

М. В. КОМИССАРОВА

ЦИТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИПЛОИДОВ СОСНЫ  
(*PINUS SILVESTRIS* L.)

(Представлено академиком В. Н. Сукачевым 13 VII 1947)

В связи с получением полиплоидных растений сосны при помощи колхицина нас интересовали следующие вопросы.

1. С какими степенями полиплоидии получают растения при воздействии колхицина при разных концентрациях и экспозициях?

2. Каков характер нарушений деления ядра и клетки у растений с разными степенями полиплоидии?

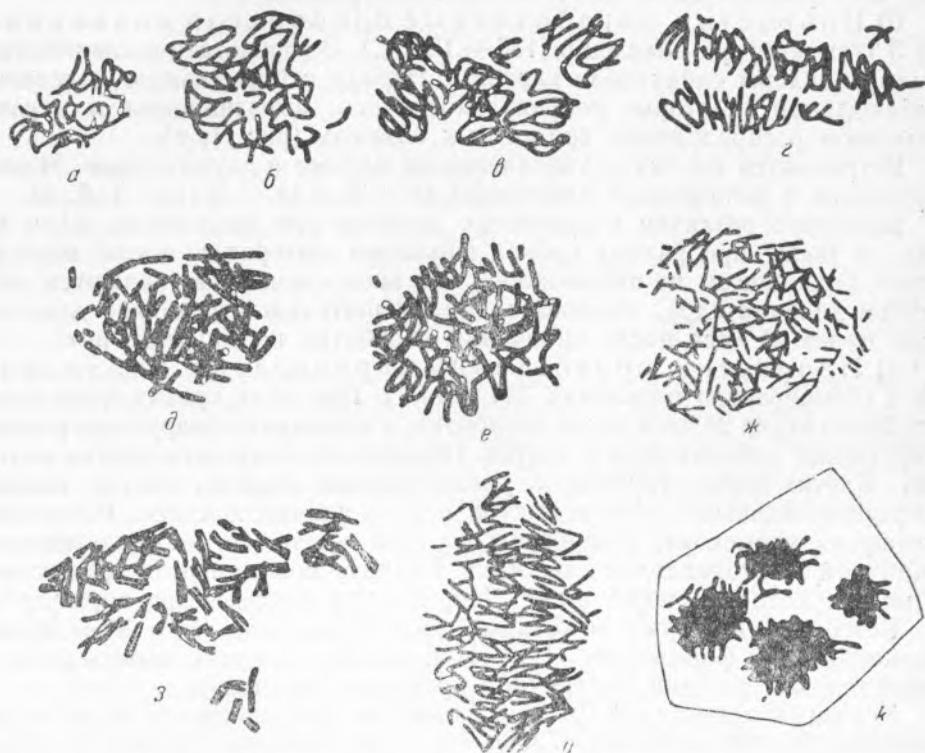


Рис. 1. Соматические пластинки у полиплоидов *Pinus silvestris* L.: а —  $2n=24$ ; б —  $3n=36$ ; в —  $4n=48$ ; г — неравномерное распределение хромосом в анафазе; д —  $5n=60$ ; е —  $6n=72$ ; ж —  $8n=96$ ; з — хромосомы разделились продольно, но не разошлись; и —  $12n=144$ ; к — клетка с 4 группами хромосом в стадии телофазы

В практическом отношении очень важно знать, при каких степенях полиплоидии будет больше жизнеспособных растений и как они (растения) будут дальше развиваться.

Материал и методика работы. Для исследования была взята большая группа проростков сосны, обработанных в 1946 г. различными препаратами колхицина, обозначенными под №№ 2, 3 и 4. Препараты №№ 3 и 4 применялись при концентрации 0,2% в течение 24 и 48 час., а препарат № 2 — при концентрации 0,2 и 0,4% в течение 24 и 48 час. Кроме того, были взяты 2-летние растения сосны и ели (*Picea excelsa* Link.), полученные Д. А. Комиссаровым (4) из проростков семян, обработанных колхицином в 1945 г.

Фиксация верхушек корней производилась в смеси С. Г. Навашина через 24, 36, 48 и 72 часа после обработки проростков колхицином. Препараты окрашивались по способу Гейденгайна железным гематоксилином. Срезы приготавливались толщиной в 7 $\mu$  (рис. 1)\*.

Результаты исследования. а) Двухлетние растения сосны и ели. Исследование материала показало, что более 50% растений, отобранных по морфологическим признакам и величине устьиц, оказались триплоидами и единичные экземпляры — тетраплоидами.

У всех полиплоидных растений процесс деления ядра идет нормально.

Полиплоидные растения сосны и ели были получены в результате обработки проростков семян водными растворами колхицина при концентрации 0,2% в течение 24 и 48 час. и 0,1% в течение 48 и 72 час.

Все растения сосны и ели, оказавшиеся полиплоидами, имели более толстую и широкую хвою с более крупными устьицами. Диплоидные колхицированные растения не отличались заметно от контрольных как по строению хвои, так и по величине устьиц.

б) Проростки, обработанные препаратом колхицина № 3 (температура плавления 136—139° С). В результате исследования были выявлены следующие картины. Наряду с нормальным делением наблюдаются некоторые неправильности его, выразившиеся в неравномерном распределении хромосом к полюсам (рис. 1, з).

Встречаются клетки с увеличенными ядрами и двухядерные. Число хромосом в метафазных пластинках  $3n = 36$  и  $4n = 48$  (рис. 1, б, в).

Большого различия в процессах деления при экспозиции 24 и 48 час., а также при разных сроках фиксации материала после воздействия колхицином не наблюдалось. Во всех случаях встречаются все стадии деления ядра, следовательно, значительной задержки деления уже через 24 часа после окончания обработки колхицином нет.

в) Проростки, обработанные препаратом колхицина № 4 (температура плавления 141—144°). При всех сроках фиксации, особенно через 24 часа после обработки, в корешках обнаружено резкое нарушение деления ядра и клетки. Нормально делящихся клеток почти нет. Клетки очень крупные с увеличенными ядрами, иногда сильно деформированными. Много клеток с 2—3 ядрами и более. На стадии метафазы хромосомы разбросаны по всей клетке и не представляют типичной экваториальной пластинки. Нередко можно видеть хромосомы в виде крестов и „пары лыж“. Нормальной анафазы не образуется.

Встречаются клетки, в которых хромосомы собраны в 3—6 групп разнообразной формы (рис. 1, к). В некоторых клетках наблюдается в значительной степени поперечное дробление хромосом.

У разных проростков были установлены следующие степени полиплоидии:  $4n = 48$ ,  $5n = 60$ ,  $6n = 72$ ,  $8n = 96$  и  $12n = 144$  (рис. 1, д, е, ж, и). При этом у одного и того же проростка с высокой степенью полиплоидии, например  $8n$ , имеются клетки с меньшим числом набора хромосом, а также и диплоидные,  $2n = 24$ .

Наиболее высокая степень полиплоидии,  $12n = 144$ , была установлена

\* В изготовлении рисунков принимала участие О. В. Федорова-Саркисова, которой я выражаю свою глубокую благодарность.

при фиксации через 72 часа. Очевидно, действие колхицина к этому времени еще не прекратилось.

На всех препаратах можно видеть большинство клеток в стадии метафазы, которая задерживается из-за отсутствия образования веретена.

При фиксации через 48 и 72 часа после обработки видно начало регенерации веретена, но редко. Однако встречаются неправильные анафазы и телофазы.

г) Проростки сосны, обработанные препаратом колхицина № 2 (температура плавления 119—122°). Здесь в основном повторяются те же картины, что и в препаратах предыдущей серии, но менее резко выраженные. Действие этого колхицина сказывается мягче. Например, фрагментация хромосом наблюдается в значительно меньшей степени. Метафаза хотя и задерживается, но регенерация веретена наступает раньше — через 36 час. после окончания обработки. Через 48 час. анафаза и телофаза, хотя и неправильных, встречается больше. Через 72 часа имеются нормальные анафазы и телофазы. Были установлены степени полиплоидии  $4n=48$ ,  $5n=60$  и  $6n=72$ .

Цитологическое исследование показало, что колхицин вызывает нарушение механизма образования веретена. По этой причине разделившиеся продольно хромосомы не расходятся к полюсам и деление клетки задерживается, в результате чего происходит умножение набора хромосом.

Результаты нашего исследования о характере действия колхицина на митоз у сосны во многом согласуются с данными других авторов (1, 3, 6—9), относящимися к другим видам растений. Установленное нами поперечное дробление хромосом, очевидно, вызывается непосредственным действием на них колхицина, так как у контрольных растений сосны оно не наблюдалось. Кусочки хромосом также делятся продольно. Возможно, что когда клетки придут в уравновешенное состояние, произойдет слияние таких фрагментов и образование целых хромосом. Карпеченко (2) наблюдал поперечное деление хромосом у ячменя под влиянием колхицина, но в местах кинетических перетяжек. Дермен (6) указывает на фрагментацию хромосом у *Rhoeo discolor* от действия высоких и низких температур, являющуюся результатом скручивания хромосом.

В нашем исследовании не наблюдалось скручивания хромосом от действия колхицина. Очевидно, фрагментация хромосом здесь происходила иным путем. Следует также отметить, что явление полиплоидии у проростков сосны сопровождается изменением формы хромосом: вместо изогнутых они принимают форму прямых палочек. Существенных изменений величины хромосом не наблюдалось.

Результаты исследования показывают, что более сложные изменения в процессах деления зависят от степени физиологической активности того или другого препарата колхицина. Испытанные нами три разных препарата колхицина дают различный эффект. Препарат № 4 при всех равных условиях показал более сильное действие, чем препарат № 3. Препарат № 2 оказывает примерно такой же характер действия, как препарат № 4, но при концентрации в два раза большей, т. е. 0,4%.

В практической работе это обстоятельство необходимо учитывать. Действие каждого нового препарата колхицина на растения того или другого вида следует предварительно проверить цитологическим анализом. Это поможет установлению соответствующих оптимальных дозировок для получения большего количества жизнеспособных полиплоидов.

Дальнейшие наблюдения над развитием полиплоидных проростков сосны показали, что экземпляры с высокими степенями полиплоидии

(5n, 6n, 8n и 12n), полученные при взаимодействии сильными дозами колхицина, оказываются сильно деформированными и задержанными в росте. Как правило, все они погибают в 1—2-месячном возрасте. Поэтому среди 2-летних полиплоидных экземпляров встречаются главным образом триплоиды и единично тетраплоиды.

Необходимо также отметить, что установление числа хромосом у полиплоидов сосны целесообразнее производить в 2-летнем возрасте растений, когда у них разовьется достаточно мощная корневая система. Однолетние, слабо развитые полиплоиды весьма болезненно переносят обрезку колечков корней и нередко после этой операции погибают.

Центральный научно-исследовательский  
институт лесного хозяйства  
Ленинград

Поступило  
3 VI 1947

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> Л. П. Бреславец, ДАН, 29, 323 (1940). <sup>2</sup> Г. Д. Карпеченко, ДАН, 29, 402 (1940). <sup>3</sup> Дончо Костов, ДАН, 19, 149 (1938). <sup>4</sup> Д. А. Комиссаров, ДАН, 58, № 9 (1947). <sup>5</sup> H. Dergem, J. Heredity, 29, 221 (1938). <sup>6</sup> A. Levan, Hereditas, 24, 471 (1933). <sup>7</sup> N. T. Mirov and P. Stockwell, J. Heredity, 30, 389 (1939). <sup>8</sup> B. R. Nebel and M. Ruttler, J. Heredity, 29, 3 (1938). <sup>9</sup> М. С. Навашин, ДАН, 18, 185 (1933).