellule*, 35, 21—25 (1925). ⁵ C. Correns, *Bestimmung, Vererb. u. Verteil. d. Geschlechtes b. d. höheren Pflanzen*, Berlin (1928). ⁶ K. Hirata, *Journ. Genet.*, 19, 65—79 (1927). ⁷ M. Westergaard, *Nature*, 142, 917—918 (1938). ⁸ Carnegie Inst. Washington. *Ann. Rep. of the Director, Year Book*, 37 (1938).

(¹ Согласно данным Хирата (⁶), наследование пола у конопли происходит по ХУ типу. Гетерогаметичным является мужской пол.