

М. С. НАВАШИН и Е. Н. ГЕРАСИМОВА

**ВВЕДЕНИЕ КОЛХИЦИНА ЧЕРЕЗ КОРНИ С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ
ПОЛИПЛОИДНЫХ РАСТЕНИЙ**

(Представлено академиком Н. И. Вавиловым 16 I 1940)

Основное затруднение при наружном применении колхицина к надземным частям растений состоит в том, что эффект в большинстве случаев сказывается лишь на листьях, развивающихся в первое время. По мере же своего развития обработанный побег становится все более и более нормальным и в конце концов развивается в диплоидное растение, даже если вначале он проявлял все признаки полиплоидии. В результате часто бывает, что очень обширный материал не дает полиплоидов (наши опыты с голландской гвоздикой, флоксами, лакфиолем и хризантемой).

Частичный выход из положения состоит в предложенном нами ⁽¹⁾ черенковании листьями, обнаруживающими признаки полиплоидии под влиянием колхицина; однако этот способ приложим лишь к тем растениям, которые можно заставить размножаться листьями.

Для выяснения причин указанного выше явления младшим автором весной 1939 г. были поставлены специальные опыты по изучению развития побега, обработанного колхицином. Большое число молодых семян кок-сагыза было обработано в течение различных сроков растворами различной концентрации путем простого окунания в стаканчики с растворами. По окончании обработки растеньица обмывались водой и высаживались в землю. Начиная с 7—10-го дня после прекращения обработки колхицином производилась фиксация молодых растений через 1—2-дневные интервалы для цитологического исследования. Предварительные результаты этого исследования не дали указаний на то, что исчезновение полиплоидного эффекта при развитии происходит от вытеснения полиплоидных клеток диплоидными клетками в конусе роста. Напротив, у нас есть скорее основания к обратному заключению; так, например, у одного молодого растеньица, первый корешок которого был наполовину тетраплоидный, наполовину диплоидный, по мере развития становилось все меньше и меньше диплоидных корней, а в двухмесячном возрасте уже все точки роста корневой системы оказались тетраплоидными. Вообще о вытеснении тетраплоидных частей диплоидными говорить не приходится, так как известны многочисленные случаи диплоидно-тетраплоидных химер; органы таких растений, состоящие из обоих сортов тканей (например корешки), не обнаруживают каких-либо заметных нарушений развития, которые были бы

неизбежны не только в случае вытеснения одной ткани другой, но даже и при незначительной дисгармонии в их развитии.

Указанное цитологическое исследование, ведущееся одним из нас, еще не закончено; однако уже сейчас есть основания видеть причину «исчезновения» тетраплоидных тканей в некотором особом своеобразии хода развития побегов с поврежденной колхицином верхушкой. Здесь же мы ограничимся вопросом о самом поступлении колхицина в ткани.

Естественно было предположить, что «исчезновение» эффекта при развитии растения, обработанного колхицином, происходит в значительной мере потому, что раствор недостаточно проникает вглубь и успевает воздействовать лишь на наружные, непосредственно соприкасающиеся с ним части. Это предположение подтверждается опытами с корнями, которые с величайшей легкостью становятся полиплоидными под воздействием колхицина, как, конечно, прекрасно известно всем работавшим в этой области. Вряд ли можно сомневаться, что немаловажное значение здесь принадлежит легкости проникания раствора в корни.

Попытки заставить колхицин достигнуть внутренних тканей (хотя бы путем удлинения срока обработки) в большинстве случаев остаются напрасными, так как приводят к полному угнетению и даже отмиранию побега (быть может, уже от токсического действия колхицина).

Внимательное наблюдение за развивающимся растением иногда позволяет хорошо проследить весь ход процесса. Так, например, молодое растение кок-сагыза после остановки роста, вызванной колхицином, начинает развивать листья, обнаруживающие все признаки полиплоидии: темнозеленую окраску, утолщение, неровность поверхности, наконец, более крупные элементы (устьица, волоски и пр.). Однако по мере дальнейшего роста обнаруживается, что уже основания листьев не имеют этих признаков, а листья, развивающиеся позднее, оказываются обыкновенными диплоидными. Различные приемы (рекомендованные Блэксли и его многочисленными последователями в СССР и за границей), представляющие модификации первоначального «способа капель», не дали в наших опытах надежных результатов. Основной их недостаток—это неуверенность в дозе, зависящей здесь от случайных условий, определяющих степень проникания колхицина в ткани. Хотя посредством этих способов нам и удалось получить тетраплоиды у кок-сагыза, у *Crepis* и картофеля, результаты оставались случайными, и нередко целая серия опытов оказывалась безуспешной без всякой видимой причины. Непостоянство результатов было основным дефектом методики, и даже в одной и той же порции материала, казалось бы обработанного одинаково, лишь часть растений обнаруживала эффект, тогда как другая часть была изменена очень слабо или даже оставалась вовсе неизменной.

Оставалась естественная возможность введения раствора колхицина изнутри. Опыт такого рода был, насколько нам известно, произведен лишь Блэксли с сотрудниками (2), но не увенчался успехом; отрицательный результат показался неожиданным авторам этого опыта. Нам кажется, однако, что впрыскивание и введение через рану, к которым они прибегли, вряд ли можно признать особенно удачными приемами. Мы пошли по другому пути, именно, решили воспользоваться всасыванием через корни. Этот прием, применяемый в тысячах других случаев, когда требуется введение вещества в растение, мог показаться здесь очень рискованным, так как колхицин в больших дозах совершенно убивает корни. Таков, между прочим, обычный результат неосторожного проращивания семян в растворе колхицина, когда проростки оказываются неспособными к развитию вследствие тяжелых повреждений, вызванных колхицином в их корнях.

Молодые растения кок-сагыза с сильно развитой корневой системой

были поставлены корнями в растворы колхицина 1 : 1 000, 1 : 2 000 и 1 : 10 000 на различные сроки. По истечении назначенного срока (от 2 до 32 час.) каждая группа растений обмывалась и высаживалась в землю. Сначала, как обычно, обнаруживалось сильное угнетение (вызывавшееся, конечно, в первую очередь повреждением корней), кончики корней вскоре развивали столь характерные для колхицина булабовидные вздутия. По истечении 7—10 дней растения трогались в рост: это совпадало с началом отрастания корней. По мере того как растения развивали новые листья, ясно обнаруживалось, что колхицин повлиял и на надземные органы. На первый взгляд эффект не отличался от того, который получается при применении колхицина снаружи. Однако в ближайшее время обнаружилось существенное отличие, именно, растения внутри каждой группы были очень сходны между собою, отмеченная выше пестрота, происходящая от неодинаковости эффекта, здесь отсутствовала. Сила эффекта оказалась при этом столь ясно связанной с дозой, что уже по одному виду растений можно было точно судить о полученной ими дозе. По мере развития растений различия между группами, получившими разные дозы, все усиливались: растения, получившие наименьшие дозы, развивались в обыкновенные диплоиды, другие, обработанные большими дозами, все больше и больше обнаруживали признаки полиплоидии.

Сравнивая подопытные растения с заведомыми тетраплоидами, полученными в наших более ранних опытах, мы обратили прежде всего внимание на то, что среди них было сравнительно мало химер. Каким образом осуществлялось здесь образование более однородно измененных тканей, пока сказать трудно, можно лишь предполагать, что эффект в данном случае столь силен и быстр, что большинство клеток за короткий срок успевает стать полиплоидными. Мы получили около 200 растений кок-сагыза, многие из которых обнаруживают несомненные признаки полиплоидии.

Таким образом у нас есть данные, говорящие в пользу введения колхицина через корни. Может показаться непонятным, почему при этом не происходит того же губительного повреждения корней, что и при обработке прорастающих семян.

Это зависит, повидимому, от иного состояния сильно развитой корневой системы в отличие от зародышевых корешков. Впрочем, теперь мы применяем уже колхицин только к части корневой системы, оставляя другую часть нетронутой; надо думать, что такой способ даст лучшие результаты. Для обработки колхицином надо, конечно, выбирать растения, имеющие возможно более короткий стебель, вроде кок-сагыза, с его розеткой. Однако колхицин проникает очень далеко; в очень любопытной форме мы наблюдали это на черенках смородины, листья которых были поражены тлей: после обработки колхицином корней вся тля погибла, несмотря на то что до листьев, соками которых она питалась, от корней было 20—25 см.

Особо стоит вопрос о применении колхицина к корням с целью вызывания полиплоидии в этих последних. Мы провели в большом масштабе такую работу для того, чтобы разработать методику получения полиплоидов у растений, образующих корневые отпрыски. Огромное преимущество этого способа состоит в том, что он прямо дает растения однородного хромосомного состава (не химеры); это вполне понятно, если принять во внимание, что химерная структура корней ликвидируется уже после 1—2 ветвлений в силу всем известных особенностей заложения боковых корней. Недостаток его, конечно, в ограниченности, так как не все растения способны давать корневые отпрыски; вряд ли, впрочем, можно ждать здесь, как и где бы то ни было, универсальных методов. С другой стороны, путем специальных приемов можно будет, конечно, вызвать образование корневых отпрысков и там, где они обычно не образуются.

Этот способ успешно применен нами в широком масштабе к ягодным растениям: уже имеется около 150 кустов с сильно развитой тетраплоидной корневой системой, из которой ближайшим летом мы получим тетраплоидные побеги.

Институт генетики
Академия Наук СССР

Поступило
19 I 1940

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ М. С. Навашин и Е. Н. Герасимова, ДАН, XXIV, № 9 (1939).
² A. F. Blakeslee, A. G. Avery, A. D. Bergner, S. Satina, H. S. Warnike, S. T. Buchholz, S. L. Cartledge and S. W. Sinnott, Annual Reports of the Director of the Dept. of Genetics, Carnegie Institution of Washington (1937—1938).