

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

В. А. РЫБИН

**ПОЛУЧЕНИЕ ТЕТРАПЛОИДОВ У ЛЬНА ПУТЕМ ВОЗДЕЙСТВИЯ
КОЛХИЦИНОМ**

(Представлено академиком Н. И. Вавиловым 9 X 1938)

Среди растений различных семейств, избранных мной в качестве объектов для проведения опытов по получению полиплоидных форм по методу Блексли (1), было взято несколько образцов льна.

В настоящей статье я останавлиюсь более подробно на опыте с одним из этих образцов, именно с аргентинским масличным льном (№ 1163 по каталогу Отдела льна и конопли ВИР), поскольку опыт с этим образцом доведен до конца и дал положительный результат*.

Поскольку метод получения полиплоидных форм путем воздействия колхицином несомненно будет играть важную роль в генетико-селекционной работе, а между тем литературные указания касательно оптимальных условий, необходимых для получения эффекта удвоения числа хромосом у различных объектов, довольно скудны,—считаю полезным привести описание опыта в деталях.

Навеска колхицина** в 0.1 г была растворена непосредственно перед опытом в 100 см³ дистиллированной воды при комнатной температуре. Колхицин растворился легко, раствор имел бледножелтую окраску и издавал чуть заметный эфирный запах. Горшок с 6 растениями, имевшими 8 см в высоту и несшими кроме семядолей по 15—16 настоящих листочков, был хорошо полит накануне, поверхность земли в нем была покрыта ватой, а сверху пергаментной бумагой, в которой было прорезано 6 отверстий для растений и края которой были туго завязаны шпагатом вокруг ранта горшка. У четырех из шести растений горшка были обрезаны наполовину своей длины верхние листочки***, после чего горшок был перевернут вверх дном и установлен на деревянной стойке. Четыре растения с надрезанными листочками были погружены в 12 час. дня в пробирки с 0.1% раствором колхицина. Пробирки были на $\frac{3}{4}$ погружены в горшок, наполненный песком и служивший для пробирок штативом. Таким образом погруженные в раствор колхицина растения были

* Указанный образец был получен мной из Отдела географических посевов ВИР от Е. С. Кузнецовой, которой выражаю искреннюю признательность.

** Примененный в опыте колхицин был получен от профессора А. П. Орехова (НИХФИ), за что приношу ему мою глубокую благодарность.

*** Листочки были обрезаны с той целью, чтобы усилить действие колхицина на растение. Указание на это см. в работе Блексли (1).

защищены от прямого действия света. Опыт проводился в стеклянном шкафу в оранжерее, при температуре $14-15^{\circ}$, повышавшейся однако в моменты выхода солнца из-за облаков до 27° .

Растения оставались в растворе колхицина в продолжение 25 час. 15 мин. В момент извлечения растений из колхицина контрольные растения оказались ориентированными верхушками вверх, дав за 25-часовой промежуток времени геотропический изгиб в 180° . Растениям, погруженным в колхицин, произвести геотропический изгиб помешали пробирки, имевшие небольшой сравнительно диаметр*.

При извлечении растений из колхицина единственным, бросившимся в глаза изменением было слабое пожелтение верхних листочков. В последующие дни опытные растения стали заметно отставать от контрольных в росте и через десять дней приобрели весьма характерный габитус. Семядоли побурели и усохли с краев. Стебли, имея нормальную толщину у поверхности почвы и в первой (нижней) своей половине, в верхней — показывали своеобразную утолщенность, постепенно возрастающую к верхушке (фиг. 1)**. Утолщенные верхушки заканчивались розетковидным собранием листьев. Взглянув на подобную розетку сверху, нетрудно было убедиться при посредстве лупы, что она открытая и состоит из большого количества листочков, которые, равномерно уменьшаясь в размерах, правильно расположены вокруг точки роста. Часть стебля ниже розетки помимо своей утолщенности характеризовалась укороченностью междоузлий, некоторой неправильностью листьев и их горизонтальным положением. У контрольных растений листья верхней части стебля были ориентированы по отношению к последнему под острым углом, как это вообще свойственно нормальным растениям льна.



Фиг. 1. — Два левых растения льна были на сутки погружены своей надземной частью в 0.1% раствор колхицина. Правое растение — контроль. Стебли опытных растений характерным образом утолщены к вершине и имеют укороченные междоузлия.

В дальнейшем измененные действием колхицина побеги стали все более и более отставать в развитии, а через 40 дней от начала опыта остановившиеся в развитии главные стебли с пожелтевшими верхушечными розетками были обогнаны развившимися из пазух семядоль боковыми побегами (фиг. 2 и 3). Развившиеся на опытных растениях побеги были явно двух типов: одни нормальные, с гладкими, слегка блестящими листочками правильной формы, ориентированными под острым углом к стеблю (фиг. 3); побеги второго типа были явно ненормального строения (фиг. 2). Бросалась в глаза их более темная окраска с большим преобладанием синего оттенка. Какой-либо блеск на листочках отсутствовал, они казались матовыми. Листовые пластинки были не вполне правильной формы

* На факт геотропического изгиба растений в период воздействия колхицином я обращаю внимание потому, что он указывает на то, что растения в условиях опыта активно росли, что является необходимым условием для получения эффекта от воздействия колхицина.

** На фигуре приведен другой образец льна, именно Египетский № 265 в той же стадии.

с волнистыми краями, а нередко недоразвиты или уродливы. Из четырех опытных растений одно дало два ненормальных побега, одно — два нормальных, одно — два слабо измененных и одно — один нормальный и один ненормальный побег.

На основании внешнего вида измененных побегов можно было предполагать, что они представляют из себя химерные побеги или же побеги с удвоенным или учетверенным числом хромосом. В дальнейшем характерные отличия измененных побегов значительно сгладились, и растения приобрели почти нормальный вид. Главные стебли к моменту цветения и плодоношения совершенно отмерли.

Еще до момента бутонизации у измененного побега * растения 1163/3, изображенного на фиг. 2, из средней части стебля было взято несколько



Фиг. 2.—Опытное растение льна 1163/3. Главный побег остановился в развитии, из пазух семядолей растут два измененных побега.



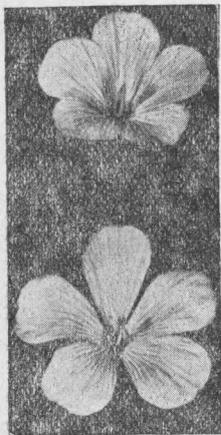
Фиг. 3.—Опытное растение льна 1163/4. Главный стебель остановился в развитии, из пазух семядолей растут два нормальных по внешнему виду побега.

листочков для анатомического анализа. Поперечный срез листовой пластинки показал ее большую толщину, равно как и большие размеры составляющих ее клеток паренхимы по сравнению с таковыми листьев тех же ярусов контрольного растения из того же горшка. Просмотр содранного эпидермиса живого листа обнаружил заметную разницу в размерах замыкающих клеток устьиц**, последние были значительно крупнее у измененного побега растения 1163/3 по сравнению с контролем. Большие размеры анатомических элементов, равно как и отсутствие у побега растения 1163/3 резких нарушений развития и каких-либо уродств, наводило на мысль о том, что здесь мы имеем дело с тетраплоидным побегом,

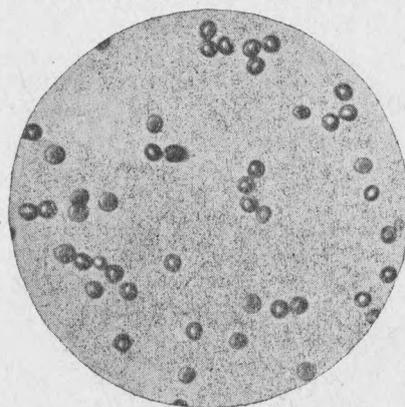
* Второй измененный побег остановился в развитии и отмер.

** При просмотре анатомических элементов, равно как и пыльцы, я пользовался сравнительным микроскопом Лейтца, дающим возможность сразу без предварительных измерений сравнивать относительные размеры анатомических элементов и пыльцевых зерен двух растений, не прибегая к окуляр- и объект-микрометру, что чрезвычайно ускоряет работу.

возникшим в результате воздействия колхицина, вызвавшего удвоение набора хромосом. Это предположение нашло себе в дальнейшем полное подтверждение. Все бутоны, равно как и цветки растения 1163/3, были заметно крупнее бутонов и цветков контрольного растения того же горшка (фиг. 4, сверху—цветок контрольного растения, снизу—растения 1163/3). Просмотр пыльцы показал, что у растения 1163/3 пыльцевые зерна раза в 2 крупнее пыльцевых зерен контрольного растения (фиг. 5—пыльца контрольного растения, фиг. 6—растения 1163/3). Цветки растения 1163/3



Фиг. 4. — Снизу цветок тетраплоидного побега льна растения 1163/3, сверху—контрольного растения 1163/5 (естественная величина).



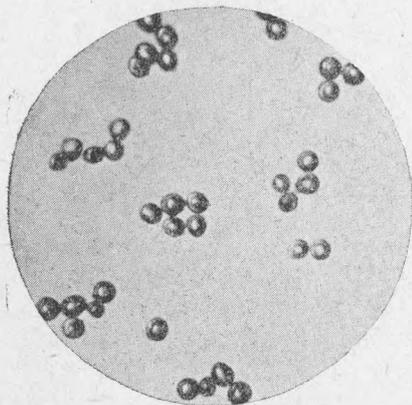
Фиг. 5.—Пыльца контрольного растения льна 1163/5 (Об. 8×, ок. 5× Цейсса).

просматривались один за другим в порядке их распускания. Все они характеризовались крупной пылью. Однако завязывание семян у растения 1163/3 было по сравнению с контролем пониженное. Из трех снятых зрелых коробочек (остальные три оставлены для дозревания) одна содержала 2 семени, вторая—3 и третья—6 семян. Один из цветков вовсе не дал коробочки. Семена, равно как и коробочки растения 1163/3, значительно превосходили по размерам семена и коробочки контрольного растения 1163/5 (фиг. 7). Из пяти семян, вынутых из двух коробочек и посеянных 31 июля, было получено 5 сеянцев. Один из них взошел с запозданием, имел плоское позеленевшее на свету подсемядольное колено и, не раскрыв семядолей, преждевременно отмер. Число хромосом у этого сеянца осталось неизвестным, так как в зафиксированном корешке не удалось найти картин деления ядра (все клетки имели вакуоли, а ядра находились в стадии покоя). Остальные 4 сеянца развивались нормально и у всех четырех в корешках было установлено тетраплоидное число хромосом 64* (фиксация хроматид-формолом в отношении 10:4:1, окраска железо-гематоксилином). Остальные 4 измененные воздействием колхицина растения того же горшка точно так же цвели и завязали коробочки, но семена их не высевались и таким образом цитологически истинная природа изменений осталась пока не установленной. Просмотр пыльцы в цветках видоизмененных побегов обнаружил у них всех наличие крупной пыльцы, примерно вдвое превосходившей по размеру нормальную. В некоторых цветках кроме того присутствовали и зерна, раза в 3—4 превосходившие по своим размерам нормальные. Иногда пыльца состояла из смеси крупных и нормальных пыльцевых зерен.

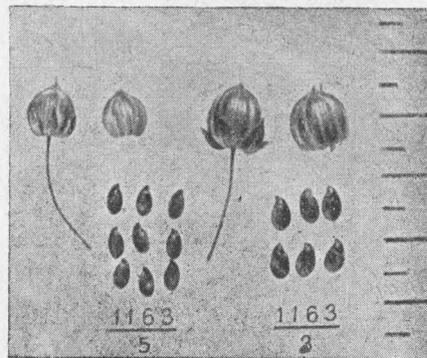
* По Тишлеру⁽²⁾ гаплоидное число хромосом *Linum usitatissimum* равно 16.

Совершенно аналогично реагировал на погружение в раствор колхицина и лен Кипр 2082, также давший измененные побеги, цветки с крупной пылью и крупные коробочки.

В начале июня я проверил описанный в настоящей статье метод получения тетраплоидов льна на значительно большем числе растений, взяв для опытов еще два образца льна (Азербайджанский № 5252 и Египетский № 265). Наблюдения, сделанные на образце льна 1163, полностью подтвердились: будучи погружены на сутки в 0.1% раствор колхицина, растения льна чрезвычайно легко дают характерные морфологические



Фиг. 6.—Пыльца тетраплоидного побега льна растения 1163/3 (Об. 8 ×, ок. 5 × Цейсса).



Фиг. 7.—Слева вскрытая коробочка и семена контрольного растения льна 1163/5, справа—вскрытая коробочка и семена тетраплоидного побега растения 1163/3 (естественная величина).

изменения главного стебля. Среди придаточных побегов, образующихся из пазух семядолей, большое число является морфологически видоизмененным и дает цветки с крупной, по всей видимости полиплоидной, пылью. Нередко цветки эти имеют слегка неправильные по форме, как бы помятые лепестки. Наблюдались случаи возникновения цветков с повышенным числом лепестков. Образующаяся в цветках измененных колхицином побегов крупная (полиплоидная) пыльца хорошо прорастает при создании ей необходимых для этого условий*. Полная аналогия между изменениями, вызванными колхицином у растений аргентинского льна 1163, с описываемыми изменениями, полученными на образцах 2082, 5252 и 265, дает большое основание предполагать, что и здесь мы по всей видимости имеем дело с возникновением полиплоидных побегов и цветков.

Указанный в настоящей статье метод получения тетраплоидных рас у льна чрезвычайно прост и требует минимальной затраты труда и времени. Несомненным преимуществом его по сравнению с методом намачивания семян в растворах колхицина является также и то, что при погружении в колхицин надземной части сеянцев льна ни в одном случае мной не наблюдалось гибели растений. Это дает возможность воздействовать колхицином в целях удвоения числа хромосом и на редкие, хотя бы и единственные сеянцы, не рискуя их погубить. Между тем риск погубить

* Проверка способности полиплоидной пыли к прорастанию *in vitro* была произведена Л. Н. Кохановской, установившей и самый метод проращивания пыли льна, которая на обычных средах (сахарный раствор, иногда с прибавлением агар-агара или желатины) не прорастает.

такие сеянцы при методе намачивания семян в растворах колхицина очень велик.

Легкость произвольного получения тетраплоидных рас льна ставит на очередь вопрос проверки практической значимости тетраплоидных рас в практике селекционной работы. Можно думать, что ряд признаков, характерных для полиплоидов (изменение физиологических свойств, изменение скрещиваемости с соседними видами, возрастание размеров семян и вегетативных частей и пр.)*, будет выгодно отличать тетраплоидные расы льна от существующих диплоидных.

Всесоюзный институт растениеводства.
Ленинград.

Поступило
13 X 1938.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ A. F. Blakeslee a. A. G. Avery, Journ. Hered., **28**, 393—411 (1937).
² G. Tischler, Tabulae Biologicae, **7**, 109—226 (1931). A. Müntzing, Hereditas, **21**, 263—378 (1936).
-

* См. сводку Мюнцинга (²).