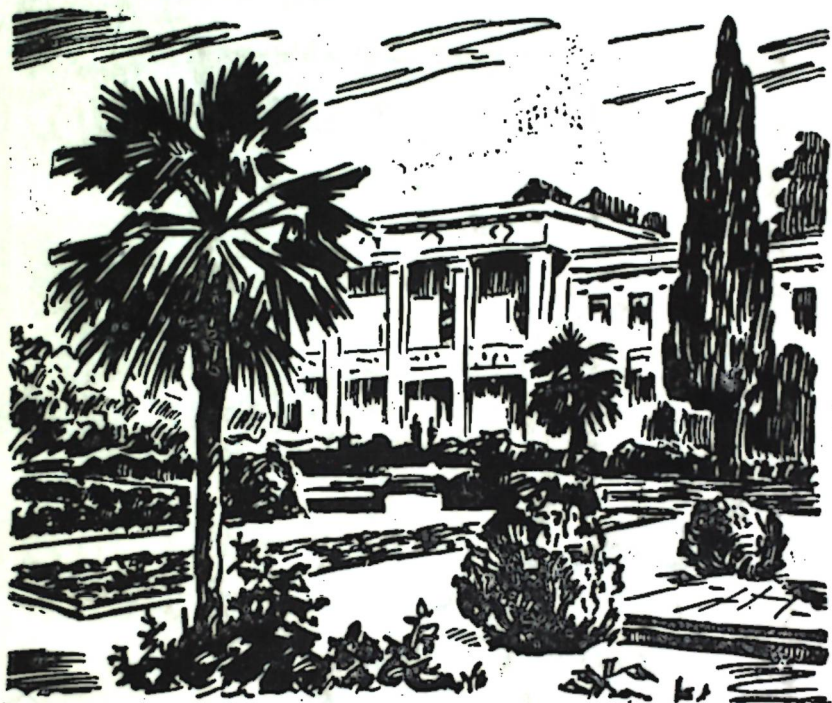


126  
91  
ISSN 0201—7997

ВСЕСОЮЗНАЯ АКАДЕМИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК  
имени В. И. ЛЕНИНА  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НИКИТСКИЙ БОТАНИЧЕСКИЙ САД

---

---



**ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ЭМБРИОЛОГИЧЕСКИЕ  
ИССЛЕДОВАНИЯ МНОГОЛЕТНИХ РАСТЕНИЙ**

**СБОРНИК НАУЧНЫХ ТРУДОВ  
ТОМ 91**

---

---

ЯЛТА 1983

П-126

П103282

Никитский ботан. сад. Сб.  
науч. тр. Т. 91.  
Ялта, 1983

0-65

П103282

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ  
И ЭМБРИОЛОГИЧЕСКИЕ  
ИССЛЕДОВАНИЯ МНОГОЛЕТНИХ  
РАСТЕНИЙ

СБОРНИК НАУЧНЫХ ТРУДОВ  
ТОМ 91

Под общей редакцией  
кандидата биологических наук А. А. Гостева

УДК 575.1/2:576.3+581.3

В сборнике дано обобщение исследований по цитогенетике, эмбриологии и мутагенезу высших растений.

Представлены результаты использования оригинальной методики выявления структурной организации хромосом, которая позволяет изучать различные растительные семейства. Обсуждаются возможности количественной идентификации хромосом, а также количественного описания динамики изменения структуры хромосом в процессе жизнедеятельности клетки.

Статьи по эмбриологии и мутагенезу содержат много новых данных и дают возможность обосновать рекомендации к улучшению схемы селекционного процесса плодовых, цветочных и других культур.

Сборник рассчитан на генетиков, селекционеров и студентов биологических факультетов вузов.

**РЕДАКЦИОННО-ИЗДАТЕЛЬСКИЙ СОВЕТ:**

Ю. А. Акимов, В. Н. Голубев, А. А. Гостев, Т. К. Еремина, В. Ф. Иванов, В. Ф. Кольцов, И. З. Лившиц, А. П. Лищук (зам. председателя), В. И. Машанов, Е. Ф. Молчанов (председатель), Н. И. Рубцов, И. Н. Рябов, В. А. Рябов, Н. К. Секуров, Л. Т. Синько, В. К. Смыков (зам. председателѣ), Л. Е. Соболева, А. В. Хохрин, А. М. Шолохов, А. Е. Яблонский, А. А. Ядров, Г. Д. Ярославцев.

Цитогенетические и эмбриологические исследования многолетних растений, Ялта, 1983.

THE ALL-UNION V. I. LENIN ACADEMY OF AGRICULTURAL SCIENCES  
THE STATE NIKITA BOTANICAL GARDENS

CYTOGENETICAL  
AND CYTOEMBRYOLOGICAL  
INVESTIGATIONS OF PERENNIAL  
PLANTS

THE COLLECTED SCIENTIFIC WORKS

VOL. 91

Under general editorship  
of Candidate of Biology A. A. Gostev

In this book of collected works the studies on cytogenetics, embryology and mutagenesis of higher plants are summarized.

Results of using the original methods for revealing the structural chromosome organization are given which makes it possible to study various plant families. Possibilities of qualitative identification of chromosomes and also quantitative description of dynamics of chromosome structure change during the cell vital activity are discussed.

The papers on embryology and mutagenesis contain many new data and allow to substantiate recommendations to improve the scheme of breeding process of fruit, flower and other crops.

The collected articles are meant for the scientists dealing with genetics and breeding, and also for biology students.

#### EDITORIAL-PUBLISHING BOARD:

Akimov Y. A., Golubev V. N., Gostev A. A., Ivanov V. F., Khokhrin A. V., Koltsov V. F., Lishchuk A. I. (Deputy Chairman), Mashanov V. I., Molchanov E. F. (Chairman), Rubtsov N. I., Ryabov I. N., Ryabov V. A., Sekurov N. K., Sanko L. T., Smykov V. K. (Deputy Chairman), Soboleva L. E., Sholokhov A. M., Yablonsky E. A., Yadrov A. A., Yaroslavtsev G. D., Yeryomina T. K.

Cytogenetical and cytoembryological investigations of perennial plants.  
Yalta, Nikita Botanical Gardens, 1983.



## ВВЕДЕНИЕ

Успешное развитие исследований в области молекулярной биологии и генетики в нашей стране создало предпосылки для общего подъема всей биологической науки и более широкого использования ее достижений в различных областях народного хозяйства и медицины. И совершенно не случайно поэтому одной из важнейших задач советской науки на современном этапе партия и правительство считают дальнейшее расширение и углубление научных исследований и широкое использование их результатов, в частности, в сельском хозяйстве.

В настоящее время в Государственном Никитском ботаническом саду широко развернуты исследования по изучению структуры и функции хромосом, хромосомной инженерии, экспериментальной эмбриологии, культуры *in vitro* и мутагенезу. Некоторые результаты по этим направлениям представлены в настоящем сборнике; их практическое использование наиболее перспективно в клеточной селекции сельскохозяйственных растений, объединяющей эти исследования.

Методы экспериментальной эмбриологии культуры *in vitro* позволяют получать однородную массу клеток нужной плоидности, которые можно обрабатывать химическими и физическими мутагенами в строго регулируемых условиях эксперимента.

Знания о структуре и функции хромосом и использование методов их идентификации позволяют целенаправленно и интенсифицировать селекционный отбор индуцированных (в опыте) клеточных популяций для создания новых хозяйственно-ценных сортов сельскохозяйственных культур.

## РОЛЬ ВЫЯВЛЯЕМОЙ МЕТОДАМИ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ОКРАСКИ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ХРОМОСОМ В ПРОЦЕССАХ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ И ИЗМЕНЧИВОСТИ\*

А. А. ГОСТЕВ,

кандидат биологических наук;

В. С. КРЫЛОВ, Н. В. ОРЛЯНСКИЙ

Наследственность и изменчивость — обобщенные понятия, которые характеризуют основные свойства живых систем. Конкретное определение этих свойств целиком зависит как от принимаемой структурной схемы выделения уровней организации живых систем, так и оттого, на каком конкретном уровне она изучается. И если сама по себе схема иерархической организации всего живого не вызывает сомнений, то вопрос значимости каждого из уровней и взаимовлияние одного на другой остается предметом широких дискуссий и объектом все новых и новых исследований.

Необходимость выявления структуры признаков автоматически возникает при построении систематики живых организмов, так как любая классификация всегда связана с выделением групп примитивных признаков, по которым ведется сравнение [12]. Построение динамики развития живых систем в еще большей степени требует выделения «элементарных» систем и процессов. Такое требование очень точно было сформулировано С. С. Четвериковым [15] еще в 1926 г. Идея выделения «элементарных» составляющих и последующий их синтез в единую систему для объяснения эволюционных процессов принадлежат Н. В. Тимофееву-Ресовскому [13]. Эта работа представляет собой изложение законченной модели эволюционного процесса, однако априорно принятые авторами связи и взаимоотношения иерархических уровней не бесспорны, принятие же иных соотношений может изменить модель в целом [9].

\* Авторы выражают искреннюю благодарность доктору С. Аскеру (Швеция) за помощь в проведении исследований.

После появления молекулярной биологии произошёл качественный скачок на самые нижние уровни организации. Таким образом, исходно стали изучаться самые «элементарные» системы, и поэтому уже требуется синтез, а не выделение изученных процессов и явлений, то есть подход, принципиально отличный от того, что был ранее. В этом случае неизбежно появление упрощённых схем и моделей. На каких-то этапах неизбежно также преувеличенное представление о влиянии тех или иных молекулярных процессов на всю систему в целом, поскольку методы объединения, интеграции изученных подсистем в единое целое определить заранее невозможно. Для изучения генетических систем можно предложить несколько вариантов формализованного описания, и каждый вариант с той или иной степенью точности будет отражать реальные свойства системы [7].

Воспользуемся схемой, которая позволяет наглядно представить иерархичность организации и использовать формальные выражения связей выделяемых структурных уровней (рис. 1). В этой схеме выделяются пространства (множества) фенотипов (F) и генотипов (F, G). Сразу отметим, что пространства F и G нельзя рассматривать отдельно, так как они представляют собой разные стороны единого сложного объекта. Следовательно, развитие этого объекта во

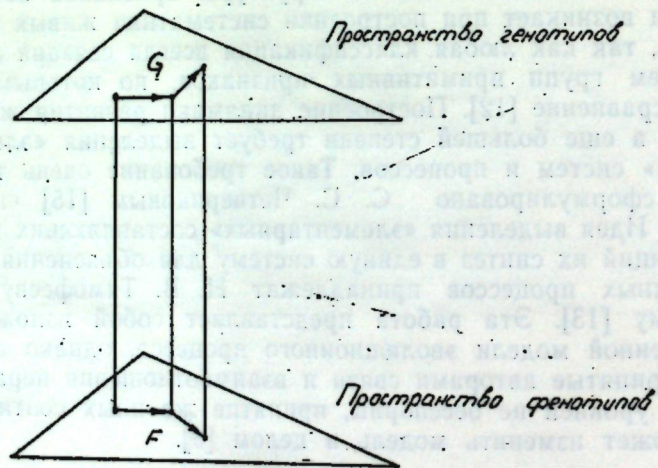


Рис. 1. Схематическое изображение соответствия генотипа и фенотипа.

времени необходимо рассматривать как одновременную эволюцию пространств F и G, а также эволюцию их отображений друг в друга (F в G и G в F), увязывающие указанные множества в единую систему.

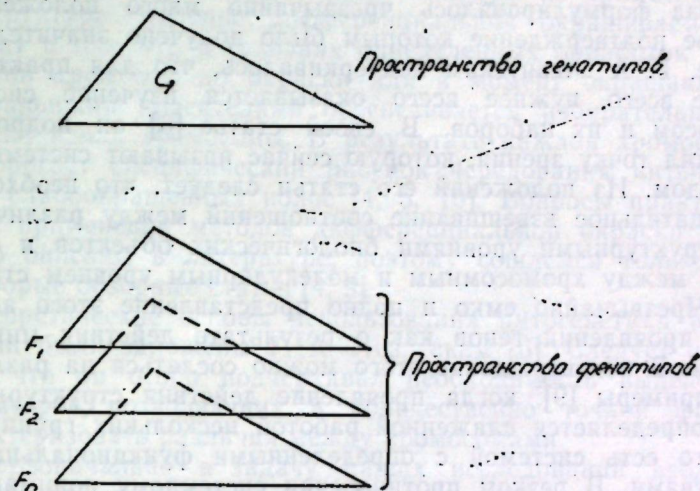


Рис. 2. Схема расслоения фенотипа.

Пространство фенотипов изучаемых биологических объектов представляет собой сложную многослойную структуру. В ней можно выделить следующие уровни иерархии: 1 — видовой; 2 — популяционный; 3 — организменный; 4 — тканевый и органный; 5 — клеточный; 6 — ядерный и 7 — хромосомный. Поэтому приведенная на рисунке 2 схема имеет более сложный, многослойный вид, чем на рис. 1.

Изучение эволюции системы будет состоять в последовательном решении следующих проблем: 1 — поиск «элементарных» признаков на изучаемых уровнях; 2 — поиск отображений, увязывающих «элементарные» признаки разных уровней; 3 — изучение динамики, то есть временных изменений найденных структур и связей.

В исследовании биологических объектов возможны два подхода: первый — переход от верхних уровней организации к нижним, от популяционного и организменного к клеточному, хромосомному и увязывание изменений на верхних уровнях строения с изменениями на нижних уровнях строения; второй — альтернатива первому, то есть детальное изу-

чение молекулярных основ с последующим синтезом и обобщением изученных процессов на организменный уровень и так далее.

Первый подход был характерен для всей русской классической генетики. На основе тщательнейшего логического анализа формулировалось чрезвычайно много положений, прямое подтверждение которым было получено значительно позже. Г. А. Левитским подчеркивалось, что для практики ближе всего, нужнее всего оказывается изучение систем хромосом и их наборов. В своей статье [6] он подробно изложил точку зрения, которую сейчас называют системным подходом. Из положений его статьи следует, что необходимо тщательное взвешивание соотношений между различными структурными уровнями биологических объектов и особенно между хромосомным и молекулярным уровнем строения. Чрезвычайно емко и полно представление этого автора о проявлении генов как о результате действия микросистем. В подтверждение этого можно сослаться на различные примеры [9], когда проявление действия структурного гена определяется слаженной работой нескольких групп генов, то есть системой с определенными функциональными свойствами. В резком противоречии системному пониманию роли хромосом находится утверждение о второстепенном значении преобразования структуры хромосом в эволюции видов [3].

Хромосомы являются как бы водоразделом между молекулярной и надмолекулярной организацией систем хранения и передачи наследственной информации. Структура хромосом определяет генотипическую среду, «внутренне и наследственно воздействующую на проявление гена в его признаке» [19]. Поэтому очень важно точно представлять соотношения размеров наблюдаемых в световой микроскоп элементов строения хромосом и молекулярных структур их составляющих. Линейные размеры наименьшего наблюдаемого в световой микроскоп объекта составляют примерно  $2500\text{Å}$ , то есть в  $5\div 50$  раз больше поперечных размеров хромосомных фибрилл. Поэтому при использовании красителей, связывающихся с определенными компонентами хромосом, наблюдают картину глобального распределения окрашенного вещества в хромосоме. Очевидно, очень сложно построить модель, обобщающую локальные свойства хромосом на молекулярном уровне до глобальных картин, наблюдаемых

в световой микроскоп. Именно поэтому в настоящее время существует множество взаимоисключающих спекуляций о молекулярном строении хромосом [11].

С разработкой методов дифференциальной окраски стало возможным «узнавать в лицо» каждую из хромосом по ее структуре. Явление дифференциальной окрашиваемости состоит в том, что в условиях определенных обработок препаратов хромосом до окраски или в момент окрашивания специальными красителями обеспечивается избирательность окраски вдоль хромосомы. В результате каждая хромосома приобретает специфический рисунок чередования интенсивно и слабоокрашенных полос [4, 5, 10]. Вопросы практического применения методов дифференциальной окраски подробно описаны в литературе, поэтому сошлемся только на некоторые обзорные статьи [4, 9].

Теоретические основы использования цитогенетики в селекции были заложены Г. А. Левитским [6]. Следует отметить, что он особо подчеркивал необходимость выделения параметров, позволяющих в количественно точной форме характеризовать различия между хромосомами.

Первоначально в задачу наших исследований входила разработка относительно простой методики выявления естественной структуры хромосом у растений с короткими хромосомами таких семейств, как Розоцветные, Губоцветные, Зонтичные и т. д. Применение модификаций  $C_1$ - и  $G$ -метода дифференциальной окраски для этого класса объектов никаких результатов не давало.

Трудность наблюдения результатов воздействия на разных этапах процесса окрашивания хромосом небольшого размера обусловило поиск модельного объекта, на котором в наглядной форме можно было бы провести все необходимые эксперименты. Такой объект был найден — политенные хромосомы, находящиеся в волосках эфирномасличных вместилищ у растений [16]. Работа с этой моделью позволила объективно оценить применение тех или иных химических и физических агентов. Во многих современных методиках для синхронизации клеточных делений используют различные компактизирующие агенты, например колхицин. Оказалось, что в результате компактизации под воздействием колхицина у хромосом происходит слияние гетерохроматиновых блоков (рис. 3). У короткохромосомных объектов такое слияние приводит к обезличиванию хромосом, они теряют рисунок и принимают равномерно темноокрашенный вид.



Рис. 3. Изменение компактизации вещества хромосом в результате воздействия колхицина. Анафаза.

Результаты наблюдений за политемными хромосомами с помощью специально разработанных методик проверялись на обычных митотических хромосомах. И поскольку в методике не входят воздействия, сильно изменяющие или разрушающие хромосомную структуру, появилась возможность наблюдения картины окраски на различных стадиях деления, а стало быть и изучения динамики трансформации структуры в процессе митотического деления. В итоге были получены высококачественные препараты растений 15 се-

политемные хромосомы оказались также удобной моделью для отработки режимов нанесения красителей и в достижении максимальной контрастности между различными элементами структуры. В результате был найден самый оптимальный вариант крашения в два этапа: предварительная окраска с помощью основного фуксина с последующим проявлением окраски с помощью красителя Гимзы [17]. Такая двухступенчатость связана с тем, что при попытке достичь хорошей контрастности за счет увеличения продолжительности обработки в одном из красителей приводит к перекрашиванию объектов и потере картины дифференциальной окраски.

мейств (Злаковые, Пасленовые, Бобовые, Маревые, Сложноцветные, Розоцветные и т. д.).

Разработка методов дифференциальной окраски послужила прочной основой для анализа хромосомного полиморфизма. Хромосомный полиморфизм — явление широко распространенное и свойственное практически всем группам эукариотических организмов. Механизм изменения структуры хромосом, приводящий к полиморфизму, в настоящее время неизвестен, хотя и существует множество самых общих предположений. Так как применение сильно повреждающих хромосомы агентов исключалось [17], то после изучения с помощью предложенной методики обширных материалов было высказано предположение о возможности наследуемых изменений структуры хромосом компактизирующими химическими и физическими агентами. Для проверки этой гипотезы проводился модельный эксперимент на растениях лука посевного, точки роста корешков которых обрабатывались водным 0,1%-ным раствором колхицина в течение 2,5 часа. Это делалось в момент интенсивного деления клеток, большинство из которых к началу обработки находилось на стадиях прометафазы, метафазы.

Изучалась структура хромосом (хроматид) на стадиях деления ядра, следующих за К-метафазой, отличающейся дополнительной компактизацией хромосом под влиянием колхицина. Последующие этапы деления сопровождались деконденсацией хроматид и расхождением их к полюсам. Такая же картина отмечалась и в контроле (точка роста корешков здесь обрабатывалась дистиллированной водой); и естественно, что в этом случае, в метафазе, хромосомы были компактизированы меньше, чем при обработке колхицином. Общей закономерностью, отмеченной в обоих случаях, было четко наблюдаемое двунитчатое строение хроматид на постметафазных стадиях деления ядра. Продольное расщепление хроматид на полухроматиды наблюдается только в декомпактизованных районах (эухроматин). В компактизованных участках хроматид (гетерохроматиновые районы) полухроматиды сближены и образуют единые темноокрашенные участки, которые, располагаясь по всей длине, как бы связывают и ориентируют между собой полухроматиды.

Дифференциальная окраска хроматид в анафазе и установленное наличие полухроматид на этой стадии деления ядра позволили наблюдать изменения структуры полухроматид, индуцированных колхицином. На рис. 3 показан уве-



личный участок хроматиды, одна из полухроматид которой отличается своей структурой; образовался новый темно-окрашенный район, близлежащий к нему участок декомпактизовался и, значительно удлинившись, образовал свободно лежащую петлю. Естественно предположить, что описанная клетка в последующих делениях могла бы дать гетерозиготные по структуре хромосомы со всеми вытекающими отсюда последствиями: химерность тканей и аномалии в мейозе, обычно отмечаемые у растений, обработанных колхицином. Механизм описанного явления можно представить как остаточное явление дополнительной компактизации хромосом в метафазе, нарушающее нормальную декомпактизацию хроматид в последующих стадиях деления клетки. Такое же влияние (в большей или меньшей степени) должны оказывать и другие агенты, вызывающие компактизацию (коагуляцию) белков: низкие температуры, азид натрия и другие.

Таким образом, можно сделать однозначное заключение: использование компактизирующих агентов в методиках окраски хромосом может исказить характеристику их реальной структуры.

Источником кажущегося полиморфизма хромосом может быть и субъективность оценки разнообразия структуры. Г. В. Дерягин [2] пишет: «Различные предложения по стандартизации критериев оценки полиморфизма хромосом создают скорее лишь фикцию объективизации исследований, поскольку не решают главного затруднения — не снимают субъективности визуальной оценки размеров и интенсивности окрашивания отдельных хромосомных участков».

Оценка полиморфных вариантов хромосом — часть общей проблемы объективной идентификации хромосом. Основные усилия большинства исследователей были направлены на поиск «простых» методов классификации, исключая сложные: фотометрирование и использование ЭВМ. Поэтому биологическая часть проблем этого направления осталась фактически неизученной. Сейчас совершенно ясно, что без специальных технических средств и построенной на этой базе системы распознавания изображений структуры объективной идентификации не может быть.

Вопрос фотометрического сканирования технически полностью решен с помощью устройства, представляющего собой объединение микроскопа, сканирующего механизма и ЭВМ. Помимо снятия характеристик изображения объектов ЭВМ с помощью специального комплекта про-

грамм производит дополнительное распознавание хромосом.

Выделение существующих признаков для классификации хромосом неизбежно связано с формированием определенных модельных представлений о хромосоме. От точности соответствия модели самой хромосоме, с одной стороны, зависит эффективность процедуры классификации, а с другой — излишние подробности могут создать непреодолимые трудности в ходе ее выполнения. Следует всегда помнить, что как только используется какой-либо параметр или система параметров, классифицируются уже не сами хромосомы, а их модели, которые и характеризуются выбранными параметрами [1].

Методы дифференциальной окраски хромосом дали мощный стимул исследованиям роли хромосом в процессах наследственности и изменчивости, которые составляют основу эволюции. Эти методы позволили визуально однозначно идентифицировать у некоторых видов каждую хромосому кариотипа, а также сравнительно легко обнаруживать хромосомные перестройки. Таким образом, стало возможным контролировать внутреннее устройство хромосом, которое по определению Г. А. Левитского [6] есть «промежуточная между генами и сформированными хромосомами область внутренней структуры...»

Роль и значение хромосом в наследственности и изменчивости можно понять только с позиций системной организации биологических объектов. Такая точка зрения очень последовательно отстаивается в ряде работ [6, 7]. В частности, у Г. А. Левитского [6] подчеркнуто: «...каждый из этажей материальных основ наследственности (рис. 2) представляет собой специфическую, качественную, определенную систему отношений. Каждая вышестоящая конструкция вбирает в себя все предшествующие и сооружает на их основе свою собственную, качественно новую систему».

Набор хромосом со всем балансом их взаимоотношений — последняя макросистема, которую еще можно отнести к разряду фенотипических. Они несут в себе всю сложность предшествующих систем, плюс связи и закономерности, специфически присущие этой ступени материальных основ наследственности.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гостев А. А. и др. Формализация процедуры выделения гомологичных хромосом. — Докл. ВАСХНИЛ, 1981, № 4.
2. Дерягин Г. В. Структурно-функциональное разнообразие ка-

риотипов человека. — В кн.: Общая генетика. ВИНИТИ, М., 1981.

3. Дубинин Н. П. Общая генетика. М.: Наука, 1976.

4. Захаров А. Ф. Дифференциальная окрашиваемость хромосом: феномен и механизмы. — Успехи современной биологии, 1975, т. 80, вып. 3(6).

5. Левитский Г. А. Цитологический метод в селекции. — В кн.: Классики советской генетики. Л.: Наука, 1968.

6. Левитский Г. А. Морфология хромосом. — В кн.: Классики советской генетики. Л.: Наука, 1968.

7. Левонти Р. Генетические основы эволюции. М.: Мир, 1978.

8. Медников Б. М. Геном как целое. — В кн.: Уровни биологических систем. М.: Наука, 1980.

9. Семенов В. И. и др. Дифференциальная окраска хромосом некоторых многолетних пшениц. — В кн.: Проблемы отдаленной гибридизации. М.: Наука, 1979.

10. Сусков И. И. О структурной организации хромосом эукариот (обзор моделей). — В кн.: Общая генетика, т. 2. Итоги науки и техники. ВИНИТИ, М., 1977.

11. Теоретическая и математическая биология. М.: Мир, 1968.

12. Тимофеев-Ресовский Н. В. и др. Краткий очерк теории эволюции. М.: Наука, 1977.

13. Ченцов Ю. С. Общая цитология. Изд-во МГУ, 1978.

14. Четвериков С. С. О некоторых моментах эволюционного процесса с точки зрения современной генетики. — В кн.: Классики советской генетики. Л.: Наука, 1968.

15. Gostev O., Asker S. Polytene chromosomes in glandular hairs of *Salvia Harminum*, *Hereditas*, 88(1978), Brief reports, p. 123.

16. Gostev O., Asker S. A C-banding technique for small plant chromosomes, *Hereditas*, 91(1979), p. 140.

#### THE ROLE OF STRUCTURAL CHROMOSOME ORGANIZATION REVEALED BY METHODS OF DIFFERENTIAL STAINING IN PROCESSES OF INHERITANCE AND VARIABILITY

A. A. GOSTEV, V. S. KRYLOV, N. V. ORLYANSKY

#### SUMMARY

The state of chromosome level of the hereditary information organization within the hierarchical system of biological objects structure was analysed. On this basis the role of the chromosome structure in the heredity and variability processes is considered. Demands to the methods of differential chromosome coloration for the most complete revealing details of the chromosome structure with purpose of maximum employing the obtained information in practice are determined. The need for developing objective, quantitative characteristics both of natural and induced polymorphism of chromosomes is discussed.

#### ОСОБЕННОСТИ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ОКРАСКИ ХРОМОСОМ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВ ЛИЛЕЙНЫХ, СЛОЖНОЦВЕТНЫХ, ЗОНТИЧНЫХ И РОЗОЦВЕТНЫХ

Е. Ф. КРАПИВЕНКО; Е. Ю. БАШМАКОВА,  
Е. В. ИВАНОВА, Н. Н. ШКУРАТОВА

В цитогенетических исследованиях растительных объектов за последние годы большое значение приобрело изучение структурной организации хромосом с помощью дифференциальной окраски по Гимза, впервые предложенной в начале 70-х годов Воца и Марчи [15]. Этот метод позволяет получать специфический для каждой хромосомы рисунок, отражающий неоднородность ее структурной организации, которая заключается в наличии более конденсированных гетерохроматиновых и менее конденсированных эухроматиновых участков. Сегодня он находит применение для решения проблем, стоящих перед теорией эволюции, таксономией, а также перед селекцией растений. В частности, использование метода оказалось плодотворным в работах по отдаленной гибридизации зерновых сельскохозяйственных культур [5, 6, 4, 8, 10, 9, 12, 16].

В настоящее время создан ряд модификаций метода дифференциальной окраски хромосом. Общим для них является обработка объекта кислотными или щелочными растворами. Многие исследователи перед фиксацией воздействуют на материал растворами колхицина или холодом, что приводит к дополнительной компактизации хромосом [1, 7].

Хромосомы изучаются преимущественно на стадии метафазы митоза или мейоза [3]. Получаемый при этом рисунок характеризуется небольшим количеством деталей, что ограничивает возможность идентификации хромосом у длиннохромосомных объектов. У растений же с короткими и средними по размеру хромосомами попытки получения дифференциальной окраски не всегда дают сравнимые результаты. В этой связи для растительных объектов возникла необходимость в разработке универсальной методики дифференциальной окраски хромосом [14].

Задача настоящей работы — показать возможности выявления и идентификации хромосом растений, относящихся к семействам Liliaceae, Asteraceae, Rosaceae, Apiaceae, с помощью дифференциальной окраски по методике Гостева—Аскера [11].

Работа проводилась на *Allium cepa* L. (длина метафазных хромосом 12—20 мкм), *Crepis alpina* L. (длина метафазных хромосом 3,7—4 мкм), *Prunus salicina* L. (длина метафазных хромосом 0,5—0,8 мкм) и *Coriandrum sativum* L. (длина метафазных хромосом 1,7—2,7 мкм). У *A. cepa* L. и *C. sativum* L. препараты готовили из корешков, а у *Cr. alpina* L. и *P. salicina* L. — из молодых листочков. Хромосомы изучались по микрофотографиям с контролем под микроскопом при увеличении 100×12,5.

#### ALLIUM CEPA L.

Хромосомы лука в профазе имеют часто чередующиеся гетеро- и эухроматиновые участки. Большое количество информации, заключенной в рисунке дифференциально окрашенного хромосом, на этой стадии деления может быть использовано для изучения их структурной организации с помощью ЭВМ (рис. 1—1) [2].

Наиболее приемлемой для визуальной идентификации хромосом является стадия прометафазы. Хромосомы в это время более конденсированы, имеют мало наложений, а некоторая потеря информации для визуальной оценки не существенна (рис. 1—2).

Структура дифференциально окрашенных хромосом чаще всего изучается в метафазе. На этой стадии хромосомы достигают максимального сокращения, что ведет к слиянию отдельных участков хроматина. Не сокращенные колхицином хромосомы на метафазных пластинках имеют гетерохроматиновые блоки в центромерных и теломерных участках (рис. 1—3). Рисунок дифференциального окрашивания в сравнении с предыдущими стадиями более беден и несет меньше информации.

Стадия анафазы характеризуется некоторой декомпактизацией хромосом, в которых можно ясно различить две хроматиды (рис. 1—4). Присутствие на одной пластинке четырех пар гомологичных хромосом облегчает их визуальную идентификацию.



1. Митотические хромосомы *Allium cepa* L. (1—4), *Crepis alpina* L. (5—7), *Prunus salicina* L. (8—10).

## CREPIS ALPINA L.

Вследствие того, что на стадии профазы степень конденсации хромосом еще небольшая, особенности их структуры выявляются с наибольшими подробностями. Однако оценку отдельных хромосом визуалью провести невозможно из-за их пространственного наложения и сложности рисунка (рис. I—5).

В прометафазе продолжается конденсация хромосом, которые можно наблюдать в отдельных клетках свободно лежащими с незначительным количеством наложений (рис. I—6). Терминальные эухроматиновые участки, как правило, разделены на две хроматиды. Эти особенности делают прометафазные хромосомы удобными для визуальных исследований.

На стадии метафазы (рис. I—7) нетрудно подсчитать количество хромосом. Однако они плотно компактизованы и разница в степени конденсации между участками хромосом невелика. По этой причине любая оценка индивидуальных особенностей структуры хромосом осложнена.

## PRUNUS SALICINA L.

Отличительной чертой хромосом у сливы является их небольшой размер по сравнению с хромосомами *Cr. alpina* L. и тем более *A. sera* L. И, как следствие, общая характеристика хромосом в течение митоза имеет свои особенности. Например, на стадии профазы (рис. I—8) они в цитоплазме лежат свободно и мало перекрываются; четко различаются по размерам и особенностям дифференциального окрашивания. Структура хромосом характеризуется относительно небольшим количеством деталей. Визуально можно выделить от одного до трех крупных гетерохроматиновых блоков (а) в различных комбинациях с эухроматиновыми районами (б).

В прометафазе (рис. I—9) вследствие большей конденсации хромосом происходит сближение гетерохроматиновых участков (а). У некоторых хромосом терминальный эухроматиновый участок (б) разделен на две хроматиды. На всех прометафазных пластинках выделяются две хромосомы со спутниками (в).

В метафазных пластинках, одна из которых приведена на рис. I—10, хромосомы располагаются компактной группой в центральной части клетки со множеством перекрыва-

ний. Из-за сильной конденсации дифференциальность окрашивания хромосом визуалью не наблюдается.

## CORIANDRUM SATIVUM L.

Дифференциальность окрашивания хромосом отчетливо выражена на всех прометафазных пластинках. У них можно выделить следующие элементы: а — терминальные гетерохроматиновые районы; б — терминальные эухроматиновые участки, как правило, разделенные на хроматиды; в — интеркалярные гетерохроматиновые участки, чередующиеся в различных комбинациях с эухроматиновыми участками. Сходство хромосом по этим элементам и близость по размерам служит основанием для их распределения по логичным парам. В первом приближении хромосомы можно разделить на две неравные группы: А — имеющие на одном конце гетерохроматиновый участок, а на другом — эухроматиновый; Б — хромосомы, у которых оба терминальных участка эухроматиновые.

В группе А хромосомы распределяются по следующим парам:

1. Крупные по размеру. В области, прилегающей к гетерохроматиновому концу, можно выделить четыре гетерохроматиновых района, сходных у обеих хромосом (рис. II—1).

2. Крупные хромосомы, имеющие семь аналогичных по расположению интеркалярных гетерохроматиновых районов (рис. II—2).

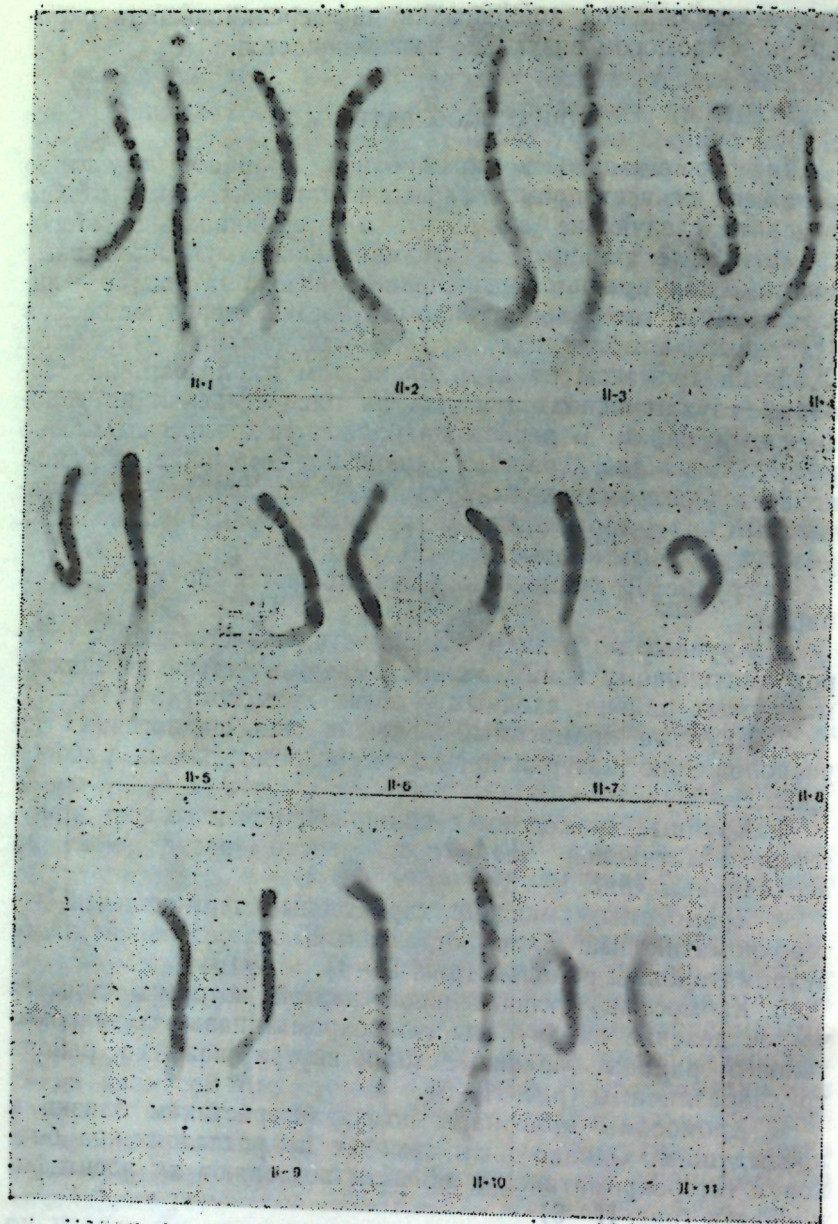
3. Крупные хромосомы с обширной, почти во всю длину, гетерохроматиновой областью, неясно разделенной на субъединицы (рис. II—3).

4. Хромосомы, имеющие характерный терминальный гетерохроматиновый блок, отделенный от остальной части эухроматиновым районом (рис. II—4).

5. Хромосомы, отличительной чертой которых является четкое деление на крупные гетерохроматиновый и эухроматиновый районы. Мелкие детали внутри каждого района трудноразличимы (рис. II—5).

6. Хромосомы этой пары по характеристикам близки к предыдущим. Однако пять сходных по расположению блоков в гетерохроматиновой области позволяют их идентифицировать (рис. II—6).

7. Хромосомы, близкие к двум предыдущим парам, но имеющие меньшие размеры (рис. II—7).



II. Кариотип *Coriandrum sativum* L. (1—11).

8. Аналогично трем предыдущим парам хромосомы данной пары четко делятся на гетеро- и эухроматиновые области. Внутри гетерохроматинового участка, ближе к концу расположена перетяжка, отделяющая короткое, плотно конденсированное плечо (рис. II—8).

9. Хромосомы этой пары плотно конденсированы, имеют небольшой эухроматиновый терминальный участок. Две перетяжки отчетливо делят хромосому на три части (рис. II—9).

К группе B можно отнести только две пары хромосом:

1. Крупные хромосомы, по всей длине которых четко выделяются интеркалярные гетерохроматиновые блоки, разделенные менее конденсированными участками (рис. II—10).

2. Относительно мелкие хромосомы с нечетким рисунком в гетерохроматиновой области (рис. II—11).

## ВЫВОДЫ

На основе проведенных исследований можно заключить следующее:

1. Используя методику Гостева—Аскера, дифференциальность окрашивания хромосом можно наблюдать как у длинно-, так и у короткохромосомных растений.

2. На стадии профазы дифференциальность окрашивания хромосом характеризуется наибольшими подробностями.

3. Для визуального изучения особенностей структуры хромосом у *Allium cepa* L., *Sterpis alpina* L., *Coriandrum sativum* L. наиболее удобна стадия прометафазы; для *Prunus salicina* L. — стадия профазы.

4. Вследствие большей конденсации хромосом в метафазе происходит сближение и объединение отдельных гетерохроматиновых участков; у короткохромосомных растений дифференциальность на этой стадии визуально не наблюдается.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Брежнев Д. Д., Турков В. Д. Кариологическое изучение генетического фонда растительных ресурсов — Сельскохозяйственная биология, 1974, т. 9, № 3.

2. Гостев А. А., Крылов В. С. Формализация процедуры выделения гомологичных хромосом. — Докл. ВАСХНИЛ, 1981, № 4.

3. Захаров А. Ф. Дифференциальная окраска хромосом: феномен и механизмы. — Успехи современной биологии, 1975, вып. 3(6).

4. Степóчкин П. И. Анализ мейоза различных форм 42-хромосомных тритикале методом дифференциальной окраски хромосом. — Известия СО АН СССР, 1975, вып. 3, № 15.
5. Шапова А. И. Дифференциальная окраска хромосом ржи и пшенично-ржаных амфидиплоидов. Итоги научных работ Института цитологии и генетики СО АН СССР, 1973. Новосибирск: Наука, 1974.
6. Шапова А. И. и др. Дифференциальная окраска хромосом ржи и пшенично-ржаного амфидиплоида. — Известия СО АН СССР, 1974, вып. 2(10).
7. Шапова А. И. Дифференциальная окраска хромосом по Гимза и перспективы использования этого метода в цитогенетике растений. — В кн.: Цитогенетика гибридов, мутаций и эволюция кариотипа. Новосибирск: Наука, 1977.
8. Bennet M. D., Smith J. B. Confirmation of the identification of the rye chromosome in 1B/1R wheat-rye chromosome substitution and translocation lines. — *Canad. J. Genet. Cytol.*, 1975, 17, N 1, 117—120.
9. Darvey N. L. et al. Identification of rye chromosome in wheat-rye addition lines and triticales by heterochromatin bands. — *Crop Sci.*, 1975, 15, N 2, 239—243.
10. Gill B. S., Kimber G. Giemsa C-banding and the evolution of wheat. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1974, 71, N 10, 4086—4090.
11. Gostev A. A. and Asker S. A c-banding technique for small plant chromosomes. — *Hereditas*, 1979, 91, 140—143.
12. Sarkar P., Stebbins G. L. Morphological evidence concerning the origin of the B-genom in wheat. — *Amer. J. Bot.*, 1956, 43, 297—304.
13. Tanaka R., Taniguchi K. A banding method for plant chromosomes. — *Japan J. Genetics*, 1975, vol. 50, N 2, 163—167.
14. Tanaka R., Kabuto K. Differential staining of heterochromatin in Haplopappus. — *Japan Journal of Genetics*, 1974, vol. 49, 339—340.
15. Vosa C. G., Marchi P. Quinacrine fluorescence and Giemsa staining in plant. — *Nature New Biology*, 1972, 237, N 75, 191—192.
16. Weimark A. Elimination of wheat and rye chromosomes in a strain of octoploid Triticale as revealed by Giemsa banding technique. — *Heredity*, 1974, 77, N 2, 281—285.

**SPECIAL CHARACTERS OF DIFFERENTIAL CHROMOSOME  
STAINING IN PLANTS OF LILIACEAE, ASTERACEAE,  
APIACEAE AND ROSACEAE**

E. F. KRAPIVENKO, E. Y. BASHMAKOVA,  
E. V. IVANOVA, N. N. SHKURATOVA

**SUMMARY**

A possibility of visual revealing the special characters of structure organization and chromosome identification in plants belonging to families Liliaceae, Asteraceae, Rosaceae and Apiaceae with aid of the differential staining by the

method of Gostev—Asker is shown. Using this procedure, differentiability of the chromosome staining can be observed both in long- and short-chromosomal plants. To study visually the special characters of the chromosome structure in *Allium cepa* L., and *Crepis alpina* L., the prometaphase stage is most suitable; for *Prunus salicina* L. the stage of prophase is more convenient. Eleven pairs of homologous chromosomes in *Coriandrum sativum* L. have been identified at the prometaphase stage.

**НЕКОТОРЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ  
РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ХРОМАТИНА В МИТОТИЧЕСКИХ,  
ПОЛИТЕННЫХ И ПАХИТЕННЫХ ХРОМОСОМАХ  
SALVIA HORMINUM**

Н. В. ОРЛЯНСКИЙ, С. П. ОРЛЕНКО, Н. Н. ШКУРАТОВА

За время изучения хромосом эукариот было получено большое количество данных об их структуре и функциях.

Первые представления о морфологии хромосом были даны в работах Н. Баранецкого (1880 г.), Е. Страсбургера (1882 г.), Ф. Вейдовского (1912 г.). Ряд идей об организации хромосом были высказаны С. Г. Навашиным (1910—1914, 1915—1928 гг.), Г. А. Левицким (1931 г.) [3, 6, 7].

Heitz в 20—30-е годы нашего столетия обнаружил два типа хроматина, названные им эу- и гетерохроматином. Различия между двумя этими типами хроматина обуславливают возможность дифференциального окрашивания хромосом.

Представления о неравномерной структуре хромосом по всей их длине и метод дифференциального окрашивания позволили получить новые данные о морфологии, структуре и функциях разных типов хромосом: митотических, политенных и пахитенных.

Митотические хромосомы изучаются на протяжении столет на разных уровнях их организации и считаются наиболее изученными. В ходе исследований сложились разные модели и представления об их структуре [1, 6].

Используя современный метод дифференциального окрашивания хромосом, можно получить дополнительную информацию об их организации на протяжении всего цикла деления ядра [6].

Митотические хромосомы растений и животных имеют чередующиеся участки эу- и гетерохроматина, выявляемого на всех стадиях митоза. Рисунок изменяется при переходе от стадии к стадии, достигает наибольшего разнообразия в профазе и менее богат и информативен в метафазе.

В литературе почти нет данных о митотических хромосомах *Drosophila melanogaster*, которые в отличие от политенных хромосом из-за малых размеров изучены в меньшей степени.

Впервые политенные хромосомы были обнаружены в 1881 г. Е. Г. Бальбиани, но их значение по-настоящему не было оценено до тех пор, пока спустя полвека они не были открыты рядом ученых вновь [6].

Политенные хромосомы содержатся главным образом в четко дифференцированных органах, где наблюдается интенсивный обмен: в клетках слюнных желез, кишечнике, мальпигиевых сосудах, клетках трахей ряда представителей отряда Diptera [2, 5, 6, 7]; у растений — например, в железистых клетках *Salvia horminum* [8], пыльниках *Bryonia* [10], клетках проэмбриона *Phaseolus* [11].

Возникают политенные хромосомы в результате эндомитоза. При этом дочерние хроматиды, образующиеся в ходе последовательных синтезов ДНК, не расходятся, а, наоборот, оставаясь вместе, тесно конъюгируют. Таким образом происходит накопление хромомем [2, 6, 7].

Политенные хромосомы, обнаруженные у насекомых [2], имеют строгий и четкий рисунок в виде поперечных дисков разной толщины и морфологии, определяющих специфику каждой хромосомы. Диски окрашиваются интенсивнее по сравнению с соседними междисками и выявляются как более плотные участки, возникающие вследствие локального увеличения плотности упаковки индивидуальных хроматиновых нитей в хромомерах [6, 7, 8, 10].

Политенные хромосомы растений изучены в меньшей мере. Во всех известных случаях они отличаются более слабой выраженностью перехода эу- и гетерохроматина.

Д. Швейцер, произведя сравнение митотических и политенных хромосом рода *Phaseolus*, окрашенных по Гимзе, пришел к выводу, что они имеют аналогичное расположение эу- и гетерохроматиновых участков по длине хромосом, но у политенных, в отличие от митотических, выявляются дополнительные банды [11].

На определенной стадии развития некоторые диски приобретают вид рыхлых набухших вздутых, которые называют «пуфами». В 1952 г. В. Беэрман, исследуя диски гигантских хромосом из четырех различных тканей *Chironomus tentans*, пришел к заключению, что образование пуфов есть результат генной активности [5].

По мнению Э. де Робертиса с сотрудниками [7] характерная особенность политенных хомосом — тесная конъюгация гомологов, подобно тому, что наблюдается в профазе митоза. При этом в клетке отмечается гаплоидное число хромосом. Например, у *Bignonia dioica* [10] можно увидеть только 10 хромосом, что соответствует гаплоидному набору. Вместе с тем для растений описаны и диплоидные наборы политенных хромосом. В ядрах железистых клеток *Salvia horminum* [8] обнаружено, например, 16 больших хромосом, что соответствует числу хромосом соматических клеток.

До разработки методов дифференциального окрашивания систематические исследования структурной организации хромосом эукариот обычно проводились на пахитенных хромосомах растений и животных.

На стадии пахитены мейоза высших организмов так называемые пахитенные хромосомы отличаются ярко выраженной неоднородностью по длине [4], большой протяженностью и четким выявлением структуры большинством ядерных красителей.

Методы анализа структуры пахитенных хромосом широкого распространения не приобрели из-за кратковременности этой стадии мейоза и сложности их идентификации (большая протяженность и частые наложения участков хромосом).

У *Salvia horminum* установлена возможность изучения всех типов хромосом: митотических, политенных и пахитенных. Поэтому сравнение их организации представляет большой интерес. Более того, *Salvia horminum* является удобным для наблюдения объектом еще и потому, что участки гетерохроматина здесь локализованы в основном только в центральных районах и легко выявляются [8].

### Материал и методика

Для исследований взяли растения *Salvia horminum* и *S. sclarea* в стадии бутонизации.

Чтобы приготовить давленные препараты митотических хромосом, использовали активно делящиеся части корешков; у политенных хромосом — бутоны, на чашечках которых имеются железистые волоски; у пахитенных хромосом — пыльники, извлеченные из бутонов.

Материал окрашивали спиртовым раствором солянокислого кармина (по Сноу) и дифференциально — по методике Гостева—Аскера, без предобработки колхицином.

Для сравнения результатов использован визуальный метод анализа.

### Результаты и обсуждение

Анализируя результаты сравнения митотических, политенных и пахитенных хромосом *Salvia horminum* (рис. 1, 2, 3), можно отметить ряд общих закономерностей в их структурной организации, несмотря на функциональные различия клеток, содержащих эти хромосомы. Так, в одном наборе хромосом, независимо из какой функциональной группы они взяты, отмечается закономерность формы и размеров относительно друг друга. Например, в каждом наборе хромосом выявлены две пары длинных, четыре — средних и две — коротких хромосом. В клетках многоклеточных волосков, имеющих гаплоидный набор, — соответственно две короткие, четыре средние и две пары хромосом малых размеров [9].

Рисунок митотических хромосом характеризуется наличием больших районов гетерохроматина в центральных участках. Аналогичные картины нами отмечены в политенных диплоидных и гаплоидных клетках, а также у пахитенных хромосом.

В структурной организации всех типов хромосом общим также является то, что хроматиды в профазе-метафазе и хромонемы в анафазе обычно скреплены только в гетерохроматиновых районах.

Основное различие между изученными типами хромосом заключается в количестве хромонем, их составляющих. У митотических хромосом оно равно четырем, но в прометафазе (представлена на рис. 1) мы наблюдаем в терминальных участках две хроматиды, иногда расходящиеся в стороны.

Митотические хромосомы *S. sclarea* имеют довольно четкий рисунок чередования эу- и гетерохроматина. У *S. horminum* (рис. 1), как было показано [9], гетерохроматин локализуется в основном в центральном участке, остальная часть хромосомы представлена эухроматином.

Аналогичную картину наблюдаем и у политенных хромосом, с той лишь разницей, что они увеличены в размерах в результате эндополиплоидии (в 12—16 раз). Политенные хромосомы являются многослойными; как и у митотических, хроматин плотно скреплен в участках расположения гетеро-



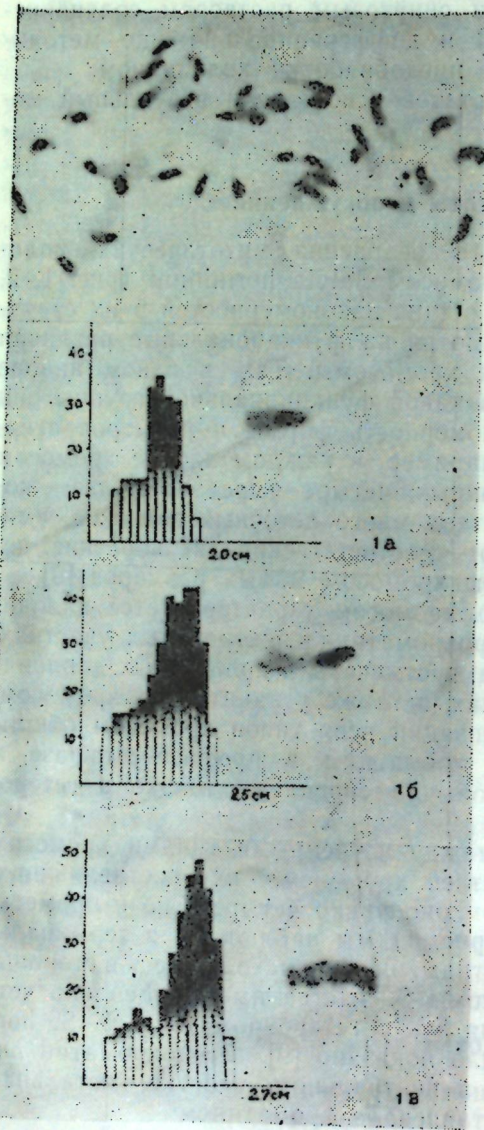


Рис. 1. Митотические хромосомы *S. horminum* (а, б, в — графики плотностей отдельных митотических хромосом *S. horminum*).

хроматина. У *Sclarea* вдоль всей длины хромосомы наблюдается несколько гетерохроматиновых блоков, связанных между собой нитями эухроматина (рис. 4). Блок гетерохроматина у *S. horminum* окружен ореолом свободно лежащего эухроматина (рис. 2).

Пахитенные хромосомы отличаются от митотических и политенных кажущейся одноритчатостью терминального хроматина. Гетерохроматин плотно компактизован и в виде двух глобул располагается в центромерном участке (рис. 3).

Основная функциональная нагрузка всех типов хромосом — реализация наследственной информации, и, как следствие этого, наблюдается примерно общий план линейной дифференцировки. Вместе с тем в связи со специализацией клеток отмечаются незначительные индивидуальные различия в плане структурной организации. Например, в пространственном расположении эухроматина в терминальных участках.

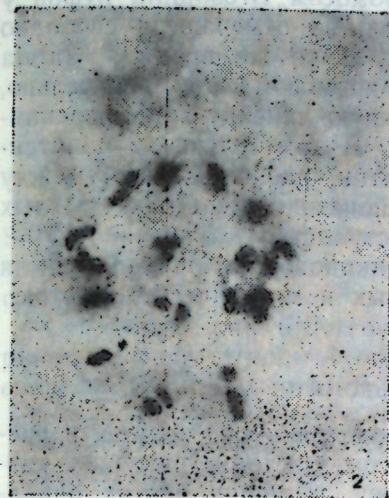


Рис. 2. Политенные хромосомы *S. horminum*.



Рис. 3. Пахитенные хромосомы *S. horminum*.

Используемые нами визуальные методы анализа митотических, политенных и пахитенных хромосом установить незначительные различия в структуре не позволяют. Однако анализ политенных хромосом железистых волосков *Salvia horminum* на разных стадиях эндополлиплоидии и их сравнение с митотическими, позволяют предположить, что в делительных клетках политенные хромосомы находятся в своеобразном структурном состоянии, в котором их гетерохроматиновая часть компактизована и функционирует, как в метафазных хромосомах, а эухроматиновая — как в интерфазном состоянии.

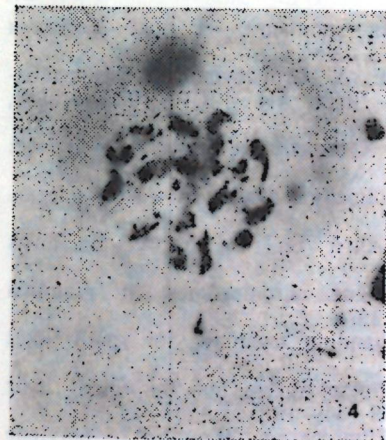


Рис. 4. Политенные хромосомы *S. sclarea*.

При этом локализация эухроматиновой части в терминальном конце хромосом сказывается на общем виде этого участка.

В отличие от политенных хромосом *Drosophila* пуфов у *Salvia horminum* не наблюдается, но отмечаются свободно расположенные нити хроматина. В то же время у *Salvia sclarea* структура митотических хромосом, а следовательно, и политенных, имеет более сложную линейную дифференциальность вдоль тела хромосомы. В этом случае у политенных хромосом (рис. 4) эухроматин, расположенный между двумя гетерохроматиновыми районами, имеет вид рыхлых пуфов, занимающих большое пространство.

Описанные выше явления функционально оправданы для меристематических, выделительных и митотических клеток.

## ВЫВОДЫ

1. Установлено, что соотношение размеров, формы и распределения хроматина в хромосомах клеток, несущих различную функциональную нагрузку, в общих чертах одинаково.

2. Показано, что гетерохроматиновые районы для хроматид являются скрепляющими.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бродский В. Я., Урываева И. В. Клеточная полиплоидия. Пролiferация и дифференцировка. М.: Наука, 1981.
2. Кикинадзе И. И. Функциональная организация хромосом. Л.: Наука, 1972.
3. Левицкий Г. А. Морфология хромосом. — В кн.: Классики советской генетики. Л.: Наука, 1968.
4. Турков В. Д., Рашкован Е. А. Структурная дифференциация митотических хромосом растений. — Докл. АН СССР, 1976, т. 231, № 3.
5. Беерман В., Клевер У. Хромосомные вздуття. — В кн.: Молекулы и клетки. М.: Мир, 1976.
6. Босток К., Самнер Э. Хромосома эукариотической клетки. М.: Мир, 1981.
7. Робертс Э. Де, Новинский В., Саэс Ф. Биология клетки. М.: Мир, 1973.
8. Gostev A., Asker C. Polytene chromosomes in glandular hairs of *Salvia Horminum*, *Hereditas*, 88, 1978.
9. Gostev A., Asker C. A c-banding technique for small plant chromosomes, *Hereditas*, 91, 1979.
10. Peter W. Barlow. The politene nucleus of the Giant Hair Cellof *Bryonia Athers*, *Protoplasma*, 83, 339—349, 1975.
11. Sshweizer D. Giemsa and Fluorochrome Banding of polytene Chromosomes in *Phaseolus vulgaris* and *Ph. coccineus*, *Current Chromosomes Research*, 1976.

## SOME OBJECTIVE LAWS OF CHROMATIN DISTRIBUTION IN MITOTIC, POLYTENE AND PACHYTENE CHROMOSOMES

N. V. ORLYANSKY, S. P. ORLENKO, N. N. SHKURATOVA

## SUMMARY

A study and comparison of three chromosome types of *Salvia horminum* (mitotic, polytene and pachtene ones) stained both differentially and by Snow's method has been carried out.

Community and difference of these chromosome types in plane of their structural organization were stated, which is connected with the functional load.

## ТРАНСФОРМАЦИЯ СТРУКТУРЫ ХРОСОМ В ПРОЦЕССЕ МИТОЗА И ВОЗМОЖНОСТИ ЕЕ МАТЕМАТИЧЕСКОГО ОПИСАНИЯ

В. С. КРЫЛОВ;

А. А. ГОСТЕВ,

кандидат биологических наук

Хромосомы эукариот являются сложными иерархически организованными системами, динамично изменяющимися в процессе жизнедеятельности клетки. Проблема понимания их структурной организации и функционирования этой структуры — одна из самых важных проблем, имеющих как фундаментальное, так и прикладное значение [7]. Несмотря на интенсивные исследования, цельного представления о структурной организации хромосом на различных стадиях деления клетки нет. В этой связи построение модели, адекватно описывающей динамику изменения хромосом в процессе жизнедеятельности клетки, является единственным инструментом изучения процесса трансформации структуры хромосом. Многочисленные модели строения хромосом, предложенные за последнее время, созданы по принципу от раскрытия внутренней структуры к объяснению внешнего поведения [8]. Следует подчеркнуть, что как модели, так и описание динамики изменения структуры хромосом, носят исключительно качественный характер, и оценка правдоподобности того или иного варианта является сугубо субъективной оценкой автора той или иной модели.

Если сопоставить диаметр элементарной фибриллы хромосомы  $40 \div 400 \text{ \AA}$  [8] с размером минимально разрешимого в световой микроскоп объекта  $\approx 2500 \text{ \AA}$  [1], легко понять, что методы изучения строения хромосом с помощью красителей позволяют наблюдать лишь их макроорганизацию, то есть распределение некоторого компонента в хромосоме, и, в какой-то степени, — его химическую активность, соответствующую функциональному состоянию и значению выделенного компонента.

Основная проблема моделирования изменения хромосом в процессе деления клетки состоит в разработке таких моделей, которые помимо качественного соответствия результатам наблюдения будут допускать количественную проверку на адекватность. Подходы в построении количественных моделей структуры принципиально различны для тех случаев, когда совершается переход от молекулярного уровня к надмолекулярному, и когда моделируется изменение хромосом как макрообъектов, то есть объектов, видимых в световой микроскоп.

Изучение объектов на молекулярном уровне возможно только косвенным путем, то есть приведением во взаимодействие изучаемой микросистемы с макроприбором, либо с помощью системы химических реакций, которые позволяют судить о всей структуре в целом. Например, наблюдения в электронный микроскоп носят косвенный характер, потому что они дают картину дифракции электронов на изучаемых структурах, и только в простых случаях можно по этой картине однозначно восстановить истинное строение наблюдаемых объектов. Напротив, изучение изменений хромосом с помощью различных способов окраски ведется прямыми методами, и поэтому возможна непосредственная количественная проверка моделей на адекватность.

Разрабатывать количественные модели практически целесообразно и методически легче, если ориентироваться на решение какой-либо определенной проблемы. Одна из таких проблем — идентификация гомологичных пар хромосом по наблюдаемому рисунку, полученному с помощью метода дифференциальной окраски. При определении стадии деления клетки выделяется целый интервал с нечеткими условными границами. И если у метафазы эти границы более или менее четко устанавливаются, то при изучении прометафазных и профазных хромосом эти границы размыты. Поэтому главным препятствием в сопоставлении структуры хромосом разных объектов является трудность поиска клеток, находящихся точно в одной стадии деления. Отбор хромосомных пластинок только одной определенной стадии будет приводить к отбрасыванию огромной массы фактического материала. В рамках морфометрического анализа эта проблема формулируется так: «Разработка эффективной методики учета спирализации» [9]. Решения этой проблемы предлагаются либо в виде тщательности контроля однородности выборки метафазных пластинок [9, 2], либо в виде исследования ди-

намки морфометрических параметров хромосом [4, 5].

На этапе поиска функции преобразования необходимо проанализировать процесс наблюдения и вытекающую из него интерпретацию результатов изучения дифференциально окрашенных хромосом. В первую очередь следует установить различие между пропусканием света и плотностью (С) красителя, которая определяется структурой хромосомы. Пропускание можно охарактеризовать отношением интенсивности прошедшего через изучаемый объект света к интенсивности падающего света. В соответствии с законом Бугера [1, 10]:

$$\tau = \frac{I_{\text{пр}}}{I_{\text{пад}}} = C^{-\varepsilon \cdot c \cdot d}, \quad (1)$$

где  $\tau$  — пропускание света;  $I_{\text{пад}}$ ;  $I_{\text{пр}}$  — соответственно интенсивность падающего и прошедшего света;  $\varepsilon$  — показатель поглощения, характеризующий свойство поглощающих центров в участке;  $d$  — толщина поглощающего слоя;  $C$  — концентрация поглощающих центров.

В эксперименте реально регистрируют (визуально или с помощью приборов) величину изучаемого участка, а выводы о структуре хромосом, о динамике изменения их структуры можно делать только на основании знания величины  $C$ . Оценка соотношений величин эухроматиновых и гетерохроматиновых районов, которая делается с помощью соответствующих темных и светлых мест на фотографии хромосом, будет в значительной степени отличаться от действительного соотношения плотностей красящих центров изучаемых районов хромосомы. При изучении фотографических изображений помимо экспоненциальной зависимости пропускания от плотности красителя необходимо учитывать еще и зависимость почернения фотоматериала от падающего света.

Несмотря на высокий уровень развития приборов [10] и методик измерения плотности распределения тех или иных веществ в органеллах клетки, эти методики никак не фигурируют в работах о структуре хромосом, выявляемой с помощью методов дифференциальной окраски. Например, во многих работах делается качественный вывод о различной способности к сокращению эу- и гетерохроматиновых районов. И в самом деле, сокращение может быть одинаковым, а наблюдаемое изменение величины темных и светлых участков, являясь нелинейной функцией плотности красящих центров, будет показывать разную величину изменения.

Обычно наблюдаемый объект фотографируют и сканируют фотографическое изображение, то есть изучается не собственно зависимость [1], а соотношения почернений на изображении хромосомы между выбранными участками. В соответствии с определением почернения фотоэмульсии [6] и учетом того, что падающая на фотоэмульсию освещенность от изображения хромосомы определяется по формуле (1), нетрудно вывести зависимость между величиной почернения фотоэмульсии и плотностью красящих центров в изучаемом участке:

$$D = a - \gamma \cdot \varepsilon \cdot d \cdot c, \quad (2)$$

где  $D$  — величина почернения;  $\gamma$  — коэффициент контрастности фотоэмульсии;  $a$  — некоторая постоянная.

На формирование фотонизображения воздействует множество неконтролируемых факторов, поэтому непосредственно построить функцию перехода из-за высокого уровня случайных ошибок трудно, но характер связи между наблюдаемыми изображениями (линейный или нелинейный) определить можно.

При установлении закономерностей изменения структуры хромосом от стадии к стадии необходимо учесть возможность дифференциального характера конденсации отдельных участков хромосом. В этом случае существенным моментом является проверка предположения о характере конденсации самих участков (однородный или неоднородный). Косвенно однородность можно вывести из результатов целой серии работ по вопросу дифференциальной конденсации, в которых приводятся зависимости удлинения выделенных хромосом от удлинения всего набора. Эта зависимость носит линейный характер [4, 5].

Покажем, что из линейной зависимости конденсации отдельных участков следует линейная зависимость конденсации всей хромосомы. Пусть  $L$  — полная длина изучаемого набора и  $L_i^j$  — длина  $i$ -го участка  $j$ -й хромосомы, тогда из предположения однородности или линейной зависимости для каждого участка можно написать:

$$\begin{aligned} L_i^j &= A_i^j L + B_i^j \\ \hline L_i^j &= A_i^j L + B_i^j \\ \hline L_n^j &= A_n^j L + B_n^j \end{aligned} \quad (3)$$

Суммируя длину всех участков, очевидно, получим длину всей хромосомы, которая также будет функцией длины набора:

$$L^j = \left( \sum_{i=1}^N L_i^j \right) = \left( \sum_{i=1}^N A_i^j \right) L + \left( \sum_{i=1}^N B_i^j \right) \quad (4)$$

Следовательно, из однородности конденсации участков вытекает, что функция преобразования графиков будет представлять собой набор линейных функций, каждая из которых преобразует изображение определенного участка хромосомы.

Остановимся на изучении общего характера зависимости между изображениями структуры хромосом и попробуем сформулировать основные положения алгоритма выделения однородных участков, а также входящий в него алгоритм построения функции преобразования.

Будем изучать зависимость между графиками следующим способом. Разобьем их на всех стадиях деления на одно и то же число участков и изучим вид функциональной зависимости между графиками, сопоставляя точки с одинаковыми номерами (рис. 1).

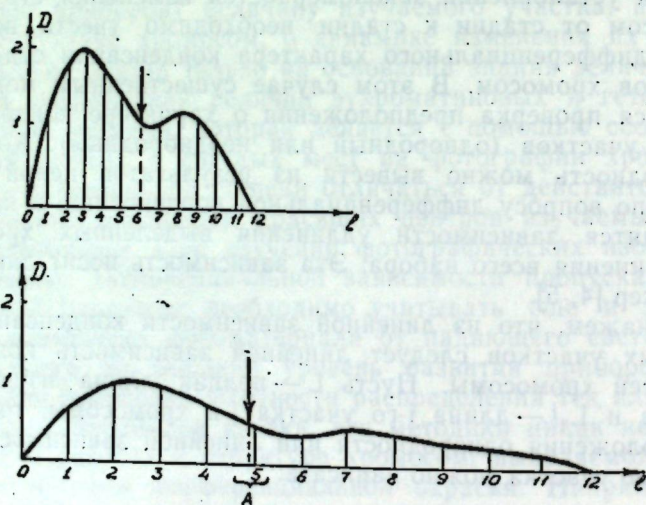


Рис. 1. Сопоставление разбиений графиков распределения красителя на хромосомах.

Условные обозначения:

- ↓ — граница участков с разной конденсацией;
- A — точки разбиения, которые искажают линейную зависимость.

Если характер конденсации участков хромосом одинаков, зависимость между графиками должна быть линейной, несмотря на то, что из-за сопоставления точек, принадлежащих участкам с различной конденсацией, неизбежно искажение. Но если шаг разбиения взять достаточно малым, а количество участков с различной способностью к конденсации невелико, искажение результата будет небольшим. Когда же все участки конденсируются неоднородным образом, зависимость между графиками будет носить или нелинейный или неопределенный характер.

С помощью предложенной схемы исследования изучались ряд легко узнаваемых хромосом шалфея мускатного и четыреххромосомный представитель рода *Nephraria*. Препараты указанных объектов фотографировались с помощью микроскопа МБИ-15 на фотопленку «Микрат-300». Освещение и выдержка выбирались так, чтобы почернения на негативе не выходили за пределы линейного участка. Негативы сканировались оптической системой микрофотометра МФ-4. Результаты сканирования затем обрабатывались с помощью пакета специализированных программ на ЭВМ «Минск-32».

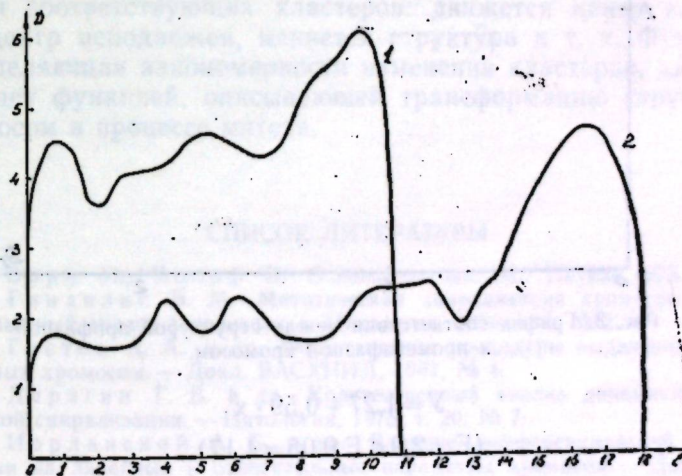


Рис. 2. Графики распределения почернений на фотонизображении хромосом *S. Selarea*:

1 — прометафаза; 2 — профаза.

Коэффициенты корреляций между графиками хромосом находились во всех случаях в пределах 0,75—0,89. На рисунке 2 представлены графики распределения оптической плотности у одной из хромосом шалфея мускатного, находящейся в профазном и прометафазном состояниях. Функция соответствия хорошо аппроксимируется линейной зависимостью (рис. 3):

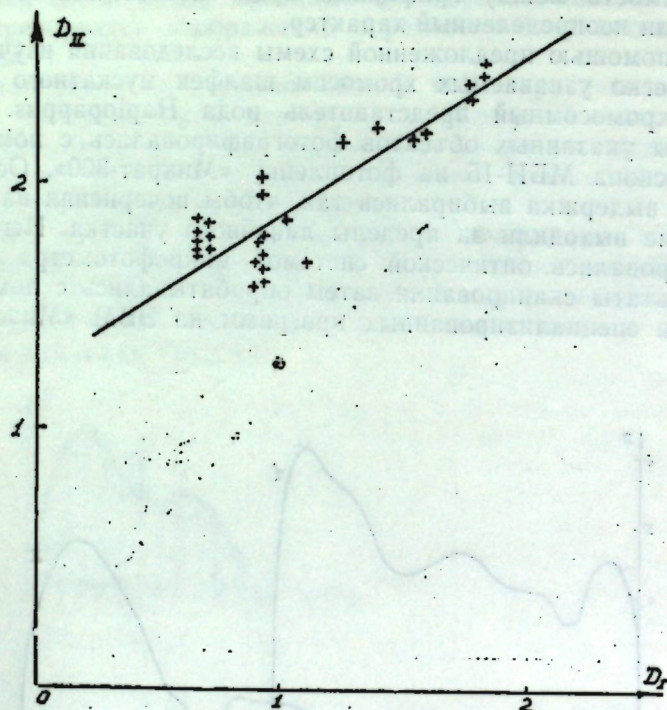


Рис. 3. График соответствия между структурой профазной и прометафазной хромосом.

$$Y = 1,27 + 0,59 \cdot x$$

$$(F = 2,9 < F_{0,05} = 4,17) \quad (5)$$

Коэффициент корреляции  $r = 0,85$ . Таким образом, гипотезу о том, что хромосома составлена из участков, конденсация которых протекает в процессе митоза однородно, можно считать достаточно обоснованной.

Изучение трансформации структуры хромосом в процессе митоза находится на самом начальном этапе, и поэтому трудно прогнозировать использование тех или иных математических теорий. Приведем краткую характеристику одного из возможных направлений развития математического описания, которое наиболее полно соответствует современному пониманию стоящих проблем.

Воспользуемся представлением хромосом векторами из пространства функций, определенных на заданном отрезке [3]. В этом случае гомологичная пара хромосом (а также все полиморфные варианты) образует кластер, который характеризуется не только центром (то есть средней величиной), но и «поперечными» размерами, то есть величиной максимально возможного отклонения от центра. Такое математическое описание соответствует представлению о некоторой базисной структуре хромосом (отражаемой графиком) и одновременно учитывает возможные полиморфные варианты хромосом, дающие нормальный фенотип. Именно полиморфизм будет определять структуру кластера, то есть закономерности отклонения от центра (случайные, не случайные и т. д.). Из этого следует, что динамику изменения структуры хромосом можно описывать как динамику изменения соответствующих кластеров: движется центр кластера; центр неподвижен, меняется структура и т. п. Функция, определяющая закономерности изменения кластеров, как раз и будет функцией, описывающей трансформацию структуры хромосом в процессе митоза.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Борн М., Вольф Э. Основы оптики. М.: Наука, 1973.
2. Гиндилис В. М. Митотическая спирализация хромосом и карнограммный анализ у человека. — Цитология, 1966, т. 8, № 2.
3. Гостев А. А. и др. Формализация процедуры выделения гомологичных хромосом. — Докл. ВАСХНИЛ, 1981, № 4.
4. Дерягин Г. В. и др. Количественный анализ динамики митотической спирализации. — Цитология, 1978, т. 20, № 7.
5. Иорданский А. Б. и др. Влияние дифференциальной спирализации на линейные и относительные параметры хромосом. — Докл. АН СССР, 1971, т. 201, № 1, 2, 3.
6. Малышев В. И. Введение в экспериментальную спектроскопию. М.: Наука, 1979.
7. Порошенко П. Г. Функционально-структурные изменения хромосом на протяжении митотического цикла. — В кн.: Итоги науки. Общая генетика, т. 2, ВИНТИ. М., 1972.

8. Сусков П. П. О структурной организации хромосом эукариот (обзор моделей). — В кн.: Итоги науки. Общая генетика, т. 2, ВИННИТИ, М., 1972.

9. Современные проблемы машинного анализа биологических структур. М.: Наука, 1970.

10. Введение в количественную цитохимию. М.: Мир, 1969.

#### TRANSFORMATION OF CHROMOSOME STRUCTURE DURING MITOSIS AND POSSIBILITIES OF ITS MATHEMATICAL DESCRIPTION

V. S. KRYLOV, A. A. GOSTEV

#### SUMMARY

The development of methods of studying the dynamics of chromosome structure alteration during the mitosis process is an important problem of chromosomes investigation. One of directions in resolving this problem is drawing up the function of the chromosome structure transformation revealed by the methods of differential staining. Developing the techniques of searching the transformation function demanded to select the level of chromosome model, to make an analysis of reading the structure characteristics and to search the methods of diagramming numerical dependences.

The methodical approach proposed here was used in studying the plant objects with different chromosome sizes (*Sclarea* and *Haplopappus*). In all cases the linear relation between the chromosome structure at different stages of the mitotic cycle was noted. Development of this methodical approach will allow to make up a quantitative characteristics of the chromosome polymorphism and to work out the mathematical theory of their structure alteration dynamics in the mitosis process.

#### ОПЛОДОТВОРЕНИЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ СЕМЯПОЧЕК IN VITRO — ВАЖНОЕ ЗВЕНО СЕЛЕКЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА

А. И. ЗДРУИКОВСКАЯ-РИХТЕР,  
доктор биологических наук;  
М. С. БАБАСЮК

Наиболее эффективным методом формообразования многие ведущие ученые считают отдаленную гибридизацию [1, 4, 7]. Однако селекционно-генетическая практика часто сталкивается с большими трудностями, связанными с явлениями само- и перекрестной несовместимости исходных форм при гибридизации. Это обычно приводит либо к полному отсутствию процессов оплодотворения и формирования семян, либо зародыши, начавшие развитие, погибают на ранних стадиях эмбриогенеза, либо происходит образование различного рода неполноценных семян, неспособных дать взрослые организмы. Вполне понятно, что устранение указанных затруднений открыло бы широкие перспективы для создания самых разнообразных, важных в практическом отношении форм и сортов.

Как известно, у многих растений барьер само- и перекрестной несовместимости находится в тканях пестика. Это мешает возможности осуществления процесса оплодотворения. В этом случае может быть использован метод опыления и оплодотворения *in vitro*, разработанный индийскими учеными [9].

Здесь представлены некоторые итоги работ, связанных с использованием названного метода рядом авторов, включая и авторов настоящей статьи.

#### Материал и методика

Объектами исследований служил целый ряд видов растений разных семейств, причем большая их часть относится к семейству пасленовых и крестоцветных (*Nicotiana tabacum*, *N. petunia*, *Brassicacia brassica* n. sp.). В данной работе использованы *N. tabacum* (сорт Дюбек), *Peonia triter-*

nata Poll., *P. tenuifolia* L., *Narcissus*; группа крупнокорончатых нарциссов сорт *Fortuna*; *Dianthus caryophyllus* группы *William Sim* и *Cerasus avium* (L.) Moench (сорт *Ранняя Рыбка* и *Багратион*).

В процессе работы использовали объекты, которым свойственно наличие хорошо развитой плаценты с большим числом семяпочек. Наши методические приемы состояли в следующем. Пестики или изолированные плаценты с семяпочками помещали на поверхность агаризованной питательной среды. Сюда же вносили подготовленную заранее пыльцу. Все это делалось в асептических условиях.

Многие исследователи в качестве основных питательных сред применяли среды, составленные по Ничу [10] и Уайту [13]. Добавками к ним служили гидролизат казеина, отдельные аминокислоты, витамины, микроэлементы и фитогормоны (в различных концентрациях). Некоторые авторы добавляли к среде и эндосперм кокосового ореха. Мы же чаще использовали среду Уайта с гидролизатом казеина (400 мг/л), дрожжевым экстрактом Difco (200 мг/л), кинетином (0,01 мг/л) и ИУК (0,01 мг/л).

Подготовленные культуры содержали при температуре 25—26° и естественном освещении [2, 3]. Для приготовления цитозембриологических препаратов материал фиксировали. Фиксатором служила жидкость Карнуа, красителем (для семяпочек табака) — основной фуксин по Фельгену с подкраской светлым зеленым, а для других — метил-грюн-пиронин по Унна.

Развивавшиеся в культурах семена переносили на свежие питательные среды с агаром и без него. На жидкой питательной среде семена прорастивали в Т-образных пробирках, укрепленных на дисках аппарата роллерного типа. Развившиеся из семян проростки высаживали в вазоны с почвой и до зрелого возраста выращивали в теплице.

### Результаты исследований

Исследования по опылению и оплодотворению *in vitro* проводили главным образом в двух направлениях: изучение физиолого-биохимических процессов в семяпочках, культивируемых совместно с пыльцой [8], и поиск методов преодоления несовместимости у растений [9, 11]. Второе направление исследований получило наибольшее развитие. У ряда растений (мака, петунии, гвоздичных, капусты

и др.) в культурах семяпочек в присутствии несовместимой пыльцы удалось осуществить процесс двойного оплодотворения *in vitro* и получить жизнеспособные семена, развившиеся в сеянцы. А это значит, что метод по опылению и оплодотворению в условиях *in vitro* открывает новые возможности преодоления само- и перекрестной несовместимости у растений, что позволит повысить эффективность работ по созданию новых ценных сортов растений, в которых так нуждается сельское хозяйство.

Однако положительный результат удается получить далеко не всегда. Так, не имели успеха наши многочисленные эксперименты, проведенные на ряде сортов тюльпана и на двух видах пеоны. У последних в процессе культивирования в присутствии собственной пыльцы и пыльцы другого вида наблюдали значительное увеличение семяпочек в объеме (рис. 1). Они приобретали яркую антоциановую окраску, как это имеет место *in vivo*. Вполне возможно, что в таких семяпочках был осуществлен процесс оплодотворения и проходил эмбриогенез, но без цитозембриологического контроля что-либо сказать трудно, тем более, что эти семяпочки впоследствии погибли. В небольшом опыте по культуре фрагментов плаценты с семяпочками культурного сорта нарцисса с пыльцой того же сорта были получены только единичные зрелые, нормально пигментированные семена (рис. 1). В то же время на модельном объекте *N. tabacum* (сорт *Дюбек*) нами в значительном количестве получены полноценные семена. У этого объекта исследовали взаимодействие семяпочек и пыльцы.

Изучение цитозембриологии культур показало направленный рост к семяпочкам пыльцевых трубок, их нормальное развитие в искусственных условиях, формирование в них спермиев, а также вхождение пыльцевых трубок через микропиле и синергиду в зародышевые мешки. Наблюдали осуществление процесса двойного оплодотворения, а также развитие зародышей и эндосперма и семени в целом (рис. 2—3). На препаратах часто отмечали вхождение пыльцевых трубок в зародышевые мешки, которые были уже оплодотворенными. Такие пыльцевые трубки часто содержали не спермии, а генеративные клетки. Наблюдали и другие аномальные цитозембриологические процессы. Из развившихся в результате процесса оплодотворения семян (рис. 4) получили жизнеспособные проростки и взрослые растения, достигшие генеративной стадии (рис. 5).



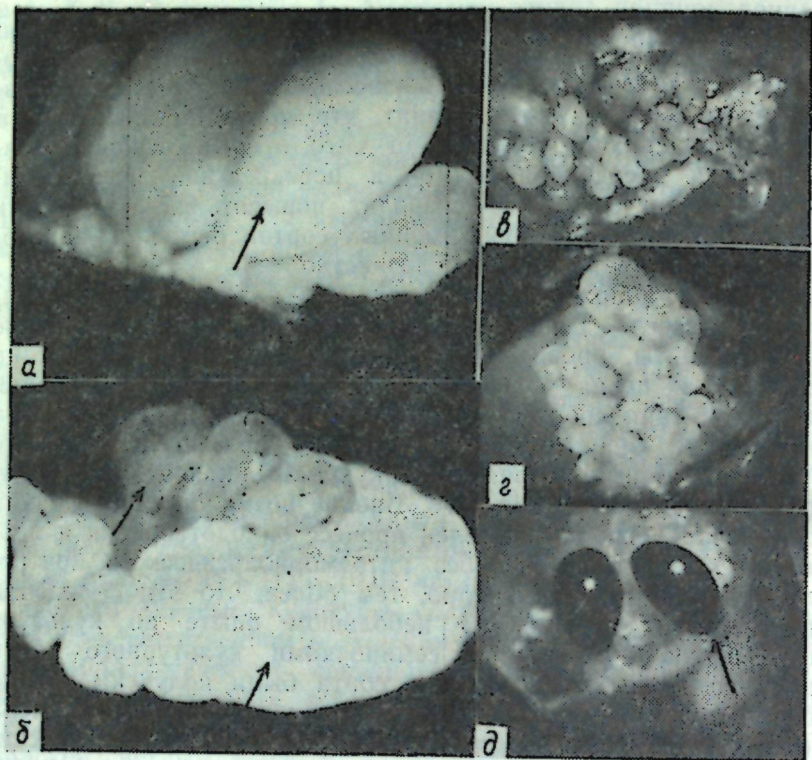


Рис. 1. Результаты культивирования семяпочек совместно с пыльцой *in vitro*: а, б — семяпочки *P. tenuifolia* после культивирования с пыльцой того же вида (неразвившиеся семяпочки стали прозрачными); в, г, д — семяпочки нарцисса на плаценте. Развились зрелые семена (д).

Успешно завершённая работа на табаке дала толчок к проведению аналогичных экспериментов на других объектах. Были взяты *D. scaryophyllus* группа Виллиам Сим и *S. avium*. Фрагменты плаценты с семяпочками гвоздики группы Виллиам Сим культивировали совместно с пыльцой других групп (*D. platanus* L., *D. etincelant*). Для семяпочек черешни использовали пыльцу тех же сортов для самоопыления и других сортов — для перекрестного опыления. Контролем служили семяпочки, развившиеся в завязях *in vivo*. Эксперименты сопровождали цитозембриологическим изучением.

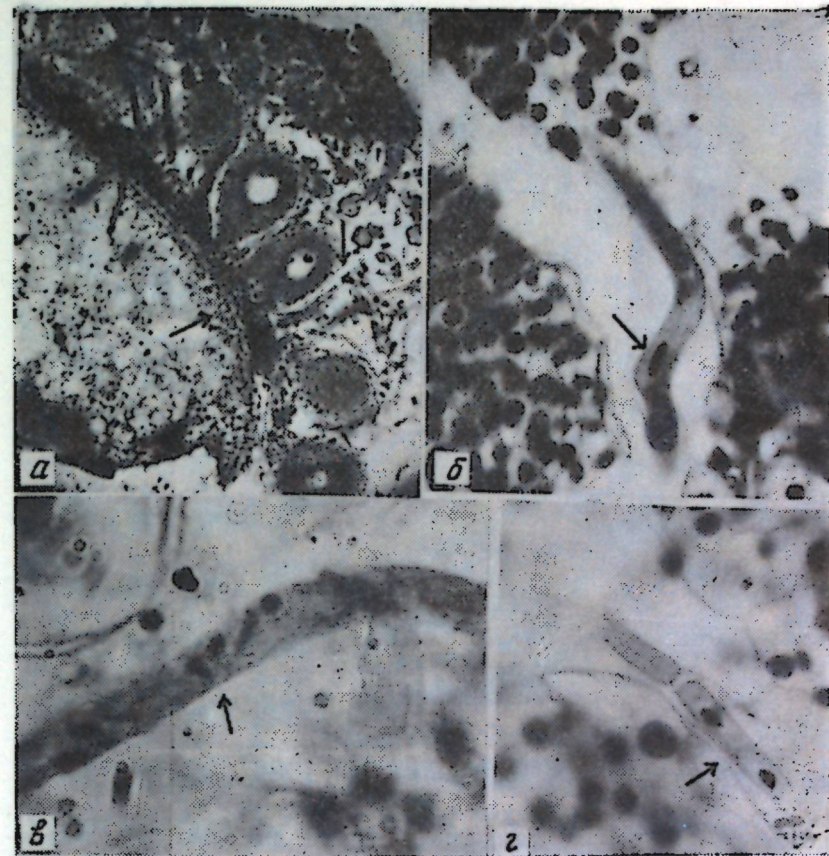


Рис. 2. Культивирование плаценты с семяпочками в контакте с пыльцой *N. tabacum* (сорт Дюбек) *in vitro*: а — фрагмент плаценты с семяпочками и пыльцевые трубки (обозначены стрелками); б — пыльцевая трубка с генеративной клеткой проходит между семяпочками; в — пыльцевая трубка с генеративной клеткой в делящемся состоянии; г — фрагмент пыльцевой трубки со спермиями.

В этих опытах предусматривали поиск возможностей преодоления перекрестной несовместимости (в опытах с гвоздикой) и самонесовместимости (в опытах с черешней).

В зародышевых мешках семяпочек гвоздики в единичных случаях имели место процессы оплодотворения и развития зародышей, из которых были получены единичные проростки (рис. 6). До цветения довели лишь одно растение, развившееся из семяпочки гвоздики *D. etincelant*.

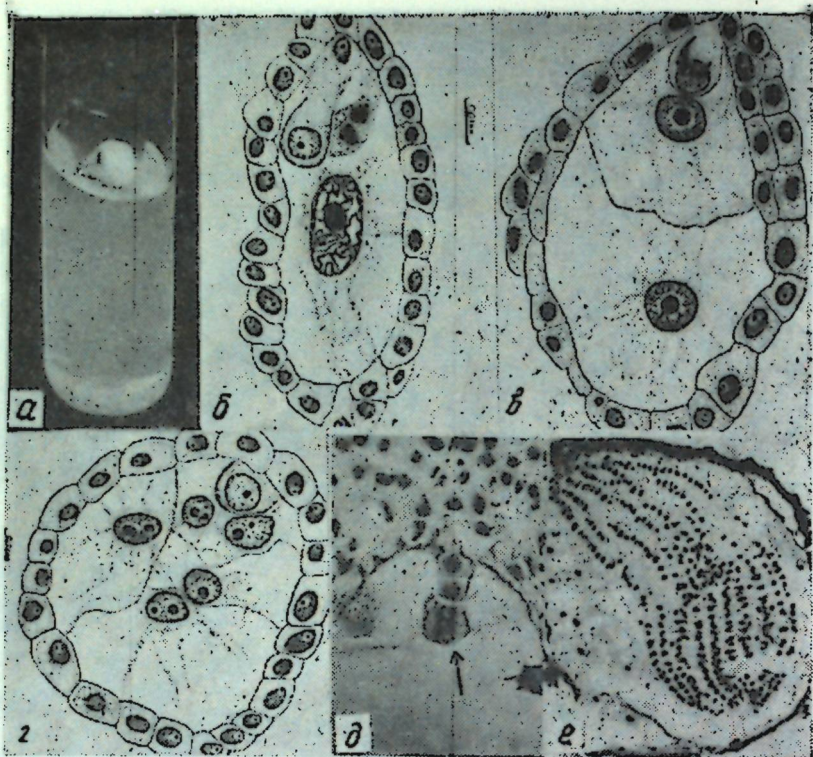


Рис. 3. Оплодотворение *in vitro* и развитие семени у *N. tabacum*: а — культура плаценты с семяпочками, часть которых развивается в результате совершившегося оплодотворения; б — семяпочка с оплодотворенной яйцеклеткой и центральным ядром зародышевого мешка в стадии профазы; в, г — семяпочки с зиготами и клетками эндосперма; д — микропиллярный конец семяпочки с четырехклеточным зародышем и клетками эндосперма; е — сформированное семя.

В первых экспериментах, проведенных с семяпочками черешни сорта Ранняя Рынка, развились три многоклеточных, недифференцированных зародыша. Один из них гаплоидный, апомиктического происхождения с  $n=8$ . Развился он в семяпочке, культивируемой на питательной среде без пыльцы. Два других зародыша сформировались в культурах семяпочек, которые выращивали совместно с пыльцой того же сорта, то есть от самоопыления.

В работе с гвоздикой группы Виллиам Сим и черешней есть ряд трудностей. У гвоздики — это прежде всего низкий

процент формирования пыльцевых трубок в искусственных условиях у сортов, пыльца которых использовалась для опыления и пыльцевые трубки не достигали нормальной длины. Семяпочки у группы Виллиам Сим во многих случаях имели зародышевые мешки с различными аномалиями. Кроме того, из-за нехватки материала не представлялось возможным провести обширные эксперименты с большим числом вариантов по культуре семяпочек и осуществить последовательный цитозембриологический контроль за развитием *in vivo* и *in vitro*.

В опытах с черешней главная трудность заключается в том, что для этого вида растения характерна закладка лишь одной полноценной семяпочки, а плацента представлена в виде небольшого кусочка ткани. В связи с наличием

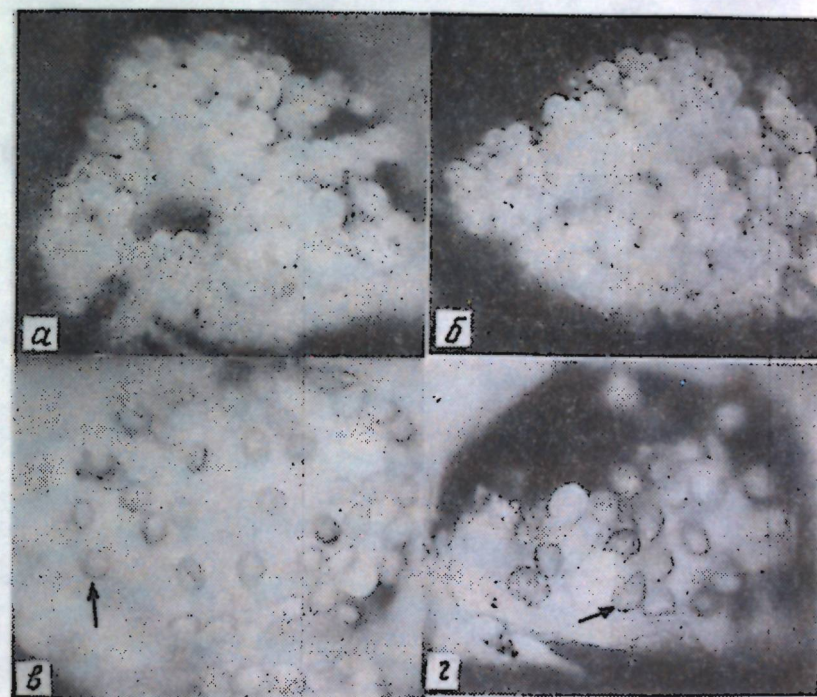


Рис. 4. Семена *N. tabacum* (сорт Дюбек), развившиеся в результате оплодотворения *in vitro*: а, б — фрагменты плаценты с молодыми семенами через 10 дней после начала культивирования семяпочек в присутствии пыльцы того же сорта; в — плацента с семенами, часть которых находится в состоянии созревания; г — зрелые семена.

лишь одной функционирующей семяпочки эксперименты с этим объектом очень трудоемки. И кроме того это затрудняет выбор момента, когда зародышевый мешок не только

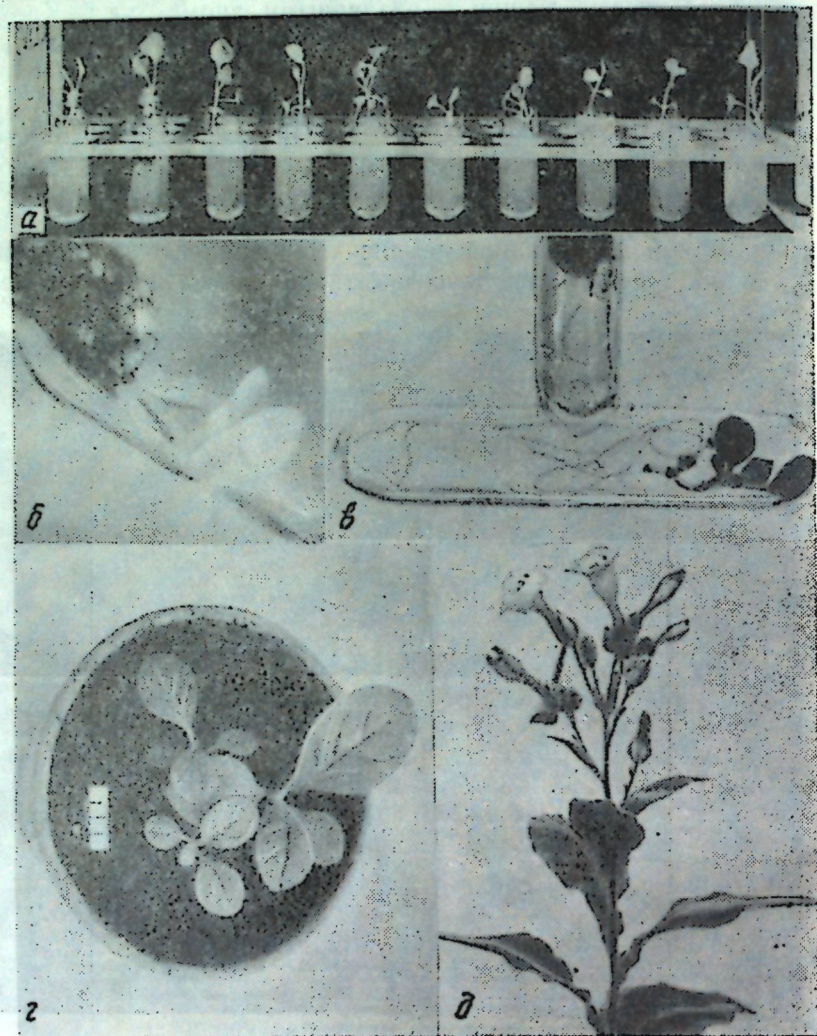


Рис. 5. Проростки и растения *N. tabacum*, полученные из семян, развившихся в результате оплодотворения *in vitro*: *a*, *б* — проростки, развившиеся на твердой среде. Семена, прорастающие на плаценте (*б*); *в* — растение, развившееся на жидкой среде; *г* — сеянцы, высаженные в почву; *д* — растения, достигшие генеративной стадии.

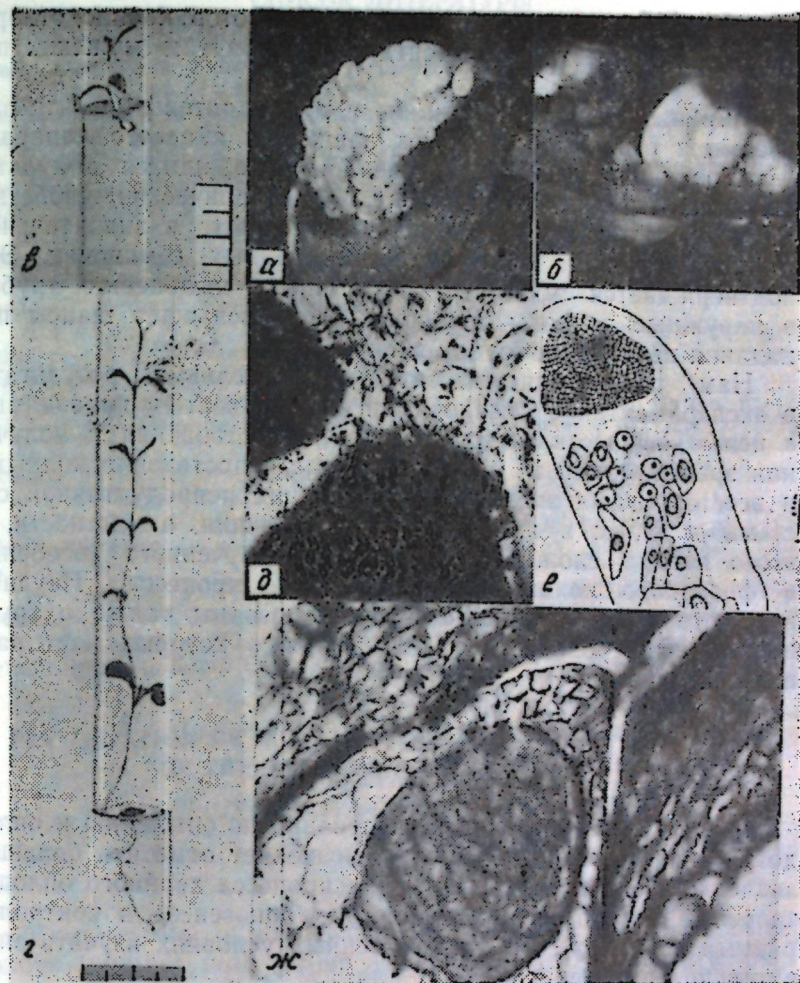


Рис. 6. Результаты культивирования семяпочек совместно с пылью *in vitro*: *a* — культура фрагмента плаценты с семяпочками гвоздики *D. caryophyllus* группы William Sim и пыли *D. plumarius*; *б* — сформированные семена; *в*, *г* — проростки гвоздики, развившиеся в результате оплодотворения *in vitro*; *д* — культура семяпочек *S. avium* (сорт Ранняя Рынка) с пыльцевыми трубками того же сорта; *е* — микропиллярная часть семяпочки черешни, развившейся на питательной среде в отсутствие пыли; *ж* — микропиллярная часть семяпочки, развившейся на среде с пылью своего сорта с многоклеточным зародышем.

морфологически, но и физиологически готов к оплодотворению, а яйцеклетка компетентна к восприятию мужских половых элементов.

Обращает на себя внимание и то обстоятельство, что при удалении столбиков и стенок завязей у яйцевого аппарата изолированных семяпочек черешки, находящиеся в культуре, ослабляются, по-видимому, хемотропические свойства. Подобными свойствами в условиях *in vitro* в значительной степени обладают интегументы оголенных семяпочек. Это подтверждается массовым врастанием пыльцевых трубок в наружные покровы семяпочек, что уменьшает шансы попадания пыльцевых трубок в микропиле.

Нам представляется, что отрицательные результаты в экспериментах с семяпочками ряда объектов, проводимых с целью осуществления процесса оплодотворения и получения зрелых семян *in vitro*, связаны с недостаточно полными и всесторонними знаниями биологии их репродуктивной системы в целом и процесса оплодотворения в частности, — этого весьма сложного и еще мало изученного (особенно в физиолого-биохимическом аспекте) процесса. Неудачи в работе с некоторыми объектами связаны также с трудностью имитировать *in vitro* условия, в которых идет развитие *in vivo*.

## ВЫВОДЫ

1. Анализ результатов исследований по опылению и оплодотворению в условиях *in vitro* позволяет отметить большое значение этого метода в изучении процесса двойного оплодотворения, зиготогенеза и раннего эмбриогенеза в контролируемых условиях, что в естественных условиях изучать значительно труднее.

2. Оплодотворение *in vitro* изолированных семяпочек для некоторых видов растений служит методом успешного преодоления само- и перекрестной несовместимости. Дальнейшая его разработка применительно к самым различным объектам значительно расширит возможности его использования.

3. Для получения положительного результата в экспериментах по опылению и оплодотворению *in vitro* необходим поиск условий, способствующих повышению хемотропизма зародышевых мешков семяпочек в культуре.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вавилов Н. И. Значение межвидовой и межродовой гибридизации в селекции и эволюции. — Изв. АН СССР. Сер. биол., 1938, № 3.
2. Здруйковская-Рихтер А. И. Культура зародышей *in vitro* и получение новых форм растений. Автореф. дис. на соиск. учен. степени докт. биол. наук, М., 1981.
3. Здруйковская-Рихтер А. И., Бабасюк М. С. Опыление и оплодотворение семяпочек в культуре *in vitro*. — Докл. АН СССР, 1974, т. 218, № 6.
4. Поддубная-Ариольди В. А. Цитоэмбриология покрытосеменных растений. М.: Наука, 1976.
5. Руденко Н. С. Отдаленная гибридизация и полиплоидия у плодовых растений. Кишинев: Штиинца, 1978.
6. Рябов И. Н. Межвидовая гибридизация косточковых плодовых культур. — В кн.: Отдаленная гибридизация косточковых плодовых культур. Сб. научн. трудов/Никит. ботан. сад, 1978.
7. Важнейший метод создания новых видов, форм и сортов растений. — В кн.: Генетические основы селекции растений. — М.: Наука, 1971.
8. Balatkova V., Tupy J. Test-tube fertilization in *Nicotiana tabacum* by means of an artificial pollen tube culture. — *Biol. Plantarum*, v. 10(4), 1968, pp. 266—270.
9. Kanta K., Rangaswamy N. S., Maheshwari P. Test tube fertilization in a flowering plant. — *Nature*, v. 194, N 4835, 1962, pp. 1214—1217.
10. Nitsch J. P. Growth and development *in vitro* of excised ovaries. — *Amer. J. Bot.*, v. 38, N 7, 1951, pp. 566—577.
11. Numi Y. 1970. *In vitro* fertilization in the self-incompatible plant, *Petunia hybrida*. *Engei Gakkai Zasshi*, v. 39, N 4, pp. 56—60, 1970.

## FERTILIZATION OF ISOLATED OVULES — A SIGNIFICANT LINK OF THE BREEDING-GENETIC PROCESS

A. I. ZDRUIKOVSKAYA-RIKHTER, M. S. BABASYUK

## SUMMARY

Main results of the work on culturing the unfertilized ovules together with pollen (*in vitro* fertilization) are elucidated. The significance of given method in overcoming self- and cross-incompatibility at hybridization, and also when studying the fertilization process, zygotogenesis and early stages of embryogenesis under controlled conditions is shown.

## НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЭМБРИОЛОГИИ ЗЕМЛЯНИЧНИКА МЕЛКОПЛОДНОГО

С. В. ШЕВЧЕНКО,  
кандидат биологических наук

Земляничник мелкоплодный *Arbutus andrachne* L. (сем. Ericaceae) — один из немногих третичных реликтов, сохранившихся на Южном берегу Крыма. Встречается земляничник в самой теплой его части (от мыса Айя на западе до горы Кабель на востоке) в виде небольших рощиц и отдельных деревьев [2]. Вопросы развития генеративной сферы и в целом полосеменной репродукции земляничника мелкоплодного вызывают особый интерес, поскольку в последнее время наблюдается резкое снижение числа всходов, ювенильных особей и других возрастных групп подроста некоторых популяций, а его естественное возобновление происходит в основном семенами [3].

В настоящей работе сообщаются сведения о развитии мужского и женского гаметофитов, а также о процессе оплодотворения земляничника мелкоплодного.

### Материал и методика

Исследования проводили на материале, собранном в Никитском ботаническом саду. Материал фиксировали смесью Карнуа (6:3:1). Препараты готовили по общепринятой в цитологии методике. Срезы окрашивали метилгрюнпиронином по Унна. Для изучения поздних стадий развития мужского гаметофита готовили мазки, окрашивая их реактивом Шиффа по Фельгену с подкраской лихтрюном.

### Результаты исследования

Семяпочка. Развитие зародышевого мешка. Завязь *A. andrachne* L. пятигнездная, в каждом гнезде на плаценте по две семяпочки в пять рядов. Семяпочки тenuityцеллятные с одним покровом. К моменту созревания зародышевого мешка по морфологическому типу они анатроп-

ные, по положению в завязи могут также встречаться атропные и гемитропные.

Женские репродуктивные клетки на протяжении всего периода развития отстают от мужских. Бугорки семяпочек закладываются в то время, когда в пыльниках наблюдается формирование микроспороцитов. Археспориальная клетка дифференцируется в субэпидермальном слое бугорка семяпочки, довольно крупная, окружена однослойным нуцеллусом (рис. 1 А, Б).

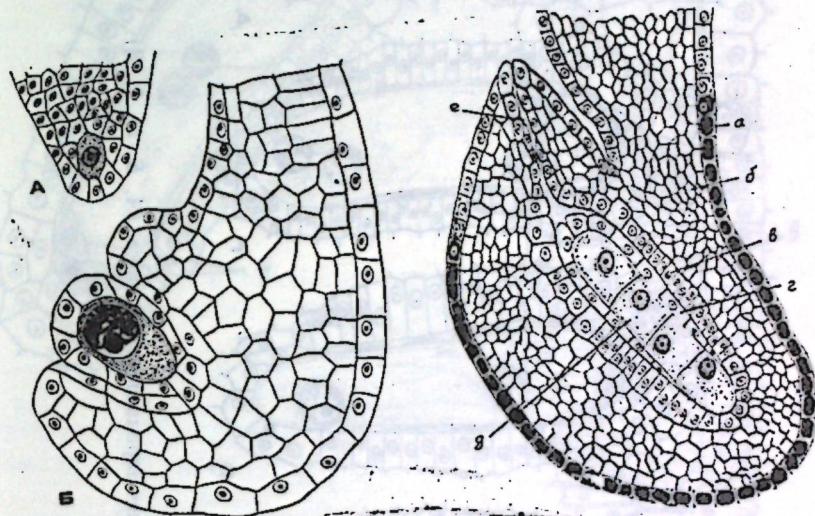


Рис. 1. Дифференциация археспориальной клетки и заложение интегумента (А, Б) *Arbutus andrachne* L.

Рис. 2. Семяпочка: а — эпидермис интегумента; б — интегумент; в — интегументальный тапетум; г — нуцеллус; д — тетрада микроспор; е — микропиле.

Интегумент закладывается одновременно с развитием археспория (рис. 1 Б) и, образуя микропиле, смыкается рано — ко времени формирования тетрады (рис. 2).

Нуцеллус представлен только эпидермальными клетками и очень скоро начинает дегенерировать. К моменту образования двуядерного зародышевого мешка клетки нуцеллуса есть лишь в микропиллярной части, сохраняясь здесь довольно долго, до образования восьмиядерного зародышевого мешка (рис. 3 В, Д).

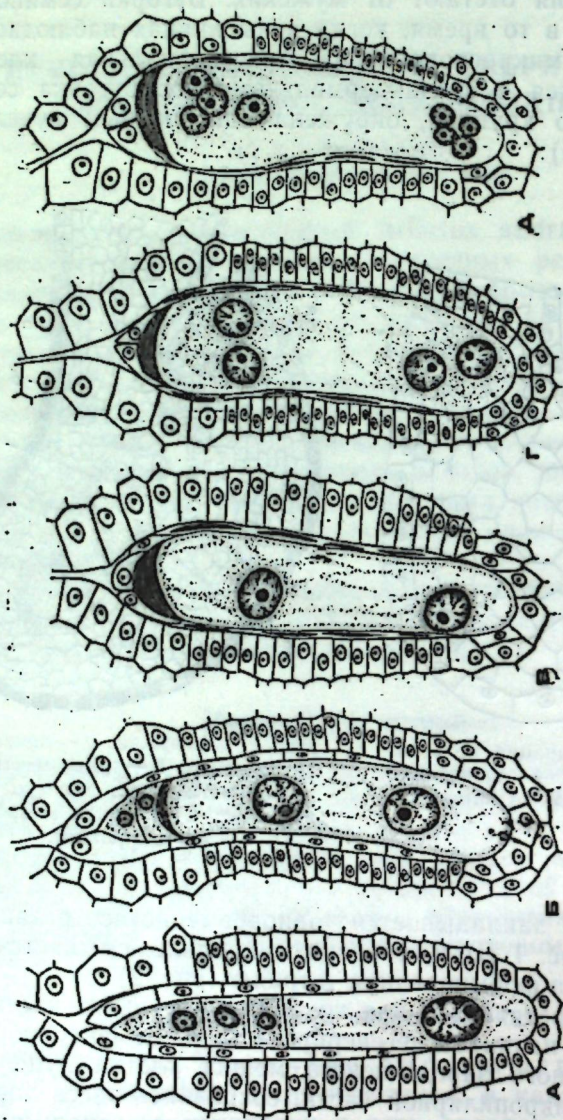


Рис. 3. Развитие зародышевого мешка (А, Б, В, Г, Д).

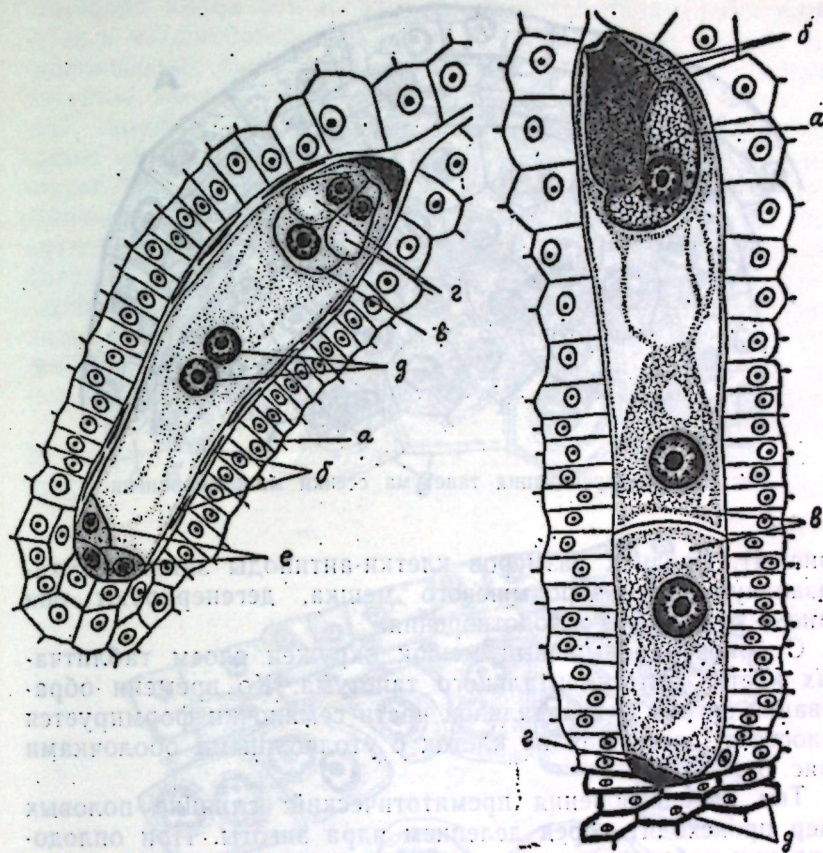


Рис. 4. Зрелый зародышевый мешок: а — интегументальный тапетум; б — остатки клеток нуцеллуса; в — яйцеклетка; г — клетки синергиды; д — полярные ядра; е — клетки-антиподы.

Рис. 5. Начало формирования эндосперма: а — зигота; б — дегенерирующие синергиды; в — клетки эндосперма; г — дегенерировавшие синергиды; д — гипостаза.

Зародышевый мешок формируется по Polygonum типу, из халазальной макроспоры, три другие — постепенно дегенерируют, начиная с ближайшей (рис. 3 А, Б). На рис. 3, А—Д показаны последовательные стадии формирования зародышевого мешка. Восьмиядерный зародышевый мешок — это удлиненная клетка с расширенной микропиларной частью (рис. 3 Д). Зрелый зародышевый мешок семиклеточный

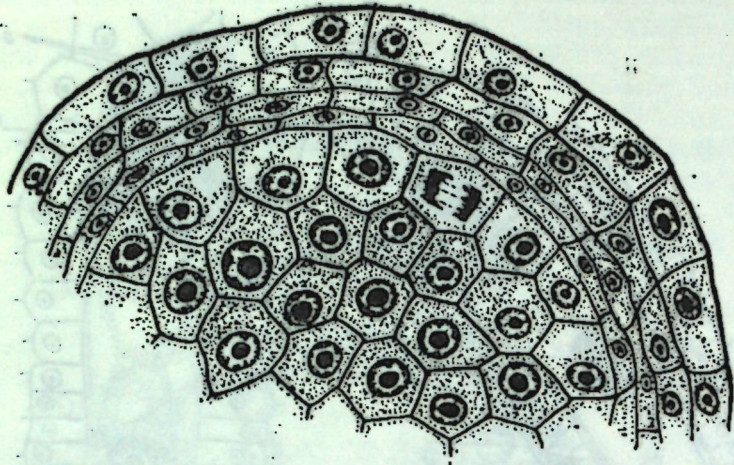


Рис. 6. Дифференциация тапетума стенки микроспорангия.

(рис. 4). Средних размеров клетки-антиподы занимают халазальную часть зародышевого мешка, дегенерируют они рано — ко времени оплодотворения.

С боков зародышевый мешок окружен слоем таблитчатых клеток интегументального тапетума. Ко времени образования зиготы в халазальной части семяпочки формируется гипостаза, состоящая из клеток с утолщенными оболочками (рис. 5).

Тип оплодотворения прмитотический: слияние половых ядер происходит перед делением ядра зиготы. При оплодотворении наблюдали слияние спермиев с яйцеклеткой и центральным ядром зародышевого мешка, причем спермии имеют сначала типичную для них серповидную форму, а затем — червеобразную.

После оплодотворения клетки-синергиды дегенерируют, и ко времени образования двух клеток эндосперма наблюдаются лишь остатки их ядер (рис. 5).

Микроспорогенез. Развитие мужского гаметофита. Развитие стенки микроспорангия *A. andrachne* L., как и у многих представителей сем. *Ericaceae* [1], происходит центростремительно: тапетум формируется из ткани вторичного археспория. Когда стенка микроспорангия состоит из трех слоев, краевые клетки вторичного археспория сильно вакуолизованы (рис. 6). Позже ядра этих клеток де-

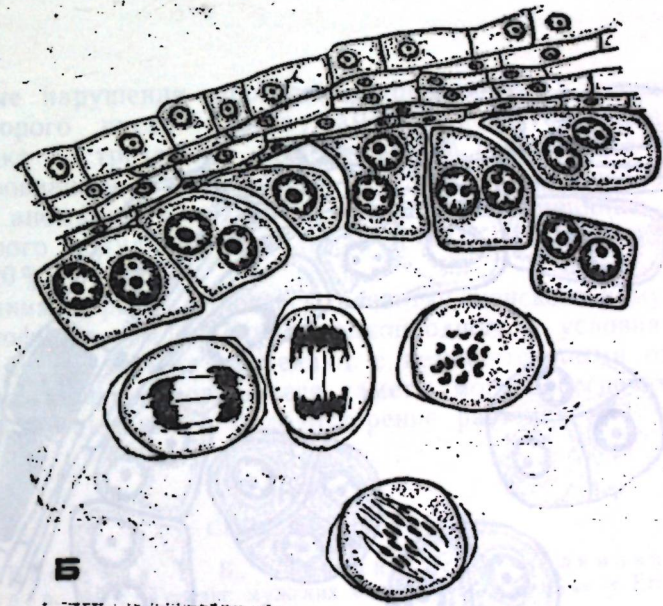
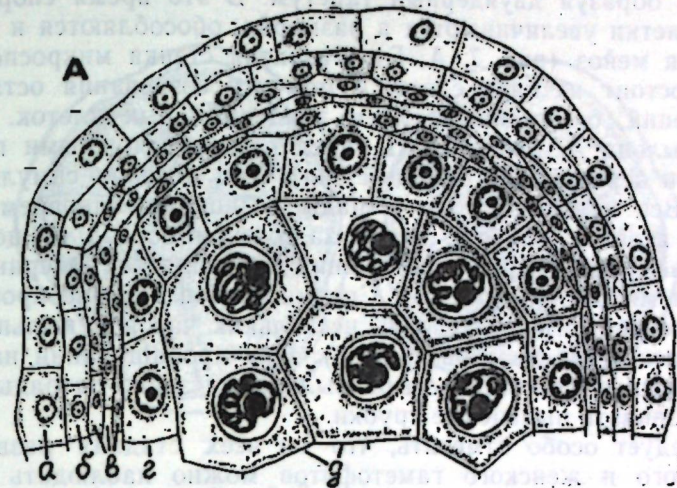


Рис. 7. Развитая стенка микроспорангия и микроспорогенез.

А: а — эпидермис, б — эндотеций, в — средний слой, г — тапетум, д — микроспороциты; Б — мейоз.

ляются, образуя двуядерный тапетум. В это время спорогенные клетки увеличиваются в размерах, обособляются и вступают в мейоз (рис. 7, А, Б). Развитая стенка микроспорангия состоит из пяти слоев, к моменту созревания остается эндотеций, окруженный слоем эпидермальных клеток. Зрелая пыльца *A. andrachne* L. представлена сложными пыльцевыми зернами (тетраидный тип). Тип деления симультанный. Все четыре клетки тетрады возникают одновременно, после второго деления, путем заложения борозд от центра к периферии и перешнуровывания протопласта материнской клетки микроспор (рис. 8). Спермиогенное деление происходит очень быстро, в течение нескольких часов в пыльниках уже раскрытых цветков (рис. 9). При проращивании на питательных средах все четыре пыльцевых зерна тетрады могут развивать пыльцевые трубки.

Следует особо отметить, что на всех стадиях развития мужского и женского гаметофитов можно наблюдать раз-

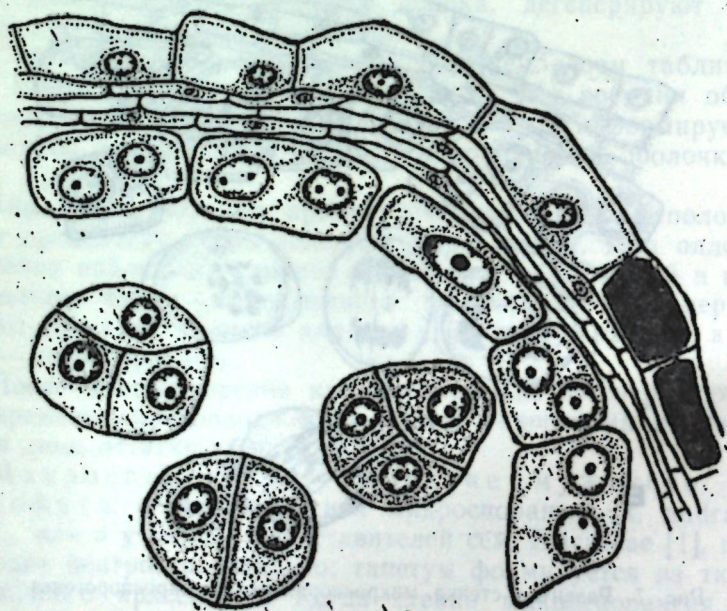


Рис. 8. Тетрада микроспор.

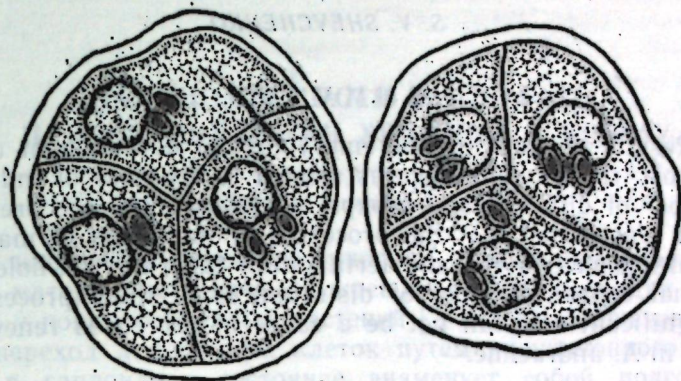


Рис. 9. Зрелая пыльца.

личные нарушения процессов, приводящие к элиминации некоторого числа клеток гаметофитной генерации. Так, изредка встречаются недоразвитые семязпочки с дегенерировавшим зародышевым мешком, а среднее количество аномальных пыльцевых зерен земляничника мелкоплодного популяций Батилиман и мыс Мартьян достигает 15—20%.

Таким образом, процессы развития женского и мужского гаметофитов земляничника мелкоплодного в условиях Южного берега Крыма протекают с незначительными отклонениями, и сформировавшиеся гаметы могут обеспечить нормальное опыление и оплодотворение растения.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Батыгина Т. Б., Терехин Э. С., Алимова Г. К., Яковлев М. С. Генезис мужских спорангиев Gramineae и Ericaceae. — Ботан. журн., 1963, т. 48, № 8.
2. Волошин М. П. Земляничник мелкоплодный. — Бюл. Главн. ботан. сада, 1964, вып. 54.
3. Голубева И. В. Результаты популяционно-количественного изучения земляничника мелкоплодного. — Бюл. Никитск. ботан. сада, 1981, вып. 1(44).



SOME EMBRYOLOGY CHARACTERS OF STRAWBERRY TREE  
(*ARBUTUS ANDRACHNE* L.), FAM. ERICACEAE)

S. V. SHEVCHENKO

SUMMARY

Results of studying the embryological development characters of *Arbutus andrachne* as related to decrease of individual number of different age groups of undergrowth are presented.

It was stated that the processes of formation of male and female gametophytes and fertilization take, on a whole, their normal course. Number of disturbances of these processes is insignificant and can not be a cause of decreased renewal by seed in *A. andrachne*.

ЗАКОНОМЕРНОСТИ ГАПЛОФАЗЫ  
ПРИ ИНТРОДУКЦИИ ХВОЙНЫХ В КРЫМУ

И. А. РУГУЗОВ,  
кандидат биологических наук

К настоящему времени накоплен значительный фактический материал о системах скрещиваний репродукции семнами у покрытосеменных растений [7, 13, 16]. Общеизвестно, что переход диплоидных клеток путем редукционного деления в гаплоидное состояние знаменует собой подготовку к размножению и расселению видов растений. Вместе с тем ни спорогенез, ни половой процесс в чистом виде к их размножению и расселению не приводят [5].

У высших растений выработана особая форма размножения и расселения, связанная с ежегодно повторяющимся образованием семян. Семенообразование включает в себя процессы спорогенеза, формирования гаметофитов и гамет, их слияние и образование зигот как единый и непрерывный процесс, проходящий на общей морфологической основе [6].

Цель настоящей работы — описание сложившихся систем размножения в естественных популяциях хвойных растений, выяснение возможных причин нарушения единства и (или) непрерывности процессов спорогенеза, процессов гаметофито- и гаметогенеза, слияния гамет и формирования зигот при интродукции.

Объектами исследований послужили тис ягодный, можжевельники высокий и красный, сосна крымская (*Taxus baccata*, *Juniperus excelsa*, *J. oxycedrus*, *Pinus pallasiana*) из естественного ареала, тис ягодный ф. колоновидная и ф. золотисто-пестрая, цефалотаксус, кедры атласский, ливанский и гималайский, секвойя вечнозеленая, секвойдендрон гигантский, болотный кипарис, сосна итальянская (*Taxus baccata* f. *fastigiata*, *T. b. aurea-variegata*, *Cephalotaxus*, *Cedrus atlantica*, *C. libanii*, *C. deodara*, *Sequoiadendron*, *Taxodium*, *Pinus pinea*), интродуцированные в Никитском ботаническом саду. В ходе изучения широко использовали методы сравнительной цитозембриологии с анализом постоянных препаратов, темпоральное препарирование раз-

вивающихся макроструктур генеративной сферы, фазовый контраст, поляризованный свет, люминесцентную микроскопию, а также методы культуры *in vitro*. Постоянные и временные препараты приготавливали по общепринятой в цитозембриологии методике [8].

В результате установлены следующие, не описанные ранее особенности и явления, свойственные системам размножения хвойных растений:

1) структурные и функциональные особенности гаметофитов, определяющие панмиксию;

2) генотипическая обусловленность развития эмбриондов и ценоцитов в пыльце;

3) утрата способности сбрасывать экзину пыльцевыми зернами как форма мужской стерильности.

#### Структурно-функциональные особенности гаметофитов, связанные с панмиксией

Репродуктивные структуры ныне живущих хвойных описаны в ботаническом обзоре по репродуктивным структурам голосеменных [17] и в отечественной сводке «Жизнь растений» [2].

Очевидно, что в филогенезе растений порядка Coniferales отмечается несколько основных направлений редукции гаметофитов [9]. Как считают авторы, эти редукции привели к той совершенной схеме развития мужских и женских гаметофитов, которые наблюдают у покрытосеменных растений.

Главными направлениями этого многообразного процесса считают ликвидацию в микроспорах и мужских гаметофитах голосеменных остатков заростка, доставшихся им в наследство от папоротникообразных, и сокращение числа делений микроспор, в конечном счете ведущих к образованию гамет [15]. Накоплен значительный фактический материал о морфофизиологической природе этих явлений в филогенезе. Вместе с тем, согласно концепции о том, что всякая редукция структур в процессе эволюции имеет в своей основе изменение функций [12], даже эти главные направления редукции гаметофитов потребовали более тщательного изучения.

Как показали проведенные наблюдения, структурно-преобразовательные процессы в морфологическом и функциональном облике гаметофитов современных хвойных обусловлены закономерностью их опыления. Суть последней состоит

в том, что механизмы контакта пыльцевых зерен с нуцеллусами семязпочек различны: у представителей семейства сосновых — с одной стороны, и тисовых, головчатотисовых, таксодиевых и кипарисовых, — с другой (см. статью Л. У. Склонной в настоящем сборнике). То есть в филогенезе хвойных можно и поныне наблюдать обеспечение опыления за счет сил аэродинамики и аэродинамических свойств мужского гаметофита у сосновых и за счет функционирования опылительной капли — у тисовых, головчатотисовых, таксодиевых и кипарисовых.

Пыльцевые зерна большинства видов из семейства сосновых снабжены двумя воздушными мешками (рис. 1). Число функционирующих клеток мужского гаметофита в момент опыления детерминировано для каждого вида. Аэродинамические трубы во внутреннем строении женских шишек и

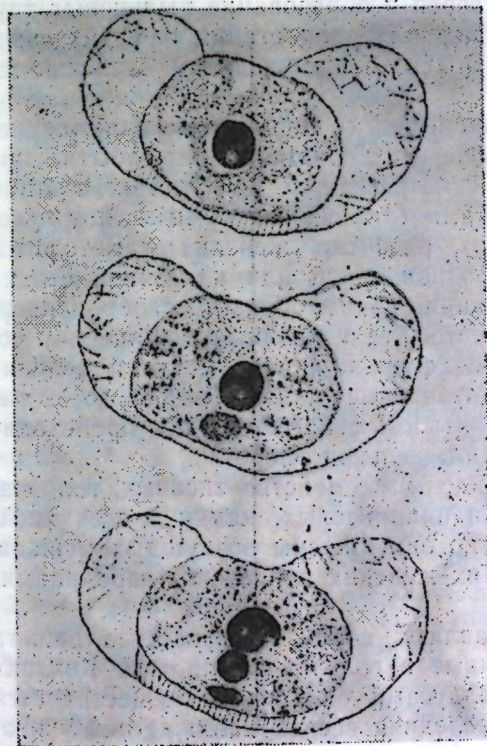


Рис. 1. Начальные стадии развития мужского гаметофита сосновых.

аэродинамические свойства пыльцевых зерен с развивающимся мужским гаметофитом уже в момент переноса пыльцы обеспечивают избирательность и видоспецифичность опыления. Более того, как показали наши наблюдения [10, 11], в пыльце видов кедра, пихты и сосен как в естественном ареале, так и при интродукции (в особенности) по морфологии пыльцевых зерен и степени развития мужских гаметофитов наблюдается значительная гетерогенность.

Очевидно, что пыльцевые зерна с аномально развитыми воздушными меш-

ками, как и мужские гаметофиты с ускоренным и замедленным темпами развития (что особенно часто наблюдается при интродукции), не могут участвовать в половом процессе. Попадание в микропиле только нормально развитых, средних пыльцевых зерен обеспечивает элиминацию рекомбинаций в мужском половом поколении.

После опыления чешуй шишек с опыленными семяпочками плотно смыкаются. Существует связь между скоростью смыкания чешуй и числом опыленных семяпочек в шишке, хотя количественные показатели корреляции этих признаков нам установить не удалось. Весьма продолжительное развитие семяпочек в закрытых шишках происходит в следующей последовательности: интенсивный рост нуцеллусов; зарастание микропиле; дорастание нуцеллусов до внутреннего края микропиле, контакт нуцеллусов и пыльцевых зерен; прорастание пыльцевых зерен и образование пыльцевых трубок; мегаспорогенез; свободная стадия женских гаметофитов; формирование архегониев, мужских и женских гамет; слияние гамет.

В женской шишке семейства сосновых наблюдаются нарушения приведенной выше последовательности событий при формировании женских гаметофитов и гамет. Так, в комплексах чешуй с семяпочками (отнесенных нами к типу недоразвитых и переходных) развитие женских гаметофитов останавливается на свободной ядерной или клеточной стадии и начинается их дегенерация. Таким образом, свободная стадия женского гаметофита у хвойных вообще и у сосновых в частности, когда функционирует мощный ценоцит с числом ядер в общей цитоплазме от 2 свободных до 12 тысяч, представляется нам этапом онтогенеза, где происходит элиминация рекомбинаций в женской сфере.

Пыльцевые зерна у видов из семейства тисовых, головчатотисовых, таксодневых и кипарисовых, как и у всех хвойных, разносятся ветром, но они лишены воздушных мешков. Во внутреннем строении их женских шишек нет аэродинамических труб.

Сами шишки представляют собой продуваемые решета или одиночные и собранные в головки семяпочки. Контакт пыльцевых зерен с нуцеллусами семяпочек осуществляется опылительной каплей. Последняя всегда наблюдается у входа в микропиле семяпочек во время опыления. Опытлительная капля увеличивает поверхность, улавливающую пыльцевые зерна, обеспечивает оптимальное число пыльцевых зе-

рен и их доставку на нуцеллус путем всасывания жидкости с пыльцевыми зернами. Она представляет собой сложный по составу компонентов секрет семяпочек.

Пыльцевые зерна видов названных семейств обладают уникальной способностью сбрасывать экзину в капельной жидкости. Таким образом, на нуцеллусы семяпочек вместе с секретом всасываются пыльцевые зерна, освобожденные от экзины (рис. 2). Характерно, что пыльцевые зерна большинства видов этих семейств представляют собой микроспоры, заключенные в экзину и интину, а все стадии развития мужских гаметофитов проходят в пыльцевых трубках при контакте с нуцеллусами семяпочек. Этот механизм контакта пыльцевых зерен с нуцеллусами семяпочек обеспечивает аббревиацию развития репродуктивных структур за счет выпадения стадий проталлиальных делений при формировании мужских гаметофитов, а также процесса дорастания нуцеллусов до внутреннего края микропиле, как наблюдается у сосновых.

Здесь уместно отметить, что у видов лиственницы, лжетсуги и тсуги женские шишки ко времени опыления развиваются, как у сосновых, а пыльцевые зерна, лишённые воздушных мешков, обладают способностью сбрасывать экзину в капельной жидкости [4]. Опыление семяпочек у них происходит в два этапа. На первом этапе (как

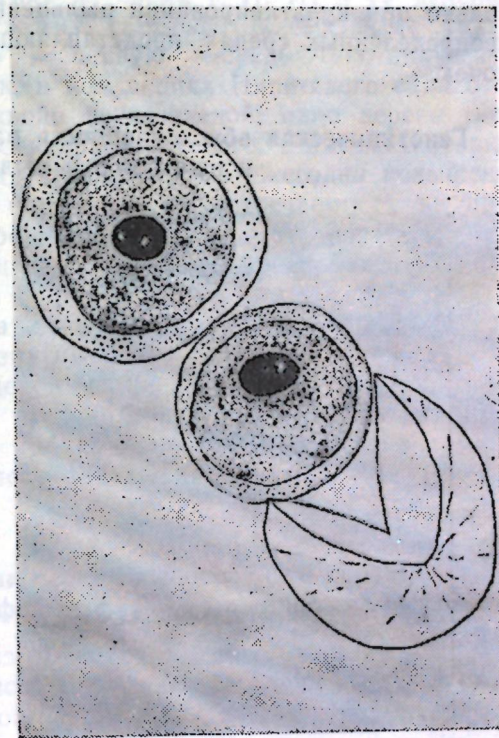


Рис. 2. Освобождение от экзины пыльцевого зерна кипарисовых.

и у сосновых) пыльцевые зерна с наружной поверхности шишек всасываются и разносятся в микропиле семяпочек силами аэродинамики, а после смыкания чешуй женских шишек пыльцевые зерна из микропиле семяпочек через посредство механизма опылительной капли попадают на нуцеллусы.

Пыльцевые зерна этих видов на искусственных питательных средах прорастают с большим трудом, а полное развитие мужских гаметофитов *in vitro* можно проследить только при культивировании пыльцевых зерен на химически неопределенных средах, представляющих собой секрет семяпочек.

### Генотипическая обусловленность развития эмбрионидов и ценоцитов в пыльце

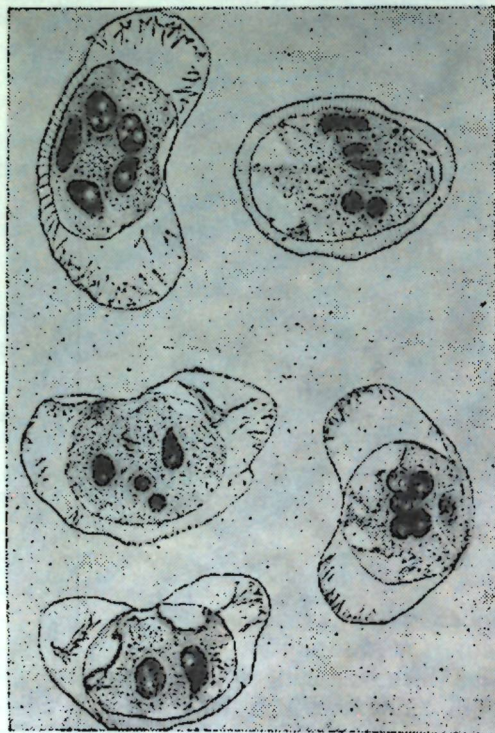


Рис. 3. Многоклеточные структуры и ценоциты в пыльце кедров.

Тотальный цитологический анализ развивающейся и зрелой пыльцы видов сосновых из естественного ареала, а также интродуцированных в Крыму, показал значительную гетерогенность пыльцевых зерен как по биометрии, так и по степени развитости мужских гаметофитов. При этом последовательность делений клеток во время формирования мужских гаметофитов не всегда соответствует известной схеме [3, 18]. На рис. 1 дано схематическое изображение развития мужского гаметофита сосновых на начальных стадиях, до вылета

пыльцы из микроспорангиев. Как свидетельствуют наблюдения, в любой выборке пыльцы сосновых, как в естественном ареале, так и при интродукции, всегда встречаются жизнеспособные аномальные пыльцевые зерна, у которых нарушены процессы формирования мужских гаметофитов и развиваются многоклеточные структуры и ценоциты (рис. 3).

Пока еще трудно говорить о подлинной природе развития таких жизнеспособных новообразований, но очевидно, что их возникновение связано с изменениями биохимической ситуации в микроспорангиях во время I, II, III и IV делений при формировании мужских гаметофитов. Развитие таких структур обусловлено в первую очередь генотипической структурой дерева. Так, в коллекциях Никитского сада отобраны два дерева секвойи вечнозеленой, одно дерево тиса ягодного и одно дерево кедр атласского, в пыльце которых встречаемость эмбрионидов и ценоцитов ежегодно повышена, достигая 0,7—4%. В норме же их встречаемость не превышает сотых долей процента.

Микроспоры, пыльцевые зерна и микроспорангии с этих деревьев, помещенные в пробирки на искусственные питательные среды, всегда дают начало образованию каллуса. Явление индукции развития новообразований в пыльце наблюдали при межвидовой гибридизации покрытосеменных [16]. Прицезионные исследования образования каллуса в культуре пыльников табака показали, что именно новообразования дают начало развитию каллуса *in vitro* [19].

### Утрата пыльцевыми зернами способности сбрасывать экзину как форма мужской стерильности

Пыльца хвойных из семейств тисовых, головчатотисовых, таксодиевых и кипарисовых отличается очень простым строением; она шаровидной формы, экзина по поверхности неровно мелкозернистая. Воздушные мешки и им подобные образования отсутствуют. Пыльцевые зерна этих видов имеют общую особенность: нитина при увлажнении сильно набухает, что приводит к разрыву и полному отделению экзины от пыльцевого зерна [1, 3, 4].

Что касается перфорации экзины, то до последнего времени на этот счет единого мнения нет. Указывают на наличие поры в пыльцевых зернах можжевельника обыкновенного, описывают пыльцу без отверстия [1]; наконец, приво-

дится рисунок поры, но с оговоркой, что часто её трудно узнать и что у отдельных видов она, возможно, отсутствует (цитируем по Александровскому) [1]. Мюллер-Штоль (Müller-Stol, 1948) [1] в работе, посвященной цитоморфологическому исследованию пыльцы можжевельников, не описывает поры. Набухание интины при увлажнении и перед прорастанием, разрыв и отделение экзины, как пишет этот автор, представляет собой нормальный механизм прорастания, который в физиологическом отношении полностью заменяет утраченное отверстие. Берч (Bertch, 1961) [1] описывает в пыльцевом зерне можжевельников округлую пору 1,5—2,5 мкм в диаметре; однако тут же отмечает, что наблюдается она не на всех препаратах, приготовленных из одного и того же материала. Изучение свежих и прорастающих пыльцевых зерен тисовых, кипарисовых и таксодиевых с помощью электронных сканирующих и световых микроскопов подтвердило наличие в пыльцевых зернах видов этих семейств апертур и показало, что в их экзине есть округлое отверстие, прикрытое крышечкой, а под отверстием в экзине расположено отверстие в наружной интине.

Нам удалось найти достаточное количество литературных данных, подтверждающих, что пыльцевые зерна у видов перечисленных семейств отличаются значительной гетерогенностью по способности сбрасывать экзину в капельной жидкости как в пределах одного микроспорангия, так и в пределах группы деревьев. Более того, в арборетуме Никитского сада отобраны деревья тиса, секвойи, таксоднума, а в естественном ареале — можжевельников высокого и красного, морфофизиологически нормальные пыльцевые зерна которых на 90—95% утратили способность сбрасывать экзину. Единичные пыльцевые зерна этих деревьев, сбрасывающие экзину *in vitro*, дают начало развитию гаплоидного каллуса. Событие это ежегодно повторяющееся.

Сейчас еще трудно сказать, ядерной или цитоплазматической природой обусловлен этот признак, однако очевидно, что пыльцевые зерна, утратившие способность сбрасывать экзину в капельной жидкости, полностью не участвуют в половом процессе, так как они не могут быть даже закреплены на пуцеллусах семязпочек в период опыления.

Проведенные наблюдения в естественной популяции можжевельника красного позволяют предположить, что наблюдается действие рецессивного гомозиготного гена стерильности в гетерозиготном состоянии. В силу дробления естест-

венного ареала на изолированные группы малой численности возросло проявление этого гена в гомозиготном виде.

Выявленные структурно-функциональные особенности гаметофитов хвойных растений, закономерности формирования аномальных, но жизнеспособных пыльцевых зерен и ценоцитов в пыльце этих растений, а также утрата способности сбрасывать экзину в капельной жидкости у представителей целого ряда семейств являются шагом в познании происходящих у растений микроэволюционных процессов, что имеет немаловажное народнохозяйственное значение.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александровский Е. С. Эмбриологические исследования среднеазиатских можжевельников *Juniperus*. — Ботан. журн., 1966, т. 51, № 3.
2. Грушвицкий Н. В., Жилин С. Г. Жизнь растений, т. 4. М.: Просвещение, 1978.
3. Кордюм Е. Л. Эволюционная цитозембриология покрытосеменных растений. Киев: Наукова думка, 1978.
4. Круклис М. В. Развитие репродуктивных структур. — В кн.: Половая репродукция хвойных, ч. 1. Новосибирск: Наука, Сибирск. отд., 1973.
5. Левина Р. Е. О природе семенного размножения. — В кн.: Половая репродукция хвойных, ч. 1. Новосибирск: Наука, Сибирск. отд., 1973.
6. Левина Р. Е. Репродуктивная биология семенных растений. М.: Наука, 1981.
7. Мэйнард Смит Дж. Эволюция полового размножения. М.: Мир, 1981.
8. Паушева З. П. Практикум по цитологии растений. М.: Колос, 1980.
9. Размологов В. П. Характеристика развития пыльцы голосеменных на растворах сахарозы с агаром или без него, а также на модифицированных средах Уайта. — В кн.: Половая репродукция хвойных, ч. 1. Новосибирск: Наука, Сибирск. отд., 1973.
10. Ругузов И. А., Кузнецов С. И. Сравнительное изучение развития пыльцы у видов рода кедр из естественного ареала и районов культуры. — Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции, т. 54, вып. 2, Л., 1975.
11. Ругузов И. А., Захаренко Г. С., Склонная Л. У. Сравнительное цитозембриологическое исследование местных и интродуцированных хвойных в Крыму. — Бюл. Главн. ботан. сада, 1980, вып. 118.
12. Терехин Э. С. О способах, направлениях и эволюционном значении редукции биологических структур. — Ботан. журн., 1975, т. 60, № 10.
13. Фегри К., Л. ван дер Пэйл. Основы экологии опыления. М.: Мир, 1982.
14. Френкель Р., Голун Э. Механизмы опыления, размножение и селекция растений. М.: Колос, 1982.

15. Цингер Н. В., Размолотов В. П. Эволюция мужского гаметофита голосеменных. — В кн.: Биохимия и филогения растений. М.: Наука, 1972.

16. Шевченко С. В. Получение каллуса и галлондных проростков в культуре пыльников некоторых покрытосеменных. Тез. докл. III Всесоюзной конф. Культура клеток растений. Абовян, 1979.

17. Konar R. N., Oberoi Y. P. Recent work on reproductive structures of living conifers and Taxads — a review. The botanical review. The New-York Botanical Garden vol. 35, N 2, 1969.

18. Singh H. Embryology of Gymnosperms Gebruder Berntraeger. Berlin, Stuttgart, 1978.

19. Tan B. H., Halloran G. M. Wheat anther culture wheat inform. Serv. 1980, N 51, p. 15—18.

## OBJECTIVE LAWS OF NAPLOPHASE WHEN INTRODUCING CONIFERS IN THE CRIMEA

I. A. RUGUZOV

### SUMMARY

Special features of pollen grain structure and normogenesis of conifer male gametophytes connected with fertilization function have been revealed. Cases of morphogenesis disturbances of conifer male gametophytes are shown, possible causes of them are discussed. The phenomenon of losing the ability to drop exine in ovule secret in Taxaceae, Taxodiaceae, Cephalotaxaceae and Cupressaceae was stated which is identified as a manifestation of a homozygous recessive gene of male sterility in insulated populations and at the introduction.

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭМБРИОЛОГИЯ НЕКОТОРЫХ ХВОЙНЫХ КРЫМА

Л. У. СКЛОННАЯ

Нами проведены эмбриологические исследования можжевельника высокого (*Juniperus excelsa*), естественно произрастающего в Крыму, и кедра гималайского (*Cedrus deodora*), интродуцированного Никитским ботаническим садом в 1847 г.

Мужские и женские шишки можжевельника высокого собирали в буферной зоне заповедника «Мыс Мартьян», а кедра гималайского — в арборетуме Никитского ботанического сада. Образцы фиксировали по Карнуа (6:3:1) и фиксатором ФАА и обрабатывали по общепринятой в цитозембриологии методике.

Можжевельник высокий — однодомное дерево с преобладанием у разных особей мужской или женской сексуализации побегов [2]. Кедр гималайский в СССР — типичный двудомный вид [5], хотя в естественном ареале он представлен однодомными особями [8].

В Крыму у обоих видов зачатки мужских шишек появляются на концах укороченных побегов в июне. Дифференциация женских шишек происходит в конце июля. Развитие микроспорофиллов, микроспорангиев и семязпочек идет быстрыми темпами. Уже в сентябре в микроспорангиях обоих видов происходит процесс мейоза, а в октябре видны молодые женские шишки с семязпочками, в которых развит нуцеллус. Последовательность развития микроспорофиллов, микроспорангиев и семязпочек у этих видов такая же, как и у других видов можжевельника и кедра [10, 11, 15, 17].

У можжевельника высокого покров семязпочек всегда закладывается в виде круглого ободка, отделенного от нуцеллуса бороздкой (стадия валика). По мере роста покрова и нуцеллуса бороздка углубляется и наступает стадия цилиндра, затем — стадия усеченного конуса. Края интегумента на верхушке не срастаются, образуя микропиле. Женская шишка состоит из четырех-шести семенных чешуй, в пазухе

каждой чешуи расположены одна-две семяпочки. В шишке от 3 до 11 семяпочек (чаще 5—7). Число семяпочек в шишке не постоянно даже в пределах дерева.

Женские шишки кедра гималайского одиночные, прямостоячие. Состоят они из оси, на которой расположены многочисленные комплексы чешуй (кроющая и семенная с семяпочками). Кроющая чешуя развивается первой. Позднее у ее основания появляется бугорок будущей семенной чешуи. Последняя развивается очень быстро. Обе чешуи в основании срастаются, но каждая из них имеет отдельную проводящую систему. На абоксальной стороне семенной чешуи закладываются две семяпочки.

Интегумент семяпочек развивается неодинаково со всех сторон; на стороне, удаленной от семенной чешуи, он удлиняется быстрее. Микропиллярный канал длинный, в верхней части расширяется, напоминающая воронковидное отверстие. Нуцеллус широкий и свободный, соединен с интегументом только в халазальной части. Число семяпочек в шишке на одном дереве постоянно, однако на разных деревьях их число колеблется от 170 до 285. В апикальной и халазальной частях шишки расположены чешуи с недоразвитыми семяпочками или семяпочками, у которых недоразвит интегумент. Такие семяпочки не могут быть опылены, и развитие зародышей в них не наблюдается. Число нормально развитых семяпочек в шишке зависит от генотипа дерева, гидротермических и эдафических условий во время дифференциации женских шишек.

Мужские шишки можжевельника высокого одиночные, терминальные. На общей оси расположено 8—12 микроспорофиллов, на абоксальной стороне каждый микроспорофилл несет два-четыре (чаще три) микроспорангия.

Мужские шишки кедра гималайского тоже одиночные, терминальные, прямостоячие. На общей оси находятся многочисленные микроспорофиллы, на нижней стороне каждого микроспорофилла развивается по два микроспорангия. Стенки микроспорангиев пятислойные. Клетки эпидермиса, содержащие смолистые вещества, имеют утолщенные оболочки. Несколько эпидермальных клеток, расположенных с брюшной стороны спорангия, не содержат смолистых веществ, а их оболочки не имеют утолщений. Здесь проходит линия растрескивания микроспорангия. Клетки тапетума на ранних стадиях развития мало чем отличаются от материнских клеток микроспор. Однако ко времени редукцион-

ного деления в последних клетки тапетума увеличиваются, цитоплазма вакуолизируется и каждая клетка посредством карпокинеза начального ядра становится двуядерной. После образования пыльцы клетки тапетума исчезают.

Стенки микроспорангиев можжевельника высокого состоят из эпидермиса, гиподермального слоя плоских клеток и клеток тапетума. Последние отличаются густой цитоплазмой, дегенерируют в период распада тетрад.

Микроспорогенез у изучаемых видов наблюдали в первых числах сентября. Продолжительность мейоза (в пределах одного дерева) у можжевельника высокого 4—5, у кедра гималайского — 12—15 дней. У обоих видов наблюдается асинхронность прохождения мейоза в микроспоритах как одного микростробила, так и отдельного микроспорангия. Во время одной фиксации в пределах одного микростробила можно наблюдать все стадии микроспорогенеза: от материнских клеток микроспор до распада тетрад и отдельных микроспор. В литературе широко обсуждается отрицательное влияние неблагоприятных погодных условий на ход микроспорогенеза у хвойных [6, 8]. Установлено, что нарушение хода мейоза в микроспоритах кедра атласского в Крыму часто обусловлено супероптимальными температурами воздуха в этот период [5]. Очевидно, что только асинхронность прохождения мейоза может обеспечить необходимое число жизнеспособных спор при любых погодных условиях. Сам ход мейоза в микроспоритах кедра гималайского освещен подробно [9]. В доступной нам литературе нет сведений о микроспорогенезе у можжевельника высокого, хотя у других видов рода можжевельник мейоз описан достаточно широко [1, 12, 13, 14, 6].

У можжевельника высокого к началу редукционного деления материнские клетки микроспор отделяются друг от друга, становятся округлыми. По окончании диакинеза ядерная мембрана исчезает. После телофазы первого шага мейоза клеточной перегородки никогда не наблюдали. Два дочерних ядра, образовавшихся в результате первого деления мейоза, сразу же вступают во второе деление мейоза (без интеркинеза). Клеточная перегородка образуется вслед за окончанием второго деления. Микроспоры обособляются вскоре после возникновения тетрад. Зрелая пыльца одноклеточная. От образования микроспор до опыления проходит около четырех месяцев. За это время в микроспорангиях происходят физиолого-биохимические процессы созре-

ва́ния пы́льцы. Осе́него «цве́тения» у можжеве́льника вы́сокого никогда́ не наблюдали.

У ке́дра гимала́йского. че́рез 10—15 дней после́ распада́ тетра́д начина́ется прора́стание микро́спор. Ядро́ микро́спору́ из центра́ переме́щается вверх. В резу́льтате первого́ деления́ отчленя́ется маленькая́ проталлиа́льная кле́тка. Вскоре́ отчленя́ется и вторая́ проталлиа́льная кле́тка. Во время́ пыления́ пы́льца трехклеточная́, ядра́ всех ее кле́ток физиологически́ активны́. Дальнейшее́ развитие́ мужского́ гамето́фита ке́дра гимала́йского́ проходит на ну́целлусе́ семяпоче́к. В райо́нах есте́ственного произра́стания пы́льца ке́дра в пери́од опыления́ пятиклеточная́. На ну́целлуса́х семяпоче́к происходи́т только́ деление́ спермато́генной кле́тки с образова́нием двух равноце́нных га́мет.

От закла́дки мужских́ шишек до опыления́ проходи́т три́ месяца́ [7]. В Кры́му э́тот пери́од растяну́т до пяти́ месяце́в; вылет пы́льцы в первой де́каде но́ября. Пы́льцевые́ зерна́ разно́сятся ветром. Внешняя́ поверхно́сть женской́ шишки́ ке́дров во время́ опыления́ представля́ет собо́й систе́му воро́нок, каждая́ из кото́рых образова́на нару́жной поверхно́стью кро́ющей че́шуйи и внутре́нной поверхно́стью се́менной че́шуйи преды́дущего́ витка́ спира́ли. Ни́жний край́ воро́нки выходи́т в зону́ оси́ шишки́, где́ находи́тся точка́ пересече́ния аэро́динамических́ тру́б противо́ложных пара́стих. Конта́кт пы́льцевых́ зерен с ну́целлуса́ми семяпоче́к обеспе́чивается си́лами аэро́динамики. Сте́пень разви́тости мужского́ гамето́фита к мо́менту опыления́ и разме́ры пы́льцевых́ зерен для́ обеспе́чения конта́кта имею́т реша́ющее значе́ние. Все пы́льцевые́ зерна́ с морфологическими́ анома́лиями́ тела́ и возду́шных ме́шков, а также́ с замедле́нным или́ ускоре́нным темпом разви́тия мужского́ гамето́фита обладаю́т иными́ аэро́динамическими́ параметрами́ и поэ́тому́ не могу́т быть доставле́ны возду́шными пото́ками на ну́целлуса́х семяпоче́к.

В пери́од опыления́ микропиле́ семяпоче́к представля́ет собо́й широко́ откры́тую, воро́нкоподобную́ структу́ру. Апи́кальная́ часть се́менной че́шуйи напра́влена вниз, досту́п к микропилля́рному́ каналу́ откры́т. Че́рез две неде́ли после́ опыления́ микропилля́рный́ канал закрыва́ется. Эпидерма́льные кле́тки инте́гумента́ внутри́ микропиле́ деля́тся с двух́ сторо́н, образу́я два вы́роста, разраста́ющиеся навстре́чу друг дру́гу. Се́менная и кро́ющая че́шуйи ме́ленно пово́рачива́ются вверх, образу́я о́стрый уго́л с о́сью шишки́, досту́п

к микропиле́ закрыва́ется. Плотное́ смыкание́ че́шуйи обеспе́чивает бы́стрый рост и выпу́клость субапи́кальной зо́ны се́менной че́шуйи. Таким́ образо́м, создаю́тся усло́вия, необхо́димые для́ дальнейше́го разви́тия га́метофитов, образова́ния га́мет, их сли́яния, формиро́вания зи́гот и разви́тия зародо́шей. Пы́льцевые́ зерна́, попада́вшие на ну́целлуса́, бо́лее се́ми месяце́в остаю́тся без ви́димых изме́нений.

В Кры́му у можжеве́льника вы́сокого, в зависи́мости от гидро́термических́ усло́вий го́да и вы́соты над у́ровнем моря́, вылет пы́льцы происходи́т с се́редины я́нваря до а́преля. К э́тому́ времени́ женские́ шишки́ значите́льно увели́чива́ются, инте́гумент, образу́ющий микропиле́ семяпоче́к, вы́шеается над се́менными́ че́шуйями. У́ входа́ в микропиле́ образу́ется опыли́тельная ка́пля, кото́рая выпол́няет транспор́тную, соби́рательную́ и избирате́льную́ функци́и. При́ попада́нии пы́льцевых́ зерен на по́верхность опыли́тельной ка́пли они́ освобожда́ются от э́кзины́ и всасы́ваются. Продол́жительность всасы́вания́ зависи́т от чис́ла пы́льцевых́ зерен на по́верхности ка́пли. Прове́денные́ опы́ты показа́ли, что́ при́ нанесе́нии оди́ного пы́льцевого́ зерна́ опыли́тельная ка́пля не всасы́вается до ко́нца реце́птивного́ пери́ода. При́ нанесе́нии тре́х пы́льцевых́ зерен всасы́вание́ происходи́т за по́лтора́ часа́, при́ нанесе́нии пяти́ зерен — за по́лчаса́, а е́сли нанесе́но бо́лее де́сяти зерен — за 12 мину́т.

Наши́ дан́ные не вполне́ согласо́ваны с литерату́рными́. Так, Мэ́тьюз [12] пи́шет, что́ у можжеве́льника ви́ргинского́ на ну́целлуса́х семяпоче́к попада́ют пы́льцевые́ зерна́, не сброси́вшие э́кзины́, и то́лько после́ деления́ я́дра микро́спору́ происходи́т разрыв́ э́кзины́. Мы́ никогда́ не наблюда́ли на ну́целлуса́х семяпоче́к пы́льцевых́ зерен, не сброси́вших э́кзины́, а также́ и прора́стания́ микро́спор, не сброси́вших э́кзины́, — как на́ искусстве́нных сре́дах, так и в есте́ственных усло́виях. Наши́ наблюда́ния показа́ли, что́ все пы́льцевые́ зерна́, не сброси́вшие э́кзины́ в опыли́тельной ка́пле, в поло́вом проце́ссе не уча́ствуют.

При́ температу́ре возду́ха  $+10^{\circ}$  (отно́сительная́ вла́жность́ 60%) проце́сс опыления́ заканчи́вается че́рез 10—12 дней. Кле́тки внутре́нного э́пидермиса́ инте́гумента́ че́рез 10 дней после́ опыления́ расту́т в радиа́льном напра́влении, закрыва́я микропиле́. Нача́нется интен́сивный́ рост се́менных че́шуйи. Че́рез три́ меся́ца после́ опыления́ они́ стано́вятся мя́систыми́ и смы́каются над семяпоче́ками, образу́я ши́шкочуго́ду. Пы́льцевые́ зерна́, попада́вшие на ну́целлуса́х семяпоче́к,



чек, на пятый-шестой день прорастают, то есть происходит деление ядра микроспоры с образованием генеративной и сифоногенной клеток. Прорастание пыльцевых зерен начинается в капле секрета семяпочек. Все микроспоры, попавшие на нуцеллус, прорастают, но далеко не все гаметофиты заканчивают свое развитие с образованием спермиев. По-видимому, развитие идет до конца только в совместимых парах гаметофитов.

Пыльцу с одного дерева можжевельника высокого *in vitro* высевали на секрет семяпочек разных деревьев. Пыльцу культивировали 45 дней, возникновения инфекции при этом не наблюдали. Развитие мужского гаметофита во всех вариантах опыта шло по-разному. На секрете семяпочек двух деревьев развитие гаметофитов останавливалось после первого деления при формировании мужских гаметофитов (рис. 1). В двух других вариантах опыта большинство га-

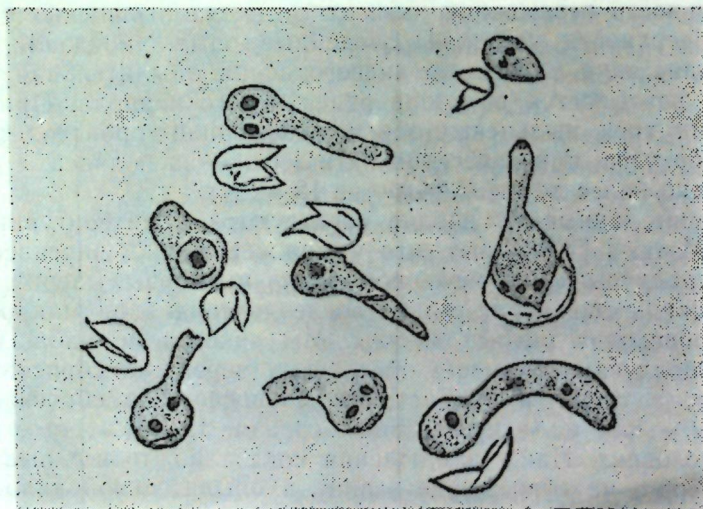


Рис. 1. Развитие мужских гаметофитов можжевельника высокого на секрете семяпочек в искусственных условиях.

метофитов образовывало базально-стебельковый комплекс клеток, и только на секрете семяпочек одного дерева около 30% гаметофитов заканчивало развитие, образуя две гаметы. Эти опыты показывают, что несовместимость мужского

и женского гаметофитов — одна из причин пустосемянности можжевельника высокого в Крыму.

Весной последующего за опылением года у кедр гималайского женские шишки быстро растут. К концу мая их нуцеллус достигает краев микропиле. Пыльцевые зерна образуют трубки. В результате третьего деления при формировании мужских гаметофитов образуются сифоногенная и генеративная клетки.

У обоих исследуемых видов ко времени возникновения пыльцевых трубок на сернях срезов через нуцеллусы видна функционирующая мегаспора, которая дает начало свободной ядерному женскому гаметофиту (рис. 2) — массивному ценоцитному образованию. Женский гаметофит развивается только в опыленных семяпочках.

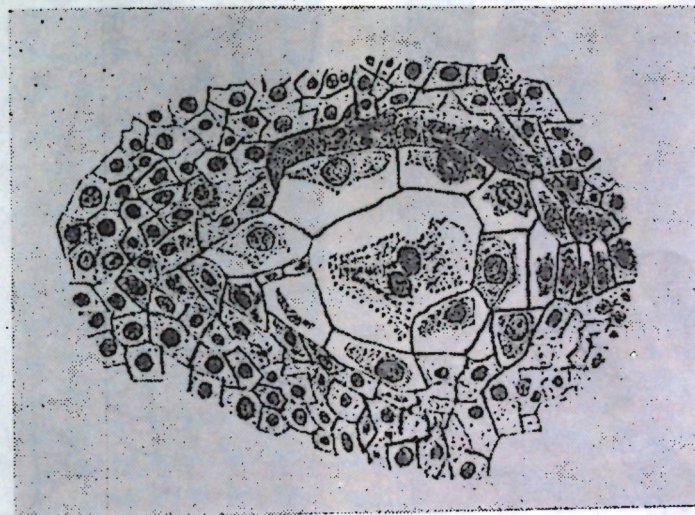


Рис. 2. Начало развития женского гаметофита кедр гималайского в губчатой ткани нуцеллуса семяпочек.

В третьей декаде июня у кедр гималайского между ядрами женского гаметофита образуются перегородки. У можжевельника высокого это происходит только в середине июля. К этому времени в пыльцевых трубках обоих видов видны сифоногенная клетка и базально-стебельковый комплекс (рис. 3). На микропиллярном конце женского гаметофита появляются архегоннальные инициалы. Развитие архе-

гониев идет так же, как и у других представителей сосновых и кипарисовых [16]. Каждая инициаль делится переклиналино с образованием небольшой шейковой инициали и большой центральной клетки. Непосредственно перед оплодотворением центральная клетка делится, образуя вентральную канальцевую клетку и яйцеклетку. Зрелый архегоний содержит многоклеточную шейку, маленькую вентральную канальцевую клетку и яйцеклетку (рис. 4). У изучаемых ви-

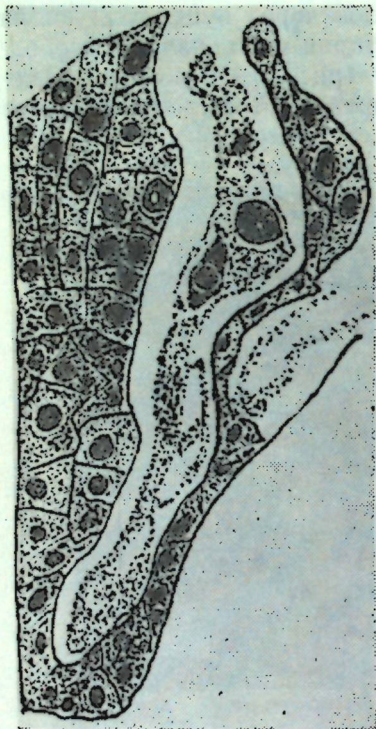


Рис. 3. Пыльцевая трубка в ткани пучеллуса семяпочки кедра гималайского.

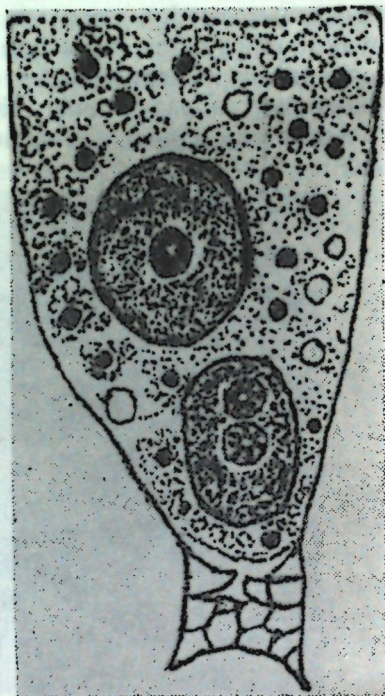


Рис. 4. Верхняя часть архегония кедра гималайского.

дов архегонии находятся в микропиллярной части женского гаметофита. Иногда они расположены латерально и тогда отсутствуют в микропиллярном конце. Изредка архегонии можно увидеть разбросанными по всему женскому гаметофиту (рис. 5).

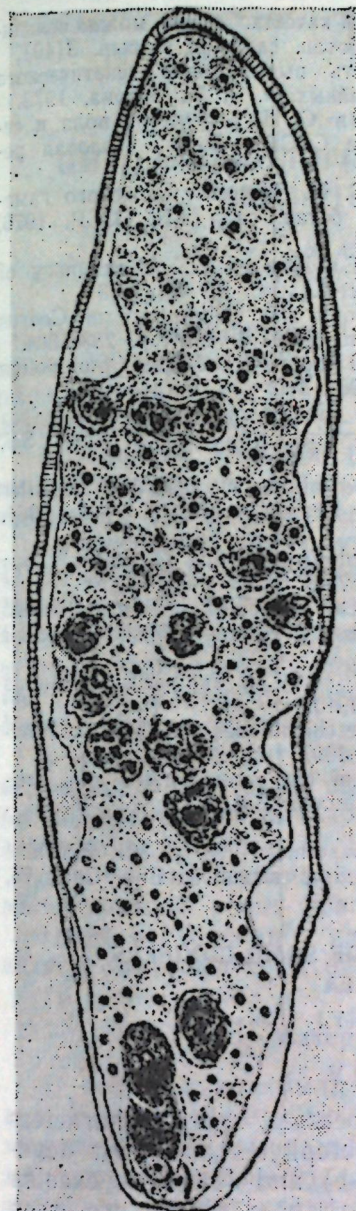


Рис. 5. Расположение архегониев по всему женскому гаметофиту кедра гималайского.

В Крыму у кедра гималайского оплодотворение яйцеклеток происходит в июле. Эмбриогенез идет очень быстро, и к ноябрю зародыш уже хорошо развит. У можжевельника высокого оплодотворение происходит в начале августа. Сразу же после этого отмечено первое деление зиготы и развивается просуспензор. Дальнейшее развитие идет уже в следующем вегетационном сезоне и завершается формированием зародыша. Массовая гибель развивающихся семян наблюдается в период оплодотворения и на всех этапах эмбриогенеза. Вероятно, это результат близкородственного оплодотворения. Коски [3] отмечает, что при самоопылении у хвойных большой процент пустых семян образуется в результате «прекращения развития эмбрионов».

У кедра гималайского, как правило, все опыленные семяпочки дают семена с хорошо развитым зародышем.

В Крыму полный цикл развития от закладки генеративных органов до зрелого семени у кедра гималайского составляет 18 месяцев, у можжевельника высокого — 27 месяцев.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александровский Е. С. Развитие семяпочек и микроспорогенез у видов *Juniperus*. — Ботан. жури., 1971, т. 56, № 2.

2. Григоров А. Н. Семеношение и качество семян можжевельника высокого в Крыму. — Бюл. Никитск. ботан. сада, 1979, вып. 3(40).

3. Коски В. Пустые семена — часть выраженного генетического груза. — В кн.: Половая репродукция хвойных, ч. 2. М.: Наука, 1973.

4. Никифоров Ю. Л., Кузнецов С. И. Структура пола и семеношение кедров (*Cedrus Trew*) на юге СССР. — В кн.: Половая репродукция хвойных, ч. 2, М.: Наука, 1973.

5. Ругузов И. А., Кузнецов С. И. Развитие мужского гаметофита кедра атласского. — Бюл. Главн. ботан. сада АН СССР, 1976, вып. 101.

6. Andersson E., Ekberg J., Eriksson G. A summary of meiotic investigations in conifers. Stud. forest. suec. Bd 70, 1969.

7. Chowdhury C. R. The morphology and embryology of *Cedrus deodara* (Roxb.) Loud. Phytomorphology, v. 11, N 3, 1961, p. 283—304.

8. Ekberg J., Eriksson G., Sulikova Z. Meiosis and pollen formation in *Larix*. Hereditas, 59, N 2—3, 1968.

9. Johri B. M. Contribution to the life-history of *Cedrus deodara* Loud. I The development of the pollen grains. Proc. Indian Acad. Sci. 3B: 1936, 246—257.

10. Lemoine-Sebastian C. Observations sur les cônes femelles de quelques *Juniperus*. "Bull. Soc. bot. France", 111, N 7—8, 1964, 316—320.

11. Lemoine-Sebastian C. Ontogenese du tegument dous l'ovule du *Juniperus*. "C. r. Acad. Ssi." D262, N 6, 1966, 634—637.

12. Mathews A. C. The morphological and cytological development of the sporophylls and seeds of *Juniperus virginiana*. Elisha Mitchell Scient. Soc., 55, 1939, 7—62.

13. Nichols G. E. A morphological study of *Juniperus communis* var. *depressa*. Beih. Bot. Centralblatt, 25, 1, 1910.

14. Noren C. O. Zur Entwicklungsgeschichte des *Juniperus communis*. Uppsala Universitets Årsskrift, 213, 64S, 1907.

15. Ottley A. M. The development of the gametophytes and fertilization in *Juniperus communis* and *J. virginiana*. Bot. Gaz. vol., 48, N 1, 1909.

16. Singh H. Embryology of *Gymnospermes* 1978, p. 301, Berlin.

17. Smith R. W. Life-history of *Cedrus atlantica*. Bot. Gaz., 75, 1923, 203—208.

## COMPARATIVE EMBRYOLOGY OF SOME CONIFERS OF THE CRIMEA

L. U. SKLONNAYA

### SUMMARY

Micro- and megasporogenetic processes, special characters of contact of male and female gametophytes and their development in *Cedrus deodara* (Pinaceae) and *Juniperus excelsa* (Cupressaceae) are described. Disturbances of the processes at the male gametophyte formation on different gaplophase stages are discussed. The conditions of incompatibility of gametes and empty seed development are shown.

## ЦИТОЭМБРИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ХРИЗАНТЕМЫ САДОВОЙ

В. М. НОВИКОВА,  
кандидат биологических наук

Род *Chrysanthemum* (сем. Asteraceae Dum) объединяет около 200 видов. Виды этого рода образуют типичный полиплоидный ряд, кратный основному числу хромосом — 9, и содержит 18, 27, 36, 45, 54 и т. д. хромосом [12].

Хризантема садовая (*Chr. hortorum*) — одна из ведущих культур мирового промышленного цветоводства, насчитывающая в настоящее время более 10 000 сортов [1, 5].

Хромосомный набор у садовых хризантем варьирует от 47 до 67 [8]. Большинство сортов являются гексаплоидами  $2n=6x=54$ . Следует отметить, что многие сорта хризантемы возникли спонтанно. Вариации в числах хромосом существуют не только между сортами, но и внутри их. Так, у сортов сорта Районант насчитывается от 51 до 54 хромосом. Многие сорта хризантем — периклиналильные химеры [8, 9].

В результате цитогенетических исследований различных видов хризантем было высказано предположение о возможности возникновения садовых хризантем на основе гибридизации между видами [10, 12, 13 и др.].

Данные по цитоэмбриологии хризантемы садовой весьма малочисленны, носят фрагментарный характер [14 и др.].

Наши исследования касались вопросов, связанных с развитием гаметофитов и биологией цветения.

### Материал и методика

В исследования были включены мелко- и крупноцветковые сорта хризантемы садовой из различных классов и групп: Астория (желтый, махровый, полушаровидный, мелко- и среднецветковый), Сонейвон (желтый, плоский, ранний, мелко- и среднецветковый), Эвелин Буш (белый, шаровидный, крупноцветковый).

Формирующиеся соцветия с трубчатыми и язычковыми цветками и отдельные цветки фиксировали по Карнуа

(6:3:1). Постоянные препараты приготавливали по общепринятой методике. Микротомные срезы толщиной 15—20 мк. окрашивали метиловым зеленым пиронином по Унна. Отдельные стадии развития мужского гаметофита изучали на препаратах, окрашенных ацетокармином.

### Результаты исследований

Биология цветения хризантемы садовой. Цветки хризантемы садовой (от 250 шт. и более) собраны в соцветия и имеют общую для всех составляющих его цветков чашечковидную обертку [3]. Цветки в соцветии двух видов (дисковые и трубчатые), обычно желтые и краевые, ложноязычковые, различной окраски и строения. Трубчатые цветки от нескольких штук до нескольких сот в виде диска расположены в центральной части соцветия. Они обоеполые, типичные протерандрические. Венчик каждого цветка спайнолепестный, трубчатый с небольшим пятизубчатым отгибом. Цветки со свободными тычиночными нитями и пятью пыльниками, срастающимися ко времени созревания пыльцы в трубочку, окружающую столбик пестика. Краевые цветки (от 12—15, у отдельных крупноцветковых сортов до нескольких сот и даже до 1000) однополые, женские или с недоразвитыми пестиками—стерильные. Завязь у хризантемы нижняя [3, 6 и др.].

Число трубчатых цветков у сорта Астория с невыраженным диском трубчатых цветков непостоянно, меняется по годам. Так, на протяжении двух лет в соцветиях третьего порядка развивалось 5—15 трубчатых цветков, а на третий год их число возросло до 25—45.

В пределах соцветия созревание цветков, высыпание пыльцы, готовность рыльца к восприятию пыльцы происходят постепенно от периферических рядов к центральным. Цветки в соцветии находятся на различных стадиях развития. В отдельном цветке созревание пыльцы и ее выталкивание сомкнутыми лопастями столбика во время его прохождения через трубочку (образуемую сросшимися пыльниками) наступает раньше созревания пестика и готовности рыльца к восприятию пыльцы. У сорта Директор Плесман (с ромашковидным соцветием) от начала созревания пыльцы в цветках периферического ряда до созревания ее в центральных цветках проходит восемь-десять дней. Обычно готовность рылец к восприятию пыльцы цветками перифе-

рических кругов соцветия совпадает с окончанием пыления центральных цветков. После высыпания пыльцы лопасти рыльца начинают расходиться, принимая Т-образную форму, затем слегка отгибаются вниз. На второй-третий день после отгиба лопастей наступает восприятие пыльцы рыльцем, которое сохраняется в течение пяти-шести дней.

Микроспорогенез и развитие мужского гаметофита. Пыльник у хризантемы садовой четырехгнездный. Стрессение стенки пыльника и дифференциация спорогенной ткани происходит как и у *Chr. Leucanthemum*, *Chr. segetum* [2, 7]. Стенка пыльника состоит из четырех слоев: эпидермиса, эндотеция, промежуточного слоя и тапетума.

В пыльниках из бутонов формирующегося соцветия диаметром до 1 см находятся примыкающие друг к другу спорогенные клетки. После митотического деления они несколько увеличиваются и развиваются в материнские клетки микроспор—микроспороциты. В микроспороцитах наступает мейоз (рис. 1 а, б, в). Клетки тапетума (рис. 1 г, д) окружают микроспороциты; во время профазы и метафазы I мейоза они интенсивно митотически делятся. Деление ядер тапетума не сопровождается цитокинезом, в результате чего образуются различные клетки с многоядрышковыми ядрами: двуядерные с узкими длинными ядрами (расположенными параллельно), длина которых может превышать поперечник в 10 и более раз, и четырехядерные клетки с овальными ядрами. Нередко встречаются клетки, в которых происходит нарушение деления ядер: замедленное течение митоза с образованием мостов в анафазе и возникновение неразошедшихся у-образных и других гигантских ядер. Ко времени распада тетрад происходит деление единичных ядер тапетума. Разрушение тапетума—исчезновение границ клеток, вакуолизация плазмы и отмирание ядер—становится заметным в пыльниках во время вакуолизации одноядерных пыльцевых зерен и дифференциального митоза. В пыльниках с двухклеточными пыльцевыми зернами видны разрушенные ядра тапетума.

У изучаемых сортов садовой хризантемы течение мейоза и последующих этапов развития мужского гаметофита в пыльниках одного цветка и в отдельно взятом пыльнике происходит асинхронно. В одном пыльнике микроспороциты могут находиться на различных стадиях профазы или анафазы I и телофазы I. Мейоз протекает с нарушениями. В диакинезе помимо бивалентов встречаются уни-, три- и

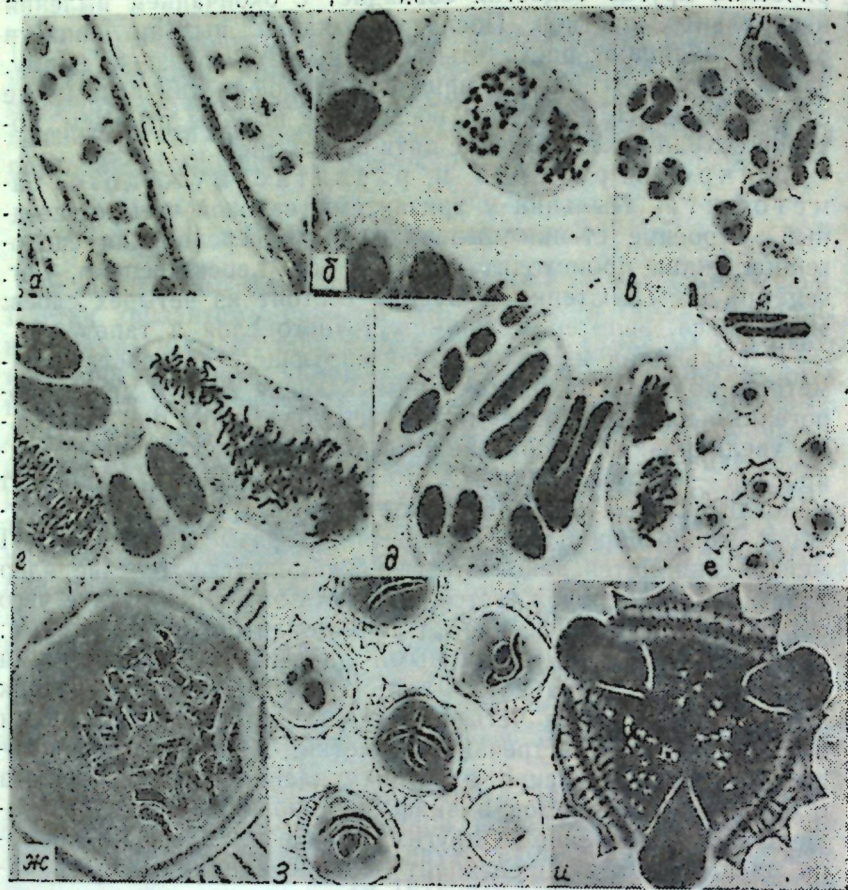


Рис. 1. Микроспорогенез и развитие мужского гаметофита у хризантемы садовой: а — продольный срез пыльника, мейоз в микроспорангиях; б — метафаза II; в — мейоз и тетрадогенез; г, д — клетки тапетума на стадии мейоза в микроспорангиях; е — одноядерные пыльцевые зерна; ж — метафаза первого деления в пыльцевом зерне; з, и — зрелые трехклеточные пыльцевые зерна.

квадриваленты, различные соединения из трех-четырех хромосом, v- и у-образные сочленения, кольца, цепи, фигуры креста. В анафазе I, метафазе I и телофазе I наблюдаются неравномерное расхождение хромосом к полюсам, выброс хромосом за пределы фигур деления, разброс хромосом по веретену, образование мостов. В метафазе I и II у сортов

Астория, Сонейвои и Эвелин Буш насчитывается 27 хромосом. У сорта Астория встречались пластинки с 28 и 29 хромосомами.

Образование тетрад (рис. 1в) у хризантемы происходит по симультанному типу. Микроспоры в тетрадах расположены тетраэдрически. Количество нормальных тетрад у сорта Сонейвои по годам составляет до 70—90%, у сорта Астория — 25—50%. Среди аномалий тетрадогенеза можно отметить наличие тетрад с микроспорами неодинакового размера, с одним или несколькими микронуклеусами, а также диады, триады и полиады с пятью-семью неодинаковыми микроспорами.

Обособившиеся микроспоры вначале овальные (с крупным ядром), затем округляются, растут, становясь сфероидальными; с дальнейшим ростом у них формируются поры и шиловатая экзина. По мере роста одноядерного пыльцевого зерна (рис. 1е) его плазма вакуолизируется, мелкие вакуоли сливаются и крупная вакуоль оттесняет протоплазму с ядром к оболочке. Ядро митотически делится (рис. 1ж). Во время митоза видна морфология хромосом. В результате деления ядра и протопласта образуются две неравные клетки: более крупная — собственно вегетативная клетка и меньших размеров — генеративная. Сразу же после деления ядра клеток (округлые, с крупными ядрышками) лежат рядом. На ранних стадиях развития генеративная клетка округлая, со светлой плазмой. По мере развития все более заметными становятся различия ядер генеративной и вегетативной клеток. Ядро генеративной клетки меньших размеров (по сравнению с ядром вегетативным), со временем оно принимает овальную форму, содержит крупное ядрышко; хроматин ее ядра интенсивно окрашивается, имеет густую карноплазму.

Деление генеративной клетки у хризантемы садовой происходит в пыльцевом зерне. При спермиогенном делении видны нити ахроматинового веретена. Образовавшиеся спермии округлые, окружены слоем протоплазмы. В процессе развития они удлиняются, принимая серповидную форму. Ядро вегетативной клетки крупнее ядра генеративной, слабо окрашивается, сохраняет ядрышко и просматривается на всех стадиях развития спермиев — вплоть до прорастания пыльцевого зерна.

Зрелое пыльцевое зерно (рис. 1з, и) по конфигурации сфероидальное, меридионально-3-борозднопертурное. Поры

расположены по углам треугольника, сэкзина ясно столбчатая. Согласно классификации Эрдтмана (1956) пыльцевые зерна по своему строению можно отнести к типу *Leucanthemum*.

В раскрытых пыльниках содержится трехклеточная морфологически нормальная и стерильная пыльца: оптически пустые пыльцевые зерна, находящиеся на различных стадиях дегенерации (с плазмой, отстающей от оболочки пыльцевого зерна, с вакуолизированной плазмой, с пикнотическими ядрами и другими аномалиями). Соотношение морфологически нормальной и стерильной пыльцы у одного и того же сорта (Асторини) по годам меняется в широких пределах. Количество нормальной пыльцы может колебаться от 67 до 18%. Возможно, на микроспорогенез, развитие мужского гаметофита и жизнеспособность пыльцы хризантемы садовой влияют не только генетические факторы, но и условия года: температура, влажность и другие факторы, а также растянутость прохождения отдельных стадий во времени.

Мегаспорогенез и развитие зародышевого мешка. В завязи хризантемы садовой развивается одна анатропная, однопокровная, тунуцеллярная семязпочка. В нуцеллусе семязпочки у изучаемых сортов закладываются две или несколько археспориальных клеток. Обычно одна из них становится материнской клеткой мегаспор, в которой завершается мейоз, а остальные лизируют. После завершения мейоза в материнской клетке мегаспор образуется линейная тетрада мегаспор (рис. 2а), окруженная одним слоем нуцеллуса.

В зародышевый мешок чаще всего развивается халазальная клетка тетрады мегаспор, а остальные ее клетки отмирают. В отдельных случаях из микропиллярной или одной из средних мегаспор происходит развитие зародышевого мешка. По мере роста и развития последнего (рис. 2б) происходит дегенерация клеток тетрады мегаспор и лизис окружающих их клеток нуцеллуса. Нуцеллус полностью исчезает ко времени функциональной зрелости зародышевого мешка (рис. 2в, г, д, е), непосредственно окруженного одним рядом крупных таблитчатых, вытянутых в радиальном направлении одноядерных клеток интегументального тапетума — эндотелия. В халазальной части эндотелия при смыкает к гидролизованной зоне покрова, и зародышевый мешок как бы подвешен в ней; в микропиллярной части

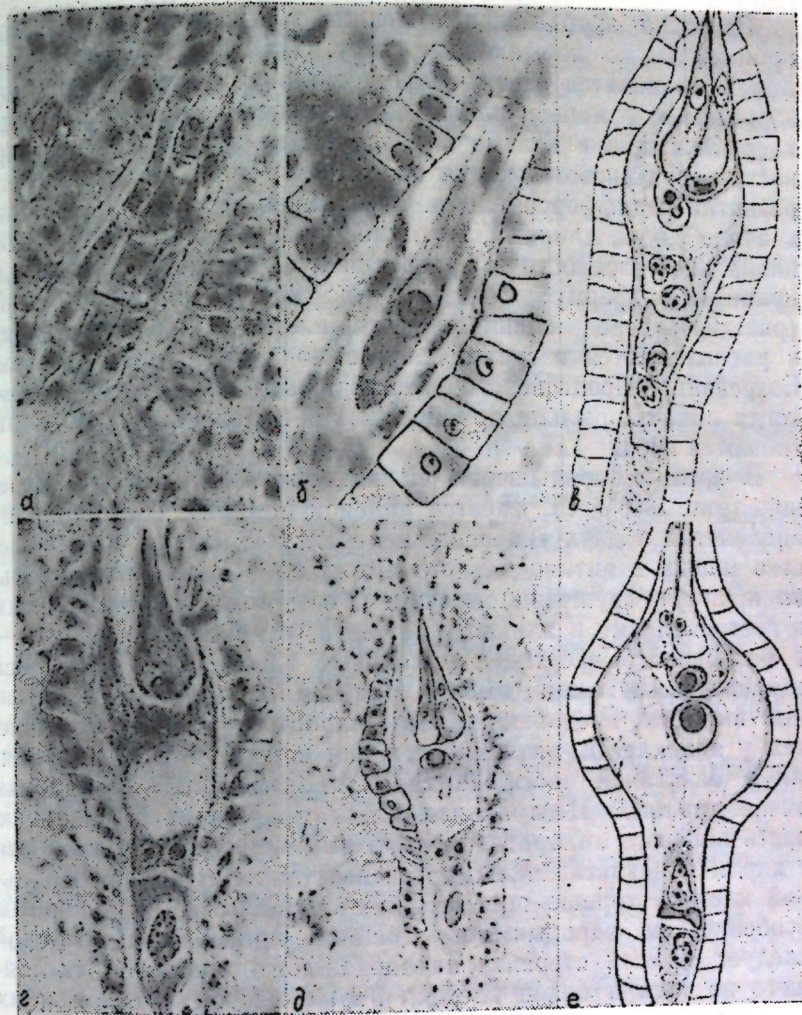


Рис. 2. Некоторые стадии развития зародышевого мешка у хризантемы садовой: а — тетрада мегаспор; б — одноядерный зародышевый мешок; в — зародышевый мешок перед слиянием полярных ядер; г, д — последовательные срезы зародышевого мешка; е — функционально зрелый зародышевый мешок.

клетки интегумента остаются неразрушенными. Появление эндотелия совпадает с началом развития зародышевого мешка, деление клеток которого можно наблюдать после оплодотворения и во время эмбриогенеза.

Развитие зародышевого мешка у хризантемы садовой происходит по нормальному типу. На двуядерной стадии в нем становятся заметными вакуоли. В четырехъядерном зародышевом мешке наблюдаются две полярные группы ядер, лежащие в плазме и разделенные вакуолями. Полярность зародышевого мешка сохраняется в последующем его развитии и дифференциации. Зародышевый мешок (рис. 2*в*) вначале узкий, длинный, веретенообразный, к моменту функциональной зрелости с разросшейся центральной частью принимает форму булавы (рис. 2*е*). Полярные ядра (рис. 2*в*) перед слиянием приближаются друг к другу и располагаются в густой плазме под яйцевым аппаратом. Созревание зародышевого мешка совпадает со временем, когда лопасти рыльца приобретают Т-образную форму и отгибаются вниз.

В зрелом зародышевом мешке, готовом к оплодотворению (рис. 2*г*, *д*, *е*), имеется яйцевой аппарат, состоящий из яйцеклетки и двух синергид, центральной клетки зародышевого мешка и антиподального аппарата. Яйцеклетка довольно крупная, грушевидной формы, с ядром, расположенным в густой плазме в апикальной части, и крупной вакуолью — в базальной. Синергиды, вытянутые вдоль продольной оси зародышевого мешка, имеют характерные зубовидные длинные выросты, внедряющиеся в микропиле. Их ядра мельче, чем у яйцеклетки, размещаются они над крупными вакуолями в базальной части. Микропиллярный канал семязпочки очень длинный. Центральная клетка окружает апикальную часть яйцевого аппарата, ее ядро расположено на одной оси с ядром яйцеклетки. Между яйцевым аппаратом и центральной клеткой хорошо просматривается щель. К характерным особенностям зародышевого мешка хризантемы садовой следует отнести строение антиподального аппарата, состоящего из трех и более клеток. Форма клеток антипод и их расположение в зародышевых мешках завязей обоеполых и функционально женских цветков одних и тех же сортов могут быть самыми разнообразными. Антиподы расположены в суженной халазальной части зародышевого мешка либо в один ряд, либо Т-образно, либо произвольно. По форме они могут быть удлиненными, овальными, угловатыми. Клетки антипод обычно многоядерные, с многоядрышковыми ядрами различной формы.

Микроспорогенез у хризантемы садовой протекает с нарушениями, что приводит к частичному образованию сте-

рильной пыльцы. Зародышевый мешок моноспорический, развивается по нормальному типу. У сортов Сонейвон и Директор Плесман отмечен большой процент зародышевых мешков, сохраняющих в течение пяти-шести суток функциональную жизнеспособность.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бабкина В. М. Хризантема. — В кн.: Цветы для вашего сада. Симферополь: Таврия, 1978.
2. Магешвари П. Эмбриология покрытосеменных. М.: изд-во ИЛ, 1954.
3. Стевенсон Т. Хризантемы. М.: Сельхозгиз, 1937.
4. Эрдтман Г. Морфология пыльцы и систематика растений. М.: изд-во ИЛ, 1956.
5. Яброва-Колаковская В. С., 1970. История культуры хризантемы. — Труды Сухумского ботан. сада, 1970, вып. 17.
6. Яброва-Колаковская В. С. Хризантемы. Автореф. дис. на соиск. учен. степени докт. биол. наук, Краснодар, 1972.
7. Bijok K. Studia cyto-embriologiczne nad gatunkiem *Chrysanthemum segetum* L. — Zeszyty naukowe wyzszej Sekoly Rolniczej w Olszynie, 1968, Tom 15, Nz 263, 305—323.
8. Dowrick G. J. The Chromosomes of *Chrysanthemum*. II Garden varieties. *Heredity*, vol. 7, part 1—3, 1953, pp. 52—72.
9. Dowrick G. J. a A. El-Bayoumi. The origin of new forms the Garden *Chrysanthemum*, *Euphytica*, 15, 1966, pp. 32—38.
10. Kitamura S. Ansichten von Systematikern über den Ursprung der Garten-*Chrysantheme*. — *Acta Phytotaxonomicet Geobotanica*, vol. 3, 1—4, 1934, S. 201—213.
11. Shimotomai N. Zur Karyogenetik der Gattung *Chrysanthemum* I. *Science Hiroshima University, S.B.S. (Botany)*, vol. 1, Article 1, 1933.
12. Shimotomai N. Cytogenetische Untersuchungen über *Chrysanthemum*. *Bibliographica Genetica*, 1938, S. 161—173.
13. Tahara M. Cytologische Studien an einigen Kompositen. *Gour. Coll. Sc. Imp. Univ. Tokio*, 1921, Bd. 43.
14. Tateishi S. Embryologische Studien an der Gattung *Chrysanthemum*. *Japan. Jour. Bot.*, 1929, Vol. 4, S. 317—326.

#### CYTOEMBRYOLOGICAL STUDIES OF GARDEN CHRYSANTHEMUMS

V. M. NOVIKOVA

#### SUMMARY

A description of micro- and megasporogenesis, development and characteristics of male and female gametophytes in the garden chrysanthemum is given taking varieties Astoria, Sunnavon and Evelin Busch under South Crimean conditions as an example.

## ПРОБЛЕМА СИНТЕЗА ЛАВАНДИНА

В. Д. РАБОТЯГОВ

Лавандины—межвидовые гибриды первого поколения ( $F_1$ ), возникающие путем естественной гибридизации на границе соприкосновения ареала лаванды узколистной (*Lavandula angustifolia* Mill.) с лавандой широколистной (*L. latifolia* Medic) или в результате искусственного скрещивания разнообразных форм названных видов. Они отличаются от исходных видов проявлением гетерозиса, чем и обуславливается особый интерес к ним.

Основными районами возделывания лавандина являются Франция, Испания, Италия, Югославия, Марокко, Румыния. В последнее время его начали выращивать и в СССР [2, 3, 4, 8, 9, 10].

Селекция лавандина заключается только в получении гибридов  $F_1$ , которые имеют низкую всхожесть семян, а сами растения всегда стерильны [2, 3, 4]. До настоящего времени плодовые лавандины неизвестны [5]. Неоднократные попытки получить семена от искусственного самоопыления, а также с открыто цветущих лавандинов, к положительным результатам не привели. Безрезультатно было и скрещивание гибридов  $F_1$  с исходными видами [3, 4, 10].

В связи с этим селекцию лавандина мы рассматриваем главным образом с точки зрения: а) преодоления стерильности у гибридов  $F_1$ ; б) изучения возможности использования полиплоидии в сочетании с межвидовой гибридизацией для синтетического создания новых гибридных генотипов; в) получения гетерозисных полиплоидных лавандинов, по качеству масла приближающихся к л. узколистной.

Масло у лавандина характеризуется наличием наследуемых от л. широколистной соединений, не представляющих ценности, что обедняет его букет в сравнении с маслом л. узколистной. Необходима серьезная селекционная работа по улучшению качества эфирного масла лавандина путем снижения до минимума содержания цинеола, борнеола и камфоры.

Цитогенетическое изучение межвидовых гибридов первого поколения (лавандинов) показало, что они однообразны по числу хромосом ( $2n=48$ ); содержат 24 хромосомы л. узколистной и 24 хромосомы л. широколистной.

Изучение мейоза у лавандинов показало, что он характеризуется общей для них особенностью: различным колебанием числа бивалентов и унивалентов, варьирующих в определенных пределах. Конъюгация хромосом относится к типу пойкилосинтеза [1]. Этому колебанию числа бивалентов мы придаем огромное значение.

Колебания числа бивалентов происходят по следующим причинам: а) хромосомы л. узколистной и л. широколистной родственны частично, поэтому не всегда осуществляют конъюгацию друг с другом; б) аутоцитоз хромосом л. узколистной не всегда осуществляется также из-за того, что они конъюгируют в неродственной им цитоплазме л. широколистной.

Как показали наши исследования, гибель гамет и зигот у лавандинов — результат того, что конъюгируют и не совсем гомологичные хромосомы (отдельные их участки), которые не могут без ущерба замещать друг друга. Кроме того, клетки у гибридов имеют разное число хромосом — от 23 до 27 (а в ряде случаев встречаются клетки и с 48 хромосомами). Однако можно полагать, что многие сочетания хромосом совершенно нежизненны. В таких случаях нарушается общий баланс всей хромосомной системы; у гибридов дегенерируют яйцеклетки на ранних стадиях их развития; пыльцевые мешки, в которых формируется нежизнеспособная пыльца (на 80% стерильная), не получают полного развития и, как результат, — отсутствие потомства.

Для преодоления стерильности у лавандина использовали колхицин [10]. Амфидиплоидные лавандины создавались путем: а) гибридизации видов с последующим удвоением числа хромосом у стерильного гибрида; б) удвоения числа хромосом у исходных видов с дальнейшим скрещиванием индуцированных тетраплоидов.

При удвоении числа хромосом мейоз у лавандина протекает уже правильно. Конъюгация хромосом генома  $L_a$  л. узколистной будет происходить с соответствующими хромосомами другого генома  $L_b$ ; так же конъюгируют между собой хромосомы геномов  $L_c$  л. широколистной. Вследствие этого амфидиплоидные лавандины образуют функциональные гаметы  $L_aL_b$  и гибрид становится плодовитым. У синтезированных



ванных лавандинов с удвоенным числом хромосом завязываются крупные семена (масса 1000 семян 3,0—3,6 г, в то время как у  $F_1$  — всего 0,9—1,1 г).

При получении фертильных лавандинов путем скрещивания индуцированных тетраплоидов *Lavandula angustifolia*  $n=48 \times L. latifolia$   $n=48$  хромосомы *angustifolia* начинают конъюгировать с *angustifolia*, а *latifolia* с *latifolia* и гибриды становятся плодовитыми.

Получение фертильных лавандинов открыло возможности для создания путем экспериментальной полиплоидии и отдаленной гибридизации (решение второго этапа проблемы) качественно новых форм, ценных как новый исходный материал для решения проблемы синтеза лавандина (табл. 1).

Таблица 1  
Скрещивание диплоидных видов с индуцированными тетраплоидами (1972—1978 гг.)

Комбинация скрещивания	Число опыленных цветков, шт.	Завязываемость семян, %	Всхожесть, %	Выращено растений, шт.
<i>L. angustifolia</i> ( $n=24$ ) $\times$ <i>L. latifolia</i> ( $n=24$ )	643	14,2	44,0	40
<i>L. latifolia</i> ( $n=24$ ) $\times$ <i>L. angustifolia</i> ( $n=24$ )	798	10,8	41,8	36
<i>L. angustifolia</i> ( $n=48$ ) $\times$ <i>L. latifolia</i> ( $n=24$ )	592	20,6	54,8	67
<i>L. latifolia</i> ( $n=48$ ) $\times$ <i>L. angustifolia</i> ( $n=24$ )	600	20,0	46,6	56
<i>L. angustifolia</i> ( $n=24$ ) $\times$ <i>L. latifolia</i> ( $n=48$ )	376	16,0	68,4	41
<i>L. latifolia</i> ( $n=24$ ) $\times$ <i>L. angustifolia</i> ( $n=48$ )	398	13,3	68,0	36
<i>L. angustifolia</i> ( $n=24$ ) $\times$ Lavandin ( $n=24$ )	490	0,4	0	0
Lavandin ( $n=24$ ) $\times$ <i>L. angustifolia</i> ( $n=24$ )	500	0,4	50,0	1
<i>L. latifolia</i> ( $n=24$ ) $\times$ Lavandin ( $n=24$ )	480	0,6	0	0
Lavandin ( $n=24$ ) $\times$ <i>L. latifolia</i> ( $n=24$ )	460	0,6	33,3	1
<i>L. angustifolia</i> ( $n=48$ ) $\times$ <i>L. latifolia</i> ( $n=48$ )	403	21,8	45,5	40
<i>L. latifolia</i> ( $n=48$ ) $\times$ <i>L. angustifolia</i> ( $n=48$ )	400	18,0	48,5	35
Lavandin ( $n=48$ ) $\times$ <i>L. angustifolia</i> ( $n=24$ )	574	23,6	89,4	118
<i>L. angustifolia</i> ( $n=24$ ) $\times$ Lavandin ( $n=48$ )	482	17,6	82,4	70

Комбинация скрещивания	Число опыленных цветков, шт.	Завязываемость семян, %	Всхожесть, %	Выращено растений, шт.
Lavandin ( $n=48$ ) $\times$ <i>L. latifolia</i> ( $n=24$ )	588	16,0	69,1	65
<i>L. latifolia</i> ( $n=24$ ) $\times$ Lavandin ( $n=48$ )	401	10,7	66,0	29
Lavandin ( $n=48$ ) $\times$ <i>L. angustifolia</i> ( $n=48$ )	809	18,7	82,7	124
<i>L. angustifolia</i> ( $n=48$ ) $\times$ Lavandin ( $n=48$ )	538	14,4	34,6	27
Lavandin ( $n=48$ ) $\times$ <i>L. latifolia</i> ( $n=48$ )	588	15,3	27,8	25
<i>L. latifolia</i> ( $n=48$ ) $\times$ Lavandin ( $n=48$ )	592	14,8	26,1	23
Lavandin ( $n=48$ ) $\times$ Lavandin ( $n=48$ )	796	23,6	95,0	179

Результаты исследований свидетельствуют, что межвидовые скрещивания более успешны в тех случаях, когда цветки материнских растений опылялись отцовской пылью, имеющей одинаковое с материнской или меньшее число хромосом. В комбинациях скрещивания, где в качестве отцовского растения брались формы с большим числом хромосом, чем у материнских, завязываемость семян была значительно ниже. На основе полученных данных можно сделать вывод, что гибриды скрещиваются легче, чем «чистые» виды лаванды.

Выявлено, что содержание эфирного масла у лавандинов имеет тенденцию приближения к виду с наибольшим показателем. По характеру наследования этого признака они распределяются следующим образом (табл. 2).

Таблица 2  
Характер наследования лавандинами признака содержания эфирного масла

Комбинация скрещивания	Тип наследования признака содержания эфирного масла							
	гетерозис		равноценны лучшему родителю		промежуточн.		равноценны худшему родителю	
	кол-во, шт.	проц.	кол-во, шт.	проц.	кол-во, шт.	проц.	кол-во, шт.	проц.
<i>L. узколистн.</i> $\times$ <i>L. широколистн.</i>	7	10,9	10	15,4	44	67,6	4	6,1
<i>L. широколистн.</i> $\times$ <i>L. узколистн.</i>	2	5,5	4	11,1	24	66,7	6	16,7

Характер изменчивости эфирного масла в процессе онтогенеза лавандинов позволяет выявить некоторые закономерности. Анализ масел на второй год цветения показал по всем формам гибридов содержание сложных эфиров (в пересчете на линалилацетат) в объеме  $15,3 \pm 0,8\%$  — весьма близком к л. широколистной ( $11,2 \pm 0,1\%$ ), а для сорта Рекорд —  $49,5 \pm 0,1\%$ . На третий год цветения, после окончательного формирования гибридных растений, содержание сложных эфиров повысилось почти в два раза, составив  $28,2 \pm 0,4\%$ , в то время как у л. широколистной процент сложных эфиров остался на прежнем уровне ( $10,8 \pm 0,1$ ), у л. узколистной —  $50,1 \pm 0,1\%$ . Характерно, что нарастание сложных эфиров от первого года до третьего идет равномерно по всем формам гибридов.

В таблице 3 приведены данные по содержанию химических компонентов эфирного масла у лавандинов ( $F_1$ ) и родительских форм, участвующих в скрещиваниях.

Таблица 3

Характеристика гибридов  $F_1$  и исходных форм по компонентному составу эфирного масла

Гибридные формы	Содержание эфирного масла, % на		Содержание, %		
	сырой материал	сухое вещество	сложные эфиры	камфора	цинеол
Лаванда узколистная (сорт Рекорд)	$2,1 \pm 0,1$	$4,7 \pm 0,1$	$49,5 \pm 0,1$	$2,0 \pm 0,1$	$2,8 \pm 0,2$
Рекорд $\times$ клон № 1	$2,7 \pm 0,1$	$5,3 \pm 0,2$	$21,4 \pm 0,8$	$7,7 \pm 0,6$	$32,8 \pm 1,4$
Клон № 1 $\times$ Рекорд	$2,9 \pm 0,1$	$5,9 \pm 0,1$	$20,5 \pm 1,0$	$8,6 \pm 0,6$	$32,0 \pm 1,5$
Лаванда широколистная (клон № 1)	$3,3 \pm 0,1$	$7,7 \pm 0,1$	$10,8 \pm 0,1$	$17,0 \pm 0,1$	$38,8 \pm 0,1$

Изучение закономерностей наследования химических веществ в лавандине показало, что у отдельных гибридов происходит значительное повышение содержания эфирного масла и отдельных его химических компонентов (линалоол) по сравнению с их наличием в растениях одного из родителей и, наоборот, — снижение других составных компонентов эфирного масла (камфора).

Амплитуда варьирования содержания эфирного масла и его отдельных химических компонентов по некоторым фор-

мам лавандинов выглядит так; для эфирного масла — от 1,3 до 3,7%; для сложных эфиров — от 10,1 до 31,8%; для камфоры — от 2,5 до 14% и для цинеола — 8,9—48,2%.

Познание генетики лавандина делает очевидным тот факт, что, синтезируя его высокопродуктивные формы, для скрещивания необходимо правильно подбирать исходных родителей. Не каждый генотип л. узколистной и не каждая форма л. широколистной при скрещивании дадут гибриды с нужным качественным составом. При гибридизации л. узколистной должна (по возможности) иметь более высокое содержание эфирного масла с большим содержанием линалилацетата, а л. широколистная — характеризоваться низким содержанием камфоры, цинеола и максимально высоким — эфирного масла.

Совершенно очевидно, что этим путем (получение гибридов  $F_1$ ) мы не сможем избавиться от присутствия в масле лавандинов камфоры и цинеола [9]. Однако этот путь селекции позволяет довести их содержание до минимальных количеств.

Дальнейшее улучшение эфирного масла лавандинов может быть достигнуто путем: а) преодоления их стерильности и применения повторных скрещиваний с л. узколистной; б) скрещивания тетраплоидов л. узколистной и л. широколистной; в) получения неполных амфидиплоидов лавандина.

Для решения проблемы синтеза высокопродуктивных форм лавандина нами в качестве компонентов скрещивания впервые включены экспериментально созданные тетраплоиды л. узколистной и л. широколистной, амфидиплоиды и аллотетраплоиды. Результаты скрещивания оправдали надежды: при изменении генотипа гибрида изменяется и качество эфирного масла.

Отбор, проведенный в искусственно созданных аллополиплоидных популяциях лавандина, приводит к выделению новых рекомбинантов с высоким качеством эфирного масла. Мы допускаем, что в гибридном потомстве с различным числом геномов и в разном их сочетании возможна более полная реализация наследственных возможностей родителей, что, по нашему мнению, должно выражаться в появлении новых генотипических вариаций по химическому составу, не характерных родителей.

В заключение на примере синтезированных лавандинов остается показать степень изменчивости содержания как положительных, так и отрицательных для качества масла

Таблица 4

## Изменчивость химических компонентов эфирного масла у межвидовых гибридов

Гибриды	Компонентный состав эфирного масла, %							
	линалилацетат		линалоол		камфора		цинеол	
	$\bar{X}$	V	$\bar{X}$	V	$\bar{X}$	V	$\bar{X}$	V
1. <i>L. angustifolia</i> (n=24) × <i>L. latifolia</i> (n=24)	20,5	23,0	16,7	9,8	7,7	26,3	32,0	25,0
2. <i>L. angustifolia</i> (n=24) × <i>L. latifolia</i> (n=48)	32,6	29,8	29,3	21,5	16,3	39,1	16,0	27,6
3. <i>L. latifolia</i> (n=24) × <i>L. angustifolia</i> (n=48)	37,9	27,3	27,3	13,0	4,7	37,5	18,0	26,5
4. <i>L. angustifolia</i> (n=48) × <i>L. latifolia</i> (n=24)	28,1	24,3	16,7	19,2	6,7	37,4	8,5	22,5
5. <i>L. latifolia</i> (n=24) × <i>L. angustifolia</i> (n=48)	15,3	21,2	47,5	18,1	18,9	15,2	24,0	20,0
6. <i>L. angustifolia</i> (n=48) × <i>L. latifolia</i> (n=24)	20,3	26,8	53,4	23,4	5,4	26,2	4,4	27,5
7. <i>L. latifolia</i> (n=48) × <i>L. angustifolia</i> (n=24)	25,5	12,2	25,4	19,2	6,1	25,7	16,0	18,5
8. <i>L. angustifolia</i> (n=48) × <i>L. latifolia</i> (n=24)	34,6	17,2	23,7	27,3	2,8	8,9	6,5	9,5
9. <i>L. latifolia</i> (n=48) × <i>L. angustifolia</i> (n=24)	17,2	14,5	42,7	20,4	13,9	27,3	10,0	12,3
10. <i>L. angustifolia</i> (n=48) × <i>L. latifolia</i> (n=24)	16,0	10,2	59,2	24,1	6,1	10,0	5,5	8,4

\*  $\bar{X}$  — средняя арифметическая, V — коэффициент варьирования.

химических компонентов, имеющих различную дозу геномов л. узколистной и л. широколистной (табл. 4).

Анализ лавандинов, имеющих в гибридном генотипе по одному геному л. узколистной и л. широколистной, показал, что по содержанию камфоры, цинеола и линалилацетата наблюдается широкий размах изменчивости, однако выбрать гибриды с оптимальным сочетанием положительных и отрицательных компонентов практически трудно. В среднем гибриды характеризуются типичным промежуточным типом наследственности. Межвидовая гибридизация диплоидов позволяет получать гетерозисные гибриды по урожаю, но они стерильны и с невысоким качеством масла. Только тщательный отбор родительских пар может снизить в потомстве содержание камфоры и цинеола.

Гибридизация амфидиплоидов с л. узколистной и л. широколистной (исходными видами) за счет обмена генетическим материалом еще более расширяет рекомбинационные возможности лавандина. У лавандинов, объединивших в одном генотипе два генома л. узколистной и один — л. широколистной и, наоборот, — два генома л. широколистной и один л. узколистной, расширился спектр наследственной изменчивости по компонентному составу эфирного масла. Наиболее значительная степень изменчивости этого показателя отмечена у лавандинов от скрещивания *L. angustifolia* (n=48) × *L. latifolia* (n=24). Использование этого метода в селекции лавандина позволяет создавать высокопродуктивные сесквидиплоиды типа л. узколистной с хорошим качеством эфирного масла. Гибриды с новой генетической структурой имеют повышенное содержание эфирного масла (4,5—5,1%), линалилацетата (42,5%) и лучшее соотношение химических компонентов (табл. 4).

Наиболее значительная степень изменчивости содержания химических компонентов эфирного масла с оптимальным их сочетанием отмечена у гибридов от скрещивания [*Lavandin* (n=48) × *L. angustifolia*] — 52,4%.

Исследования показали, что эти растения имеют основную массу признаков л. узколистной и в то же время целый ряд полезных признаков л. широколистной, так как у них одновременно есть хромосомы л. узколистной (72) и л. широколистной (24). Часть амфидиплоидных лавандинов (7—12%) удачно сочетает в себе качество эфирного масла л. узколистной с засухоустойчивостью и продуктивностью л. широколистной.

Анализ состава эфирного масла гибридов  $F_1$  и полиплоидов в изучаемых нами комбинациях скрещивания показал, что наблюдаемые различия в характере наследования цинеола и камфоры обусловлены различной генетической структурой родительских форм по геномам. Из этого следует, что при скрещивании растений л. узколистной (генотип АА), содержащих линалоол, гераниол и нерол, с растениями л. широколистной (генотип ВВ), содержащих цинеол, борнеол и камфору, у гибридов первого поколения с генетической структурой АВ маслообразовательный процесс идет в направлении образования линалоола, гераниола, цинеола, борнеола и камфоры с преобладанием двух последних.

При скрещивании *L. angustifolia* (генотип АААА) с *L. latifolia* (генотип ВВ) в гибридном потомстве (генотип ААВ) происходит образование соединений материнской формы (линалоол, нерол и гераниол) и незначительное количество цинеола, борнеола и камфоры, свойственных отцовской форме.

Самый большой процент семян (37%) с высоким содержанием линалоола и низким — цинеола и камфоры установлен в комбинации *Lavandin* ( $n=48$ )  $\times$  *L. angustifolia* ( $n=48$ ). В изучаемом нами гибридном потомстве (генотип АААВ) накопление большого количества линалилацетата (52%) и низкого — камфоры (1,5%) обусловлено наличием у аллополиплоидных форм лавандина трех доз генома л. узколистной. Это обстоятельство является решающим моментом, определяющим возможность создания лавандина с высоким качеством эфирного масла.

Таким образом, цитогенетическое изучение изменчивости и наследования хозяйственно-ценных признаков у синтезированных лавандинов от скрещивания диплоидов с экспериментальными тетраплоидами л. узколистной и л. широколистной позволило определить гибридные комбинации — 1. *L. angustifolia* ( $4n$ )  $\times$  *L. latifolia* ( $2n$ ); 2. *Lavandin* ( $4n$ )  $\times$  *L. angustifolia* ( $4n$ ), дающие наибольший выход гибридов, сочетающих в себе высокую продуктивность и хорошее качество эфирного масла, которые в селекции могут служить качественно новым исходным материалом.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Карпеченко Г. Д. Теория отдаленной гибридизации. М.—Л.: Сельхозгиз ОГИЗ, 1935.
2. Машанов В. И. Результаты межвидовой гибридизации лаван-

ди. Всесоюзное совещание по отдаленной гибридизации растений и животных. М., 1968.

3. Нестеренко П. А. Лаванда и лавандины. — Труды Никитск. ботан. сада, 1939, т. 18, вып. 2.
4. Нестеренко П. А. Селекция лавандинов. — Труды Никитск. ботан. сада, 1947, т. 24, вып. 2.
5. Работягов В. Д. Преодоление стерильности у лавандинов. — Цитология и генетика, 1975, т. 9, № 5.
6. Сапегин Л. А. Гены редуccionного деления. — Труды по прикл. бот., ген. и сел. 1933, сер. 2, № 5.
7. Abrial C. et Gellefosse R. M. Lavandins. La parfumerie moderne, 1937, an. 31, n. 4, p. 133—139.
8. Devetak Z. Selekcija Lavande i Lavandina. Radovi Poljoprivrednoge Fakulteti Univerziteta u Sarajevi, 1971/1972, v. 20/21, N 22/23, p. 165—180.
9. Martin C., Zola A. Etude sur les nouvelles varietes de Lavandin. Rivista Italiana, 1973, a. 55, N 5, p. 291—298.
10. Paris R., Dillemann G. Le probleme du lavandin et les lois de L'Hybridation, La France et ses Parfums, 1950, N 13, p. 14—21.

#### PROBLEMS OF LAVANDIN SYNTHESIS

V. D. RABOTYAGOV

#### SUMMARY

Main trends in genetic-breeding investigations of lavandin have been considered from the points of view: (a) overcoming sterility in  $F_1$  interspecific hybrids; (b) study of possibility of using the experimental polyploidy combined with the interspecific hybridization for synthetic producing new hybrid genotypes; (c) obtaining the heterosis polyploid lavandins approximating by their oil quality to *Lavandula angustifolia*.

## ИНДУЦИРОВАННЫЙ АПОМИКСИС У ЛУКОВИЧНЫХ НА ПРИМЕРЕ ТЮЛЬПАНА

Г. С. РОМАНОВА, А. С. КОЛЬЦОВА,  
кандидаты биологических наук;  
И. М. МОСОЛКОВА

Практическое значение апомиксиса привлекает все большее внимание исследователей [см. материалы всесоюзных (1966—1971 гг.) совещаний и международных конгрессов (1975—1979 гг.) по апомиксису]. Успешное проведение работ по экспериментальному получению апомиктических форм требует знания механизмов возникновения и исследования признаков и типов апомиксиса, свойственных исходному материалу. Сведения в литературе о наличии у тюльпана элементов апомиксиса немногочисленны [1, 5—7].

В отделе цитогенетики и эмбриологии Никитского ботанического сада в 1976—1979 гг. была проведена проверка на способность к апомиксису дикорастущих видов тюльпана *Tulipa tarda* Starp., *T. Fosteri* Hoog., *T. Kaufmana* Regel., *T. bifloriformis* Vved., *T. Greigii* Regel. и более 130 сортов культурного вида *T. gesneriana* L. Для индукции апомиктического развития семяпочек использовали чужеродную пыльцу (нарцисса) и физиологически активные вещества (ФАВ): кинетин, пролин, глутамин, натриевую соль аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ), амид  $\alpha$ -НУК. Контролем служили откастрированные, неопыленные завязи, а также завязи, развивающиеся от межсортового скрещивания, в котором использовали пыльцу фертильного сорта. Цитоэмбриологические исследования апомиктического развития семяпочек проводили на сортах *Holland's Gloria* и *White triumphator*. Опыленные и обработанные ФАВ пестики темпорально фиксировали с последующей обработкой по общепринятой в цитологической практике методике и приготавливали постоянные препараты. Препараты обрабатывали реактивом Шиффа для реакции Фельгена и окрашивали гематоксилином по Эрлиху. С распускающихся цветков опытных растений была взята пыльца, из которой методом мазков были пригото-

влены препараты с последующей их окраской метил-грюн-пиронином и обработкой реактивом Шиффа для реакции Фельгена. Способность к апомиксису выявляли по наличию семян в плодах, близких к созреванию. Цитоэмбриологический и цитоморфологический анализ развития мужских и женских генеративных органов проводили с помощью светового микроскопа. Результаты исследований представлены в виде таблиц, рисунков, фотографий.

### Результаты исследований

На основе экспериментальных данных установлено, что дикорастущие виды тюльпана способны к развитию семян только при опылении. 27 сортов культурного вида тюльпана под воздействием на органы плодоношения индуцирующих факторов и при развитии завязей в условиях изоляции проявили способность к автономному и индуцированному апомиксису. Эта группа сортов включала в себя представителей различных классов тюльпанов с разным уровнем плоидности геномов (табл. 1, 2). Наблюдения показали, что апомиксис проявляется по годам нерегулярно и в первую очередь у хорошо развитых, жизнеспособных растений, находящихся в благоприятных экологических условиях.

Таблица 1  
Проявление апомиксиса у 27 сортов *F. gesneriana* L.

Сорт	Группа	Плоидность, n	Год			
			1976	1977	1978	1979
Художник	Дарв. гибр.	3	—	A	+	+
Голден Спайк	"	3	A	A	+	+
Нотр Дам	T. Дарвина	3	A	+	+	—
Розн О'Дей	"	3	A	+	+	+
Авраам Линкольн	"	2	A	+	+	+
Аристократ	"	2	—	—	+	A
Гетти Гус	Триумф	2	—	A	+	+
Пик Глоу	"	2	A	—	+	A
Проминенс	"	2	A	—	+	+
Кристмас Марвел	"	2	A	+	+	A

Сорт	Группа	Плод-ность, п	Г о д			
			1976	1977	1978	1979
Рози Корнефорос	"	2	А	—	+	А
Кассини	"	2	А	+	А	+
Томми	"	3	+	+	А	+
Прелюдиум	"	2	—	+	+	А
Орнамент	"	2	—	А	А	—
Балалайка	Коттеджи.	2	А	—	+	+
Эдванс	"	2	А	—	+	+
Кинг'с Блад	"	2	—	А	А	А
Апплаус	"	2	А	+	А	—
Одетта	"	2	А	—	+	+
Маригот	Лилецвети.	2	А	+	+	—
Уайт Триумфатор	"	2	А	+	+	А
Жаклин	"	2	А	А	—	А
Дон Фуго	Т. Менделя	2	А	+	+	+
Пинк Трофи	"	3	А	+	+	—
Голден Сан	Т. Кауфмана	3	—	А	+	—
Стреза	"	2	—	А	+	+

Условные обозначения: А — апомиксис; + сорт участвовал в опыте; — сорт не участвовал в опыте.

Таблица 2

Сравнительные данные проявления апомиксиса у тюльпана

Год проведения опыта	Количество сортов, проявивших апомиксис		Кол-во растений с апомиктически развитыми семенами	Кол-во апомиктически развитых семян
	впервые	повторно		
1976	17	0	119	4790
1977	6	2	38	490
1978	1	4	14	289
1979	3	6	38	317
Всего за 1976—1979 гг.	27	12	209	5886

Наиболее эффективное стимулирующее действие на апомиктическое развитие семян оказал кинеггин. Под его воздействием у некоторых растений развились более крупные, чем в контроле, коробочки, содержащие до 3% семян от количества имеющихся в завязи семян (рис. 1). При межсортном скрещивании количество развившихся в коробочке семян от числа семян составляет 25—30%.

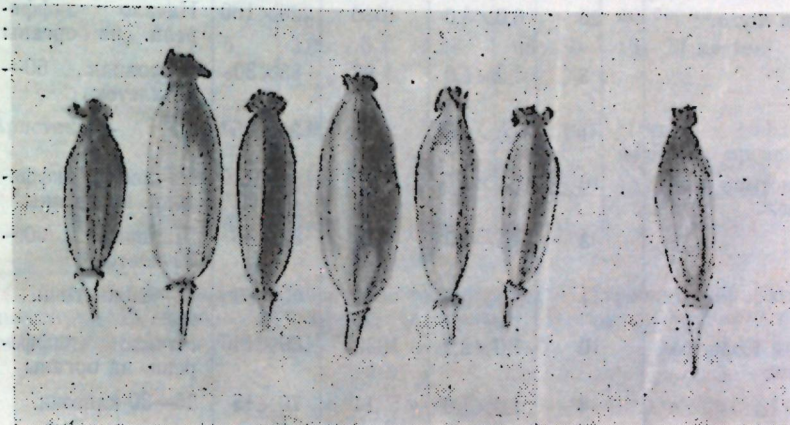


Рис. 1. Плоды культурного вида тюльпана, развившиеся под воздействием кинетина и от свободного опыления.

Цитоморфологический и цитозембриологический анализ мужских и женских генеративных органов к моменту распускания цветка показал следующее.

Пыльца дикорастущих видов тюльпана морфологически выравнена и полностью фертильна. Сорта *T. gesneriana* L., проявившие способность к апомиксису, имеют большое количество аномальной пыльцы. Характер аномалий пыльцевых зерен аналогичен характеру аномалий, ранее описанных для триплоидных сортов и для диплоидов с несбалансированным геномом [4]. К наиболее типичным аномалиям следует отнести большое количество мелкой, недоразвившейся пыльцы, наличие полиспорических комплексов, цитомиксис, ценоцитные структуры, отмирание генеративных клеток, нарушения в строении экзины и другие отклонения. Многие аномалии приводят к стерильности пыльцы, что было подтверждено отсутствием завязывания семян при внутрисортных скрещиваниях. При опылении фертильного сорта пыльцой завязываемость семян достигает 20 и более процентов.

Таблица 3

Анализ плодородия растений тюльпана,  
обработанных ФАВ (1979 г.) \*

Сорт	Кол-во развиш. плодов, шт.	Средний размер короб., см	Кол-во развиш. семян, шт.	Средний размер семени (ув. 8×2)	Стадия развития зародышей
Дон Фуго	20	6,0×3,0	1080	220×160	Начало дифференц. на органы
	3	4,2×1,0	28	85×30	Шаровидн., 60—70 клеток
	1	4,0×0,8	4	30×15	—
Кристмас Марвел	10	7,0×2,5	2000	150×120	Начало дифференц. на органы
	3	3,5—1,0	38	80×35	Шаровидн., 60—70 клеток
	1	3,2×0,8	2	60×30	15—20-клеточн.
Рози Корнефорос	10	7,0×2,5	1080	160×140	Начало дифференц. на органы
	4	4,0×1,0	14	70×15	25—30-клеточн.
	1	3,5×1,0	1	40×20	—
Уайт Триумфатор	10	7,5×2,6	3000	210×180	Начало дифференц. на органы
	5	4,5×1,5	8	65×20	15—20-клеточн.
	1	4,5×1,0	—	—	—
Кинг'с Блад	4	5,5×3,0	640	180×140	От шаровидн. до дифференцир.
	4	3,5×1,5	59	75×20	25—30-клеточн.
	3	2,5×1,5	—	—	—
Жаклин	10	7,0×2,5	2410	220×200	Шаровидн., 60—70 клеток
	5	4,5×1,5	42	180×100	Многоклет., недифференцир.
	3	4,0×1,5	—	—	—
Пинк Глоу	10	5,0×3,0	2400	230×160	Начало дифференц. на органы
	3	4,2×2,6	43	85×50	55—70 клеток
	2	2,8×2,0	13	65×20	15—20 клеток

Сорт	Кол-во развиш. плодов, шт.	Средний размер короб., см	Кол-во развиш. семян, шт.	Средний размер семени (ув. 8×2)	Стадия развития зародышей
Прелюдium	10	6,0×3,0	3000	220×170	Дифференц. на органы с эндоспермом и без эндосперма
	5	3,0×2,0	28	65×50	15—20 клеток
	3	3,5×1,3	—	—	—
Аристократ	10	6,0×2,5	2100	205×140	Начало дифференц. на органы
	3	4,0×1,5	12	75×25	15—20 клеток
	1	3,5×1,2	—	—	—

\* Варианты опыта: межсортовое скрещивание (1 строчка), обработка кинетином (2 строчка) и изоляция (3 строчка). В каждом варианте обрабатывалось по 10 бутонов.

По литературным данным [1—3, 6, 8, 9] и данным наших исследований, зародышевый мешок *T. gesneriana* развивается по Tritillaria типу. В функционально зрелом зародышевом мешке находятся яйцевой аппарат, состоящий из трех слабо отдифференцированных клеток, верхнее гаплоидное и нижнее триплоидное полярные ядра, а также антиподы в виде пикнотических тел. Эти особенности определяют характер развития клеток зародышевого мешка при оплодотворении и в эмбриогенезе. При межсортовом скрещивании происходит оплодотворение средней клетки яйцевого аппарата и верхнего полярного ядра.

В результате этих процессов образуются зигота и диплоидное первичное ядро эндосперма, которое спустя несколько часов начинает делиться. Расположение первых ядер эндосперма в полости зародышевого мешка определяет последующий ритм и характер развития эндоспермальной ткани. Ядра эндосперма претерпевают резкие изменения главным образом в халазальной зоне зародышевого мешка: происходит образование многоплоидных ядерных комплексов, слияние хроматина ядер, их объединение и другие явления.

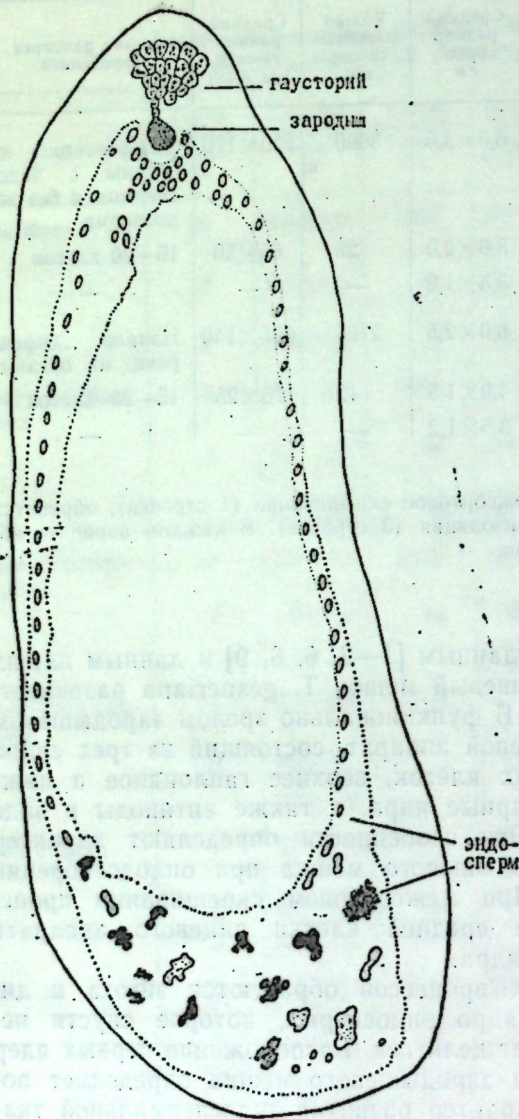


Рис. 2. Сорт Уайт Триумфатор. Межсортовое скрещивание. Зародышевый мешок на 30 сутки после опыления.

Эндосперм тюльпана нуклеарного типа. Образование клеток начинается ко времени, когда в зародышевом мешке присутствует около 3000 ядер эндосперма. В клетках эндосперма накапливается крахмал. В семени зрелого плода эндосперм представлен мощной тканью, плотно окружающей зародыш. Зигота делится на пять-шесть суток после опыления.

В результате активного деления базальной клетки двуклеточного проэмбрио образуется многоклеточный гаусторий, затем начинается развитие собственно зародыша (рис. 2). Вместе с зародышем из апикальной клетки двуклеточного проэмбрио развивается подвесочная группа клеток. Синергиды отмирают после оплодотворения. На теле зародышевой иногда образуются двух- и трехклеточные выросты, которые можно принять за почкующиеся дополнитель-

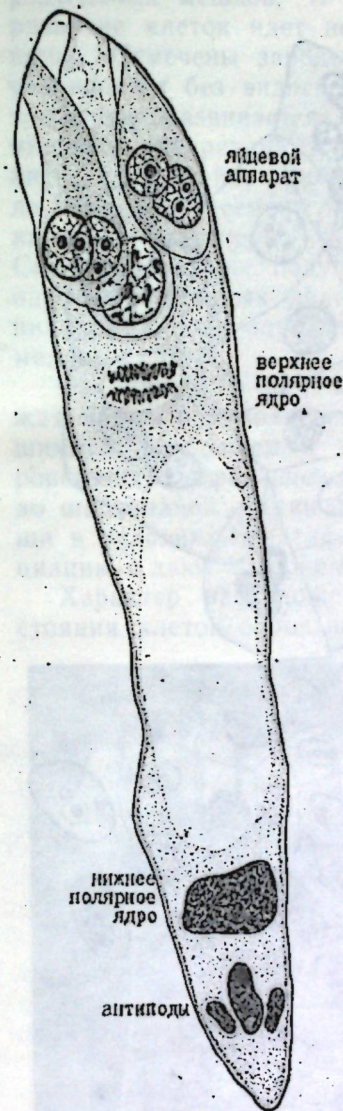


Рис. 3. Сорт Уайт Триумфатор. Зародышевый мешок на 21 сутки после обработки пестика кинетином.

ные зародыши. Однако цитозембриологически это не доказано.

В процессе развития семени зародыши слабо дифференцируются и к моменту созревания плода остаются недоразвившимися. Полное развитие семени происходит в условиях влажной стратификации при температуре 3—5°, когда зародыш дифференцируется, достигая нормальных размеров.

В завязях тюльпана, обработанных ФАВ и опыленных чужеродной пыльцой, в процессе развития семяпочек дважды происходит массовая гибель зародышевых мешков. Вначале клетки зародышевого мешка в обработанных пестиках несколько увеличиваются в размерах, меняется морфоструктура их плазмы и ядра, лизирует нуцеллярная ткань, окружающая зародышевый мешок (рис. 3).

Спустя 10—12 суток во многих зародышевых мешках происходит отмирание яйцевого аппарата и верхнего полярного ядра. В оставшихся живых семяпочках развитие клеток зародышевого мешка идет с заметным затуханием. После двух-трех делений верхнего полярного ядра и одной или двух клеток яйцевого аппарата оно полностью прекращается. На 22—25 сутки после обработки или чужеродного опыления пестиков происходит второе массовое отмирание за-



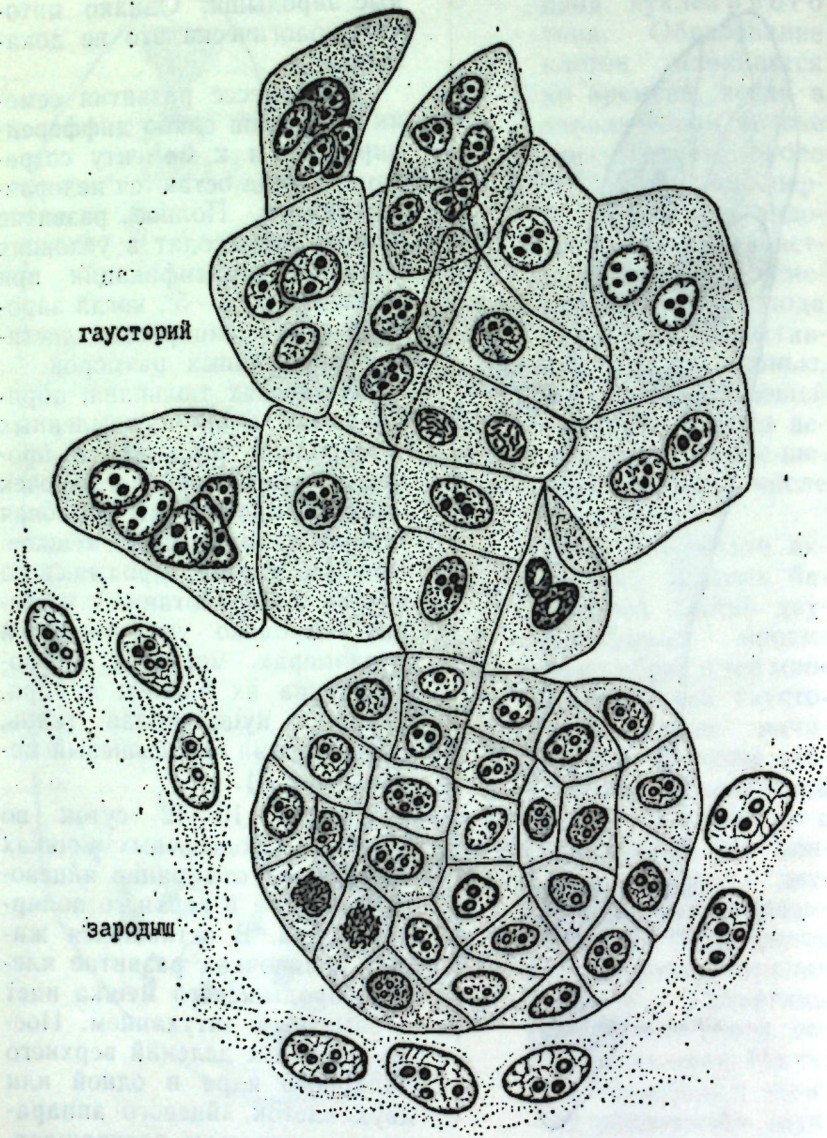


Рис. 4. Сорт Уайт Триумфатор. Зародыш на 60 сутки с момента обработки пестика кинетином.

родышевых мешков. В оставшихся зародышевых мешках развитие клеток идет неравномерно и для тюльпана нетипично. Отмечены зародышевые мешки, в которых зародыш развивается без эндоспермальной ткани, и наоборот, когда эндосперм развивается в зародышевом мешке с отмершим яйцевым аппаратом. В подобных зародышевых мешках развитие идет крайне замедленно, и к моменту созревания плода зародыш в семени представлен всего несколькими клетками, а эндосперм — ценоцитным ядерным образованием. Синергиды также получают стимул к развитию, но после одно-двух ядерных делений отмирают. Нуцеллус в микропиллярной зоне зародышевого мешка представлен эпидермальным слоем.

Как видно из данных таблицы 3, зрелые плоды содержат небольшое количество семян с апомиктически развившимся зародышем и эндоспермом. Степень дифференцированности зародышей различная — от нескольких клеток до шаровидной стадии (рис. 4). Наиболее развитые зародыши в условиях стратификации семян завершают дифференциацию и дают полноценные проростки.

Характер расположения и морфофизиологического состояния клеток зародышевого мешка, развивающихся под



Рис. 5. Сорт Уайт Триумфатор. Цветки сеянцев, развившихся из апомиктических семян.

воздействием ФАВ и чужеродного опыления, позволяют сделать заключение о том, что некоторые сорта *T. gesneriana* обладают способностью к индуцированному партеногенезу.

Растения, развившиеся из апомиктических семян, характеризуются широким спектром морфологических изменений и разнообразием цветовой гаммы (рис. 5). Появились новые признаки, несвойственные исходной форме и даже группе тюльпана, в которой получены апомиктические семена. К таким признакам относятся бахромчатость лепестков венчика, гамма желтых тонов лепестков, фиолетовая окраска тычинок, измененный цвет донца венчика и другие. Широкое разнообразие признаков у апомиктических семян представляет интерес для селекционной работы с тюльпаном, а возможность их размножения позволит закрепить в геномах интересные признаки.

## ВЫВОДЫ

На основе экспериментов по выявлению способности к апомиктическому размножению тюльпанов и проведению цитоморфологического и цитоэмбриологического анализа гистогенезов генеративных органов в завязях, обработанных ФАВ и опыленных чужеродной пылью, установлено следующее:

1. Дикорастущие виды тюльпана дают семенное потомство только в результате скрещивания.

2. Часть сортов культурного вида *T. gesneriana*, характеризующихся разными уровнями плоидности геномов, проявили способность к автономному и индуцированному апомиксису в форме партеногенеза и апогамии (развитие зародыша из синергид).

3. У сортов тюльпана, проявивших способность к апомиксису, отмечены нарушения в развитии мужских и женских генеративных органов, приводящих к их стерильности.

4. Апомиктические семена характеризуются широким морфологическим разнообразием признаков и появлением новых признаков, несвойственных исходным формам, что представляет интерес для селекции.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Петрова Т. Ф. Цитоэмбриология лилейных. М.: Наука, 1977.
2. Печеницын В. П. Развитие зародышевого мешка *Tritillaria* типа у некоторых средиземноморских типов *Tulipa*. — Ботан. журн. 1977, т. 57, № 2.

3. Романов И. Д. Зародышевый мешок в роде *Tulipa*. — Докл. АН СССР. 1957, т. 115, № 5.

4. Романова Г. С., Кольцова А. С., Мосолкова И. М. Типы аномалий пыльцы тюльпана. — В кн.: Интродукция, биология и селекция цветочных растений. Сб. научн. трудов/Никит. ботан. сад, 1981.

5. Хохлов С. С. Апомиксис: классификация и распространение у покрытосеменных растений. — В кн.: Успехи современной генетики, вып. 1. М.: Наука, 1967.

6. Bambacioni-Mezzetti V. Sullo sviluppo dell'embrione in *Tulipa gesneriana* L. Ann. Bot., 1932, 19(1).

7. Beth K. Untersuchungen über die Auslösung von Adventivembryonie durch Wundreiz. Planta, 1938, 28: 296—343.

8. Schnarf K. Embryologie der Angiospermen. Berlin, 1929.

9. Simini D. Osservazioni sulla fertilità e ricerche citologiche embriologiche in *Tulipa gesneriana* L. Lavori eseguite, Ist. Bot. gen. Università di Zurigo, 1937, Ser. 11, 22.

## INDUCED APOMIXIS IN BULB PLANTS TAKING TULIP AS AN EXAMPLE

G. S. ROMANOVA, A. S. KOLTSOVA, I. M. MOSOLKOVA

## SUMMARY

On the basis of the experiments to reveal the capacity to apomictic propagation in tulips and as a result of cytomorphological and cytoembryological analysis of histogenesis of generative organs in ovules treated with physiologically active substances, and pollinated with allied pollen, the following has been stated.

Wild tulip species produce seed progeny only as result of crossing. 27 varieties of the cultivated species *Tulipa gesneriana* have shown the ability to autonomous and induced apomixis which is expressed in form of parthenogenesis and apogamy; in apomictic plants new characters unusual to initial forms were shown.

## МУТАГЕНЕЗ РОЗЫ САДОВОЙ

К. И. ЗЫКОВ,  
кандидат технических наук;  
З. К. КЛИМЕНКО,  
кандидат биологических наук

Основным методом выведения новых форм роз является гибридизация, однако мутации также играли значительную роль в образовании современных сортов. В Государственном Никитском ботаническом саду в селекции садовых роз с 1971 г. применяется  $\gamma$ -радиация.

Большой интерес для селекционера представляет влияние облучения на наследственность растений. Работа с любой культурой всегда начинается с изучения ее радиочувствительности, то есть с определения летальных, ингибирующих, мутабельных и стимулирующих доз. Наши исследования показали, что к облучению наиболее чувствительны черенки и почки, в меньшей степени — семена и наиболее устойчива пыльца. Так, по данным результатов выживаемости окулянтов и сеянцев из облученных семян или от скрещиваний с использованием облученной пыльцы летальные дозы ( $LD_{100}$ ) для черенков составляют 70—200 Гр, для семян — 200—300 Гр и для пыльцы — 200—800 Гр (табл. 1). Радиочувствительность роз уменьшается, как правило, с увеличением у того или иного сорта количества хромосом. Исключение составляет пыльца. По сравнению с диплоидными и тетраплоидными ( $LD_{100}=500—800$  Гр) она наиболее радиочувствительна у триплоидных сортов ( $LD_{100}=200—500$  Гр).

В таблице 1 показаны и рабочие дозы для получения измененных форм, а также интервалы доз, в которых может иметь место стимулирующий эффект. Для получения измененных форм применяются дозы облучения от стимулирующих до критических, при которых гибнет до 70% растений. Целесообразно, не ограничиваясь одной, использовать несколько доз облучения. Необходимо, однако, заметить, что выделение области стимулирующих доз несколько условно в том смысле, что и малые дозы не исключают возникнове-

ния мутаций. А умеренные дозы (по крайней мере до 50 Гр) довольно часто оказывают стимулирующее действие, не передающееся по наследству. К этому следует добавить, что стимулирующий эффект зависит от генотипа исходной формы и многих модифицирующих факторов, трудно поддающихся контролю. В связи с этим интервалы стимулирующих и рабочих доз (табл. 1), полученные в результате изучения многих сортов, довольно широкие и частично перекрываются.

Таблица 1

Радиочувствительность садовых роз

Объект облучения	Доза облучения, Гр *		
	стимулирующая	рабочая — для получения измененных форм	летальная ( $LD_{100}$ )
Черенки	5—30	30—100	70—200
Семена	10—50	10—250	200—300
Пыльца триплоидных сортов	5—50	10—300	200—500
Пыльца диплоидных и тетраплоидных сортов	10—100	20—600	500—800

\* 1 Гр=0,1 крад

В Никитском ботаническом саду ведется большая работа по интродукции садовых роз и их селекции. К сожалению, многие интродуцированные сорта и виды роз в условиях Южного берега Крыма имеют низкие показатели по фертильности пыльцы, семенной продуктивности, всхожести семян и жизнеспособности сеянцев. Все это существенно затрудняет селекционные исследования. В связи с этим мы изучали возможность использования  $\gamma$ -радиации как стимулирующего фактора. Гамма-лучами цезия-137 облучали пыльцу и семена 60 интродуцированных сортов роз, относящихся к семи основным садовым группам. Облученную пыльцу использовали в межсортовых, межгрупповых и отдаленных скрещиваниях. Оказалось, что для большинства сортов можно подобрать дозы  $\gamma$ -облучения в пределах указанного в таблице 1 интервала так, что жизнеспособность пыльцы, завязывание семян, их всхожесть и жизнеспособность гибридных сеянцев повысится по сравнению с контролем в 1,2—2 раза.

Хотя стимулирующее действие  $\gamma$ -лучей зависит от модифицирующих факторов,  $\gamma$ -облучение пыльцы и семян может иметь большое значение для трудно осуществимых скрещиваний, которые в нормальных условиях удаются редко, а также для сортов, имеющих очень низкие всхожесть семян и жизнеспособность сеянцев. Например, при использовании облученной пыльцы в скрещиваниях тетраплоидных сортов с триплоидными выход жизнеспособных сеянцев увеличился по сравнению с контролем в два раза. При облучении семян некоторых сортов, в нормальных условиях, дающих много бесхлорофильных проростков, количество жизнеспособных сеянцев иногда возрастало в пять раз.

Нами получены семена и сеянцы в ряде скрещиваний сортовых роз с видовыми (*R. canina* Lin., *R. corymbifera* Borkh., *R. indica sensu* Lour. non Lin.), что не удавалось сделать без облучения. Так, в 1979 г. были проведены межвидовые скрещивания в семи комбинациях с использованием  $\gamma$ -облученной пыльцы (опылено 553 цветка). Получено в общей сложности 125 семян, из которых при высеве получилось 22 всхода. В настоящее время сохранилось несколько жизнеспособных сеянцев. Хотя семян вышло относительно много, их всхожесть, а также жизнеспособность полученных сеянцев были невысокими.

Облучение пыльцы и семян позволяет увеличить разнообразие признаков у потомства.

Методом межсортовой, межгрупповой и отдаленной гибридизации с использованием  $\gamma$ -радиации нами получено много перспективных форм роз. Например, форма Метелица получена при  $\gamma$ -облучении пыльцы дозой в 100 Гр в скрещивании сортов Белянка  $\times$  Золотой Луч, причем оба родителя являются сложными межвидовыми гибридами *R. wichuriana* Creppin, *R. foetida persiana* (Lemaire) Rehder, *R. spinosissima hispida* (Sims) Koehne.

Метелица отличается крупными высокодекоративными цветками, комплексной устойчивостью к грибным заболеваниям (мучнистой росе и ржавчине), обильным продолжительным и многократным цветением, красивыми темно-зелеными листьями, сильнорослыми и хорошо развитыми растениями.

Форма 7001 получена при  $\gamma$ -облучении (доза 150 Гр) семян от свободного опыления гибрида Кордес Зондермелдунг (Фл.)  $\times$  Дортмунд (Корд.). Эта форма относится к по-

луллетистым розам. Главное ее достоинство — длительное и многократное цветение. Таких сортов среди полуллетистых и плетистых роз очень мало. В настоящее время мы готовим к передаче в государственное сортоиспытание около 10 мутантных форм роз.

Как известно, облучение черенков и почек наиболее эффективно тогда, когда у сорта или селекционной формы, имеющей комплекс положительных качеств, необходимо изменить один нежелательный признак. Спонтанные почковые мутации сыграли значительную роль в образовании современного сортимента роз. В настоящее время известно более 1600 сортов, полученных в результате отбора спортов, что составляет приблизительно 8% количества всех существующих ныне сортов. Это говорит о перспективности мутагенеза для получения новых форм роз. В результате спонтанных или индуцированных ионизирующей радиацией соматических мутаций изменяется чаще всего окраска цветков, поэтому изучение закономерностей изменчивости цвета в мутагенезе имеет большое практическое и теоретическое значение.

Возникает вопрос: отчего изменяется окраска цветков? Предположительно можно назвать ряд причин. Прежде всего — это возникновение доминантных соматических мутаций. Однако частота появления измененных форм у роз во много раз выше, чем возможная частота возникновения полезных доминантных соматических мутаций при условии сохранения жизнеспособности и нормального развития растений. У некоторых сортов роз 50—70% опытных растений изменяет окраску цветков.

Во многих опубликованных работах изменение окраски у цветочно-декоративных культур объясняется химерностью исходных форм. Это вполне вероятно и, видимо, в ряде случаев имеет место, но не объясняет всего многообразия накопленных к настоящему времени экспериментальных данных. Есть два существенных обстоятельства, которые трудно объяснить химерностью исходных форм: первое — широкий спектр изменения цвета, наблюдаемый в некоторых случаях, и довольно четкая зависимость изменчивости цвета от окраски исходных форм. Чтобы найти объяснение для первого обстоятельства, необходимо предположить существование относительно устойчивых многокомпонентных периклиналиных химер, что маловероятно. Второе обстоятельство свидетельствует о том, что основной причиной изменчивости

цвета у садовых роз является, по-видимому, гетерозиготность.

Зависимость изменчивости цвета лепестков от окраски исходных сортов можно легко обнаружить, проанализировав литературные данные по образованию почковых мутаций в естественных условиях. Оказывается, подавляющее число сортов, подвергающихся наибольшей изменчивости при естественном мутировании, частично или полностью окрашено в розовые или красные тона [4]. Известно, что красная и розовая окраски у роз являются по отношению к другим доминантными. Следовательно, в естественных условиях наиболее мутабильны сорта с доминантной окраской цветков.

Мы изучали изменчивость цвета у привитых  $\gamma$ -облученными глазами растений 41 сорта роз в зависимости от их происхождения и исходной окраски. В результате установили, что, как и при спонтанном мутировании, наименьшей изменчивостью цвета обладают сорта с рецессивными окрасками (белой, желтой и бархатисто-темно-красной), а наиболее изменчивы гетерозиготные сорта с розовой и красной окрасками (табл. 2). У сорта Скандаль цветки в процессе цветения изменяют окраску от розовой до бархатисто-темно-красной. Гамма-облучения, видимо, нарушили этот естественный процесс, и цветки остались розовыми. Среди двуцветных сортов наиболее изменчивы те, в окраске цветков которых преобладают красные или розовые тона, а сорта с преобладанием желтых и белых тонов подвержены изменениям менее всего.

При индуцированном и спонтанном мутировании окраска цветков изменяется от доминантной к рецессивной, если исходные формы имеют в своем генотипе эти рецессивные признаки. Например, у розового сорта Клементина при спонтанном мутировании возникла новая форма Утро Победы с рецессивной двуцветной окраской цветков, а при  $\gamma$ -облучении — измененная форма с рецессивной желтой окраской. Оба эти рецессивные признаки присутствуют у родительского сорта Глория Дей. У розового сорта Карина при спонтанном мутировании и  $\gamma$ -облучении возникли белые и темно-красные измененные формы. Эти рецессивные признаки могли быть привнесены в генотип Карины материнским сортом Сообщение и предком второго поколения Руж Мейян (рис. 1).

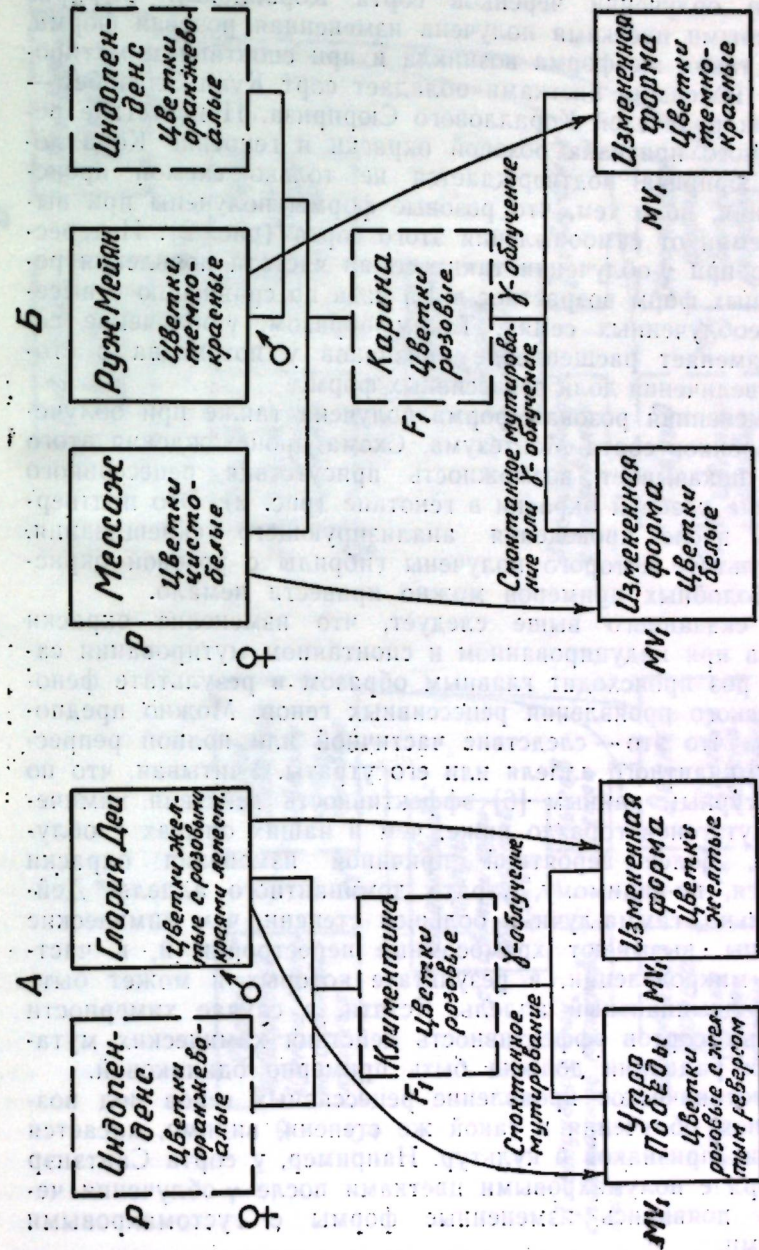


Рис. 1. Проявление рецессивной окраски цветков при спонтанном и индуцированном  $\gamma$ -радиацией мутировании сортов роз Клементина (А) и Карина (Б).  
Условные обозначения: Р — родители (♀ — мать, ♂ — отец); F<sub>1</sub> — гибрид первого поколения (исследуемая форма); МВ<sub>1</sub> — первое вегетативное мутантное поколение.

При облучении черенков сорта Коралловый Сюрприз с красными цветками получена измененная розовая форма. Точно такая же форма возникла и при спонтанном мутировании. Розовыми цветками обладает сорт Куин Элизабет — один из родителей Кораллового Сюрприза. Присутствие рецессивного признака розовой окраски в генотипе Кораллового Сюрприза подтверждается не только схемой происхождения, но и тем, что розовые формы получены при высеве семян от самоопыления этого сорта (рис. 2). Интересно, что при  $\gamma$ -облучении таких семян частота появления рецессивных форм возрастает в 1,5 раза по сравнению с высевом необлученных семян. Таким образом,  $\gamma$ -облучение семян изменяет расщепление признаков у потомства в сторону увеличения доли рецессивных форм.

Измененная розовая форма получена также при облучении черенков сорта Монтезума. Схема происхождения этого сорта показывает возможность присутствия рецессивного признака розовой окраски в генотипе (рис. 2). Это подтвердилось после проведения анализирующего скрещивания, в результате которого получены гибриды с розовой окраской. Подобных примеров можно привести немало.

Из сказанного выше следует, что изменение окраски цветков при индуцированном и спонтанном мутировании садовых роз происходит главным образом в результате фенотипического проявления рецессивных генов. Можно предположить, что это — следствие частичной или полной репрессии доминантного аллеля или его утраты. Учитывая, что по литературным данным [6] эффективность действия химических мутагенов гораздо ниже, чем в наших опытах с облучением, более вероятной причиной изменения окраски является, по-видимому, утрата доминантного аллеля. Действительно, гамма-лучи в большей степени, чем химические мутагены, вызывают хромосомные перестройки и, в частности, микроделеции, в результате которых и может быть утерян доминантный аллель. Кстати, в случае химерности исходных сортов эффективность действия химических мутагенов и радиации должна быть примерно одинаковой.

Фенотипическое проявление рецессивных генов под воздействием облучения в такой же степени, видимо, касается и других признаков и культур. Например, у сорта Сантэнэр дэ Люрд с полумахровыми цветками после  $\gamma$ -облучения черенков появились измененные формы с густомахровыми цветками.

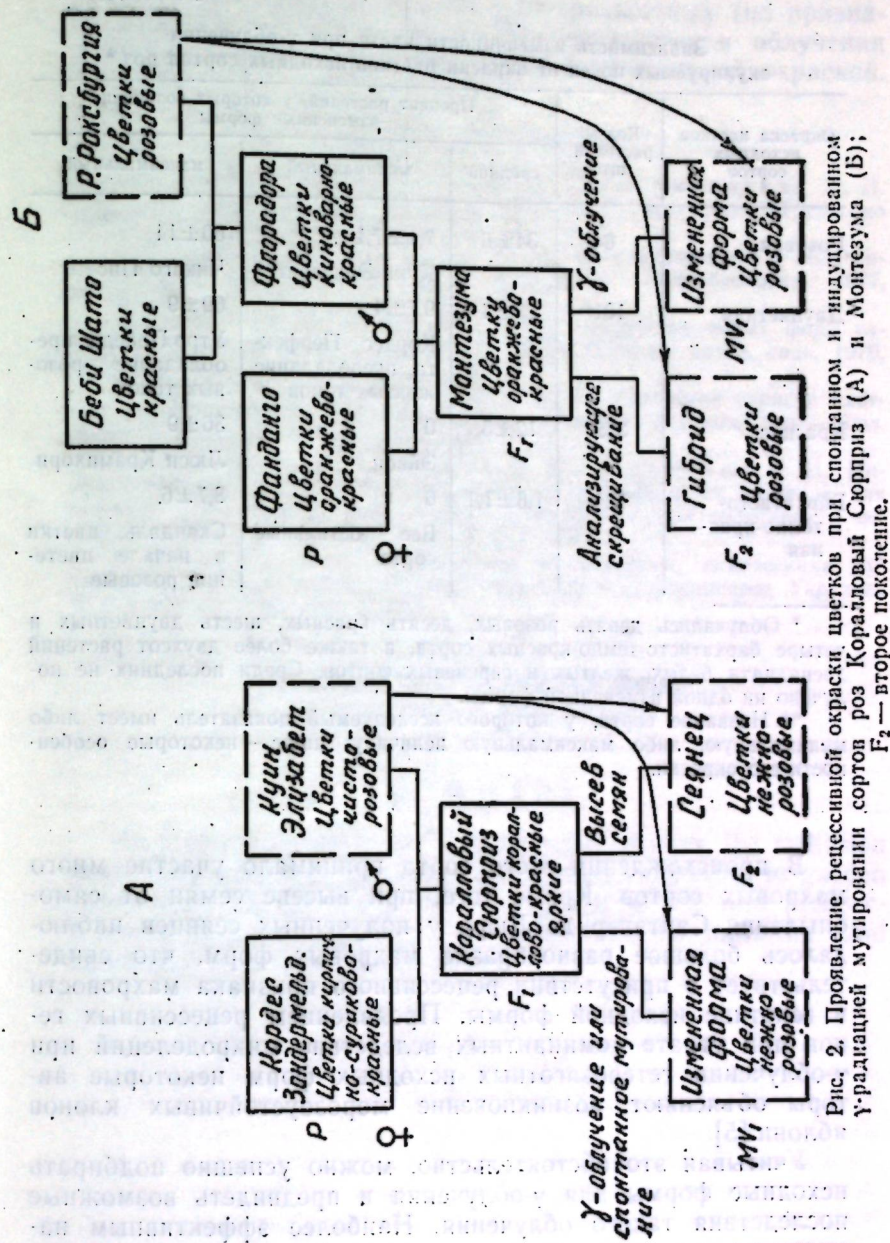


Рис. 2. Проявление рецессивной окраски цветков при спонтанном и индуцированном  $\gamma$ -радиацией мутировании сортов роз Коралловый Сюрприз (А) и Монтезума (Б); F<sub>2</sub> — второе поколение.

Таблица 2

Зависимость изменчивости цвета при  $\gamma$ -облучении окулируемых почек от окраски цветков исходных сортов роз\*

Окраска цветков исходных сортов	Кол-во растений, шт.	Процент растений, у которых возникли измененные формы		
		средний	минимальный	максимальный
Розовая	64	34±6	7,1±7,1 Куин Элизабет**	50±14 Чикаго-Пис
Двуцветная	101	28±4	9,7±4 Кордес Перфекта, преобладание желтых тонов	69±9 Утро Победы, преобладание розовых тонов
Красная	352	12±5	0 Эйвон	36±9 Люси Крампхори
Бархатисто-темно-красная	124	1,6±1,1	0 Все остальные сорта	8,7±6 Скандал, цветки в начале цветения розовые

\* Облучались девять розовых, десять красных, шесть двуцветных и четыре бархатисто-темно-красных сорта, а также более двухсот растений двенадцати белых, желтых и сиреневых сортов. Среди последних не получено ни одной измененной формы.

\*\* Название сорта, у которого исследуемый показатель имеет либо минимальную, либо максимальную величину; ниже — некоторые особенности его окраски.

В происхождении этого сорта принимало участие много махровых сортов. Кроме того, при высевах семян от самоопыления Сантэнэр дэ Люрд у полученных сеянцев наблюдалось большое разнообразие махровых форм, что свидетельствует о присутствии рецессивного признака махровости в генотипе исходной формы. Проявлением рецессивных генов при утрате доминантных вследствие микроделеций при  $\gamma$ -облучении гетерозиготных исходных форм некоторые авторы объясняют возникновение морозоустойчивых клонов яблони [5].

Учитывая это обстоятельство, можно успешно подбирать исходные формы для  $\gamma$ -облучения и предвидеть возможные последствия такого облучения. Наиболее эффективным направлением в радиационном мутагенезе роз садовых является

ся изменение окраски цветков у гетерозиготных (по признаку окраски) исходных форм. Под воздействием облучения наиболее вероятно получение форм с рецессивной окраской.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Клименко З. К., Чемарин Н. Г., Голумбивская Л. Л. Использование  $\gamma$ -облучения семян в селекции садовых роз. — Труды по прикл. ботан., генет. и селекц., 1975, т. 54, вып. 2.
2. Клименко З. К., Зыков К. И. К использованию  $\gamma$ -облученной пыльцы садовых роз при гибридизации. — Радиобиология, 1977, т. 17, вып. 1.
3. Зыков К. И., Клименко З. К. Получение новых форм садовых роз под действием  $\gamma$ -радиации. — Бюл. Никитск. ботан. сада, 1979, вып. 3(40).
4. Зыков К. И., Клименко З. К. Об изменении окраски цветков у индуцированных и естественных мутантов садовых роз. — Бюл. Никитск. ботан. сада, 1981, вып. 3(46).
5. Петров Д. Ф., Сухарева Н. Б., Герашенко В. И. Индуцированный мутагенез, соматический кроссинговер и их значение для селекции плодовых растений. — В кн.: Индуцированный мутагенез в селекции садовых растений. М.: Изд-во МГУ, 1977.
6. Антонюк Н. М. Реакция роз на обработку химическими мутагенами. — В кн.: Четвертый съезд генетиков и селекционеров Украины. Ч. 2. Киев: Наукова думка, 1981.

## MUTAGENESIS OF GARDEN ROSES

K. I. ZYKOV, Z. K. KLIMENKO

## SUMMARY

As a result of ten years' experimental studies, the radiation sensitivity and objective laws of radiation variability in garden roses have been investigated. The genotype role and prospectiveness of rose breeding in conjunction of mutation and combination variability are shown.

## ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЧИВОСТИ ОКРАСКИ ЦВЕТКОВ КЛЕМАТИСА

М. А. БЕСКАРАВАЙНАЯ,  
кандидат сельскохозяйственных наук;

Г. Д. ЛЕВКО;

З. П. ЯРОСЛАВЦЕВА,  
кандидат биологических наук

Проблема озеленения городов с каждым годом становится все более актуальной. Для вертикального озеленения большого внимания заслуживают клематисы — новая, перспективная, но пока еще мало изученная культура.

Большинство ее видов представляют собой многолетние древесные лианы, красочно и обильно цветущие с ранней весны до наступления заморозков.

Род *Clematis* L. относится к семейству лютиковых (*Ranunculaceae* Juss.). Цветки клематиса имеют простой околоцветник, состоящий из четырех—восьми окрашенных чашелистиков. Окраска их варьирует от чисто-белой и желтой до синей и фиолетовой, проходя в многочисленных оттенках красную область спектра. Истинных лепестков у них нет.

В Никитском ботаническом саду собрана крупнейшая в стране коллекция клематисов, на базе которой ведется серьезная селекционная и интродукционная работа [7].

Несмотря на большое разнообразие окрасок, раскрытых цветков крупноцветковых клематисов с желтой окраской чашелистиков, а также раскрытых цветков мелкоцветковых клематисов с синей и фиолетовой — нет, хотя у многих видов с колокольчатыми цветками такие окраски есть.

В связи с этим проводится селекционная работа по гибридизации среди белых и желтоокрашенных видов. В частности, было установлено, что *C. orientalis* L., используемый в качестве родительской формы, гибридного потомства не дает.

Изучение хромосомного состава показало, что у большинства видов  $2n=16$ . Тем не менее существуют виды с полиплоидным рядом, например, *C. paniculata* Thunb., где  $2n=16, 48, 64$ , а также другие виды [10]. Цитологический

анализ ряда произрастающих в Никитском саду представителей *Orientalis Prantl* [*C. orientalis* L., *C. tangutica* (Maxim.) Korsh., *C. serratifolia* Rehd. и *C. glauca* Willd.], имеющих соматическое число хромосом, равное 16, и желтую окраску чашелистиков, показал, что у *C. orientalis*  $2n=32$  [4].

При скрещивании *C. heracleifolia* var. *dauriana* ( $2n=16$ ) с синими трубчатыми цветками и *C. vitalba* L. ( $2n=16$ ) с белыми раскрытыми цветками был получен межвидовой гибрид, обозначенный, как № 111, а позднее получивший название Брызги Моря. Этот гибрид имеет цветки промежуточной формы, в виде полураскрытого колокольчика, а его чашелистики обладают светло-голубой окраской. В ходе цитогенетических исследований этого гибрида и его родительских форм было установлено, что растения *C. heracleifolia* var. *dauriana* при длительном культивировании в Никитском ботаническом саду имели нерегулярный тип мейоза из-за структурных изменений хромосом [6], влияющих на проявление у гибрида доминирующей синей окраски цветков.

Для изучения изменчивости окраски чашелистиков взяли исходные виды клематиса с различной окраской цветка: белой, желтой, золотисто-желтой, желто-зеленой, розово-красной, фиолетовой, синей и пурпурной. Семена обработали гамма-лучами и химическими мутагенами: этиленмином (ЭИ), нитрозэтилмочевинной (НЭМ) и нитрозометилмочевинной (НММ) [2, 3]. С той же целью в лаборатории полиплоидии Института биологии развития имени Н. К. Кольцова был проведен биохимический анализ пигментного состава чашелистиков по общепринятой методике [1; 13], лишь с некоторыми изменениями. Извлечение антоцианов и флавонолов при гидролизе с 2N- и 3N-раствором соляной кислоты было затруднено; мы же установили, что оптимальными условиями проведения гидролиза следует считать использование концентрированной HCl с продолжительностью процесса не более 3—5 минут.

В результате селекционной работы с 23 видами и сортами клематиса с использованием методов экспериментального мутагенеза нами отобраны 32 измененные формы. Из них 15 получены в результате гамма-облучения семян и 17 — при обработке семян химическими мутагенами [5]. Отбор новых форм производился по таким признакам, как изменение окраски, размеров и формы цветков и листьев, высота растения, продолжительность цветения и т. д. Впервые на гос-



сортоиспытание передан новый сорт клематиса Загадка с синне-фиолетовыми цветками (у контроля — белые); полученный методом экспериментального мутагенеза.

Данные об изменении окраски цветка и составе пигментов приведены в таблице. Анализ этих данных показывает, что изменение окраски чашелистиков у клематисов при гамма-облучении или обработке семян химическими мутагенами зависит главным образом от окраски чашелистиков исходного вида. Виды со светлыми (ациановыми) цветками (белыми, желтыми, желто-зелеными), за некоторым исключением, не изменяют своего цвета, а с более темными, антоциансодержащими цветками (синими, фиолетовыми и т. д.) могут давать большой диапазон изменения окраски чашелистиков.

Виды, исследованные по композиции пигментов, можно разделить на две группы. К первой, ациановой группе относятся *C. hexapetala* Pall., *C. vitalba*, *C. tangutica* и *C. serratifolia* — с белыми и желтыми цветками. Ко второй — антоциансодержащей — относятся *C. integrifolia* L. и *C. viticella* L. — с синими и фиолетовыми цветками.

Биохимический анализ состава флавоноидных пигментов — антоцианидинов (ант) и флавонолов (фл) — показал, что у одних ациановых форм присутствуют только фл (кемпферол и кверцетин), а у других — только кверцетин. У видов с окрашенными чашелистиками найдены ант (цианидин, дельфинидин) и фл (кемпферол), у других видов — только цианидин и дельфинидин. Данные результатов наших исследований соответствуют ранее полученным данным по биохимическому анализу пигментов у клематиса [9, 12]. При этом следует отметить, что данные о пигментном составе цветков *C. vitalba*, *C. tangutica*, *C. integrifolia* впервые получены нами.

Наличие у некоторых видов клематиса — *C. hexapetala*; *C. vitalba* и *C. serratifolia* — двух флавонолов позволяет предположить, что у них за синтез флавонолов отвечают по крайней мере два гена [11]. Вероятно, один из них переводит кемпферол в кверцетин.

Точно так же можно предположить, что у *C. integrifolia* и *C. viticella* существуют два гена, ответственные за образование ант (цианидин). Возможно, один из них переводит цианидин в дельфинидин. В соответствии с теоретическими выводами, имеющимися в литературе [8], можно считать, что синтез ант (цианидина) и фл (кемпферола) обеспечи-

Результаты изучения состава пигментов и фенотипической изменчивости окраски чашелистиков у различных видов рода *Clematis* L. под воздействием гамма-радиации и химических мутагенов

Вид	Окраска чашелистиков исходной формы	Окраска чашелистиков измененной формы		Состав пигментов*		
		после гамма-облучения семян	после обработки семян химическими мутагенами	антоцианидины	флавонолы	флавонолы
1. <i>C. hexapetala</i>	Белая	Не исследована	Синне-фиолет. (ЭИ)**	Нет	К, Кв	К, Кв
2. <i>C. vitalba</i>	Кремово-белая	Нет изменений	Нет изменений	Нет	К, Кв	К, Кв
3. <i>C. flammula</i>	Белая	То же	То же	Не исслед.	Не исслед.	Не исслед.
4. <i>C. paniculata</i>	Желтая	"	"	То же	То же	То же
5. <i>C. tangutica</i>	Кремово-желтая	"	"	Нет	К	К
6. <i>C. serratifolia</i>	Желто-зеленая	"	"	Нет	К, Кв	К, Кв
7. <i>C. orientalis</i>	Ярко-желтая	"	"	Не исслед.	Не исслед.	Не исслед.
8. <i>C. fruticosa</i> f. <i>lobata</i>	Фиолетово-малиновая	Светло-зеленоватожелтая с малиновым оттенком	"	То же	То же	То же
9. <i>C. viticella</i>	Синне-фиолетовая	Нет изменений	Серо-белая (ЭИ); синне-розовая (ЭИ)	Ц, Д	К	К
10. <i>C. integrifolia</i>	Синяя	То же	Синне-розовая (НММ); розовая (НММ); яркая и темно-синяя (НММ)	Ц, Д	Нет	Нет
11. <i>C. heracleifolia</i>	Синяя	Синяя с фиолетовым оттенком	Не исследована	Не исслед.	Не исслед.	Не исслед.

\* Антоцианидины: Ц — цианидин, Д — дельфинидин; флавонолы: К — кемпферол, Кв — кверцетин.  
\*\* В скобках указаны аббревиатуры химмутагенов: ЭИ — этиленмин, НММ — нитрозометилмочевина.

ваются двумя генами и что есть третий ген (возможно, не один), который отвечает за гидроксильирование как ант, так и фл.

Таким образом, изучение изменчивости окраски цветка клематиса с применением цитогенетических и биохимических методов, а также методов экспериментального мутагенеза, позволяет сделать следующие выводы:

1. Культивируемый вид *C. orientalis* L. с  $2n=32$  использовать в селекционной работе с видами клематиса, имеющими  $2n=16$ , нецелесообразно.

2. Под действием гамма-радиации и этиленмина, а также других химических мутагенов происходит изменение окраски цветков в результате рекомбинации генов, ответственных за синтез того или иного пигмента. Использование полученных измененных форм при межвидовой гибридизации открывает широкие возможности для получения новых форм, включая формы с желтоокрашенными и синеокрашенными раскрытыми цветками.

3. Впервые были получены данные о пигментном составе цветков у *C. vitalba*, *C. tangutica* и *C. integrifolia*.

4. Наследование пигментов, детерминирующих у клематиса окраску чашелистиков, осуществляется по меньшей мере системой из трех генов. Этот вывод следует учитывать при планировании работ по гибридизации для проведения последующего фенотипического и биохимического анализа гибридного потомства.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аркатов В. В., Андреев В. С., Ратькин А. В. Генетический контроль формирования окраски цветков у душистого горошка *Lathyrus odogatus*. Сообщение 1. Характеристика антоциановых пигментов в цветках душистого горошка. — Генетика, 1976, т. 12, № 8.
2. Бескаравайная М. А., Чемарин Н. Г. Влияние гамма-радиации на семена клематиса. — Бюл. Главн. ботан. сада, 1976, вып. 99.
3. Бескаравайная М. А., Чемарин Н. Г., Мязина Л. Ф. Влияние химических мутагенов на клематисы. — Цветоводство, 1978, № 7.
4. Бескаравайная М. А., Дьякова М. И., Сахарова Т. П. Цитологическое изучение представителей рода *Clematis* L. — Бюл. Главн. ботан. сада, 1979, вып. 113.
5. Бескаравайная М. А., Чемарин Н. Г. Действие гамма-радиации и химических мутагенов на некоторые фенотипические признаки клематиса. — Бюл. Никитск. ботан. сада, 1980, вып. 2(42).
6. Бескаравайная М. А., Дьякова М. И. Цитогенетическое изучение гибридов клематиса. — Бюл. Главн. ботан. сада, 1981, вып. 120.

7. Бескаравайная М. А. Интродукция и селекция клематиса в Никитском ботаническом саду. — Бюл. Никитск. ботан. сада, 1981, вып. 1(44).

8. Олстон Р. Е. Генетика фенольных соединений. — В кн.: Биохимия фенольных соединений. Под ред. Харборна Д. М.: Мир, 1968.

9. Уланова К. П., Зайцева Н. М. Сравнительное исследование флавоноидов дальневосточных видов *Clematis* L. и *Atragene* L. — Растительные ресурсы, 1979, т. 15, вып. 2.

10. Хромосомные числа цветковых растений. Л.: Наука, 1969.

11. Hevrsel J., Horna A. Hypothesis on the Inheritance of Flower Colours and Flavonoids in *Rhododendron Simsii* Planch. — Z. Pflanzzücht., 1977, Bd. 10, H. 3, s. 238—249.

12. Robinson G. H. and Robinson R. A. Survey of Anthocyanins. — Biochem. Z., v. 28, N 5, 1934, p. 1712—1720.

13. Swain T. Flavonoids. — In: Goodwin T. W. Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments. — Acad. Pr. Lim., 1976, p. 167—193.

#### STUDIES OF VARIABILITY OF CLEMATIS FLOWERS COLOR

M. A. BESKARAVAYNAYA, G. D. LEVKO, Z. P. YAROSLAVTSEVA

#### SUMMARY

The study of flower color variability in 11 clematis species, using cytogenetic, biochemical methods and technique of experimental mutagenesis, allowed to suppose that inheritance of pigments determining the sepal coloration is carried out at least by the system of three genes.

For the first time, data on flower pigment composition in *Clematis vitalba*, *C. tangutica* and *C. integrifolia* were obtained.

## ИЗУЧЕНИЕ ПОТЕНЦИАЛА ИЗМЕНЧИВОСТИ ХРИЗАНТЕМЫ САДОВОЙ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ГАММА-РАДИАЦИИ

А. Н. ГЛАЗУРИНА,  
кандидат биологических наук

Для ускоренного получения измененных признаков по окраске и форме соцветий у хризантемы успешно применяются ионизирующие излучения. Хризантеме по сравнению с другими цветочными культурами свойственна повышенная изменчивость, связанная со сложным химерным строением верхушки побега. Известно, что сравнительно частые перегруппировки слоев химерных верхушек побегов у хризантемы приводят к возникновению новых химерных или гомогистонтных сортов. В связи с тем, что степень химерности сортов различна, потенциал изменчивости хризантемы мы изучали, используя гамма-излучения для расхимеривания химерных верхушек растений.

Природа изменений не определена, не установлено также, возникли ли они благодаря мутации хромосом или перестановкам внутри химеры слоев тканей с различным генетическим строением.

Применение в ходе исследований вторичного облучения первично полученных форм (радиоформ) оказалось эффективным. Это позволило нам изучить химерное строение как материнских сортов, так и полученных от них радиоформ, «расчленив» их на составные части с различными спектрами окрасок, и за сравнительно короткий срок получить семьи радиоформ. За период с 1968 по 1980 г. облучено 43 материнских сорта и 13 радиоформ.

### Методика исследований

Укорененные черенки с тронувшимися в рост боковыми пазушными почками через две недели после прищипки облучали на гамма-установке ЛМБ-γ-1М дозой 1,5 кр при мощности дозы 1560 р/мин. Источник излучения Cs-137. Внача-

ле облучали материнский сорт, затем полученные от него формы. К моменту облучения радиоформы были приведены к однородным константным признакам после размножения и отбора в нескольких вегетативных поколениях.

### Результаты исследования

Ранее нами было установлено [1, 2], что спектр и частота изменчивости у сортов хризантемы по признакам цвета и формы соцветий, возникающие в результате облучения, у разных сортов различны. Сорта с белой, желтой и палевой окраской при однократном или повторном облучении на облучение не реагировали. Большой процент изменений был у сортов с сиреневой, розовой и близкими к ним окрасками. Однако среди них часть сортов старой селекции, от которых спонтанно получены целые семьи сортов, при воздействии радиацией (как однократно, так и повторно) имели всего лишь по два или по одному изменению (Саутдаун Пинк и Районант).

К этой группе можно отнести сорт старой китайской селекции Снегом Покрытый Камень Террасы. За время культивирования в Никитском саду (с 1964 г.) у него спонтанно возник один цветовой сорт с палево-желтой окраской цветков. При однократном облучении этого сорта мы отобрали и размножили две радиоформы с палево-розово-малиновой (Стелла) и бледно-сиреневой (Мираж) окрасками и с трубчатými цветками. Материнский сорт окрашен в сиренево-розовый цвет, цветки язычковые. Облученные растения материнского сорта имели также секторы, пятна, отдельные лепестки с белой, желтой, палевой, кирпично-красной окраской, которые исчезали при размножении. По-видимому, здесь происходила утрата измененных признаков за счет разрастания клеток исходного сорта, образующих периклиналиную химеру. Выявить эти изменения оказалось возможным с помощью последовательного облучения радиоформ, полученных друг от друга (рис. 1).

Отмечены различия в реакции на облучение радиоформ, составляющих семейство Снегом Покрытый Камень Террасы. Радиоформы имели разные спектры и разное количество растений, реагирующих на облучение. Наибольшее разнообразие окрасок (семь), кроме белой, и количество расхимеренных растений (100%) свойственно радиоформе с палево-розово-малиновой окраской (Стелла). После облучения

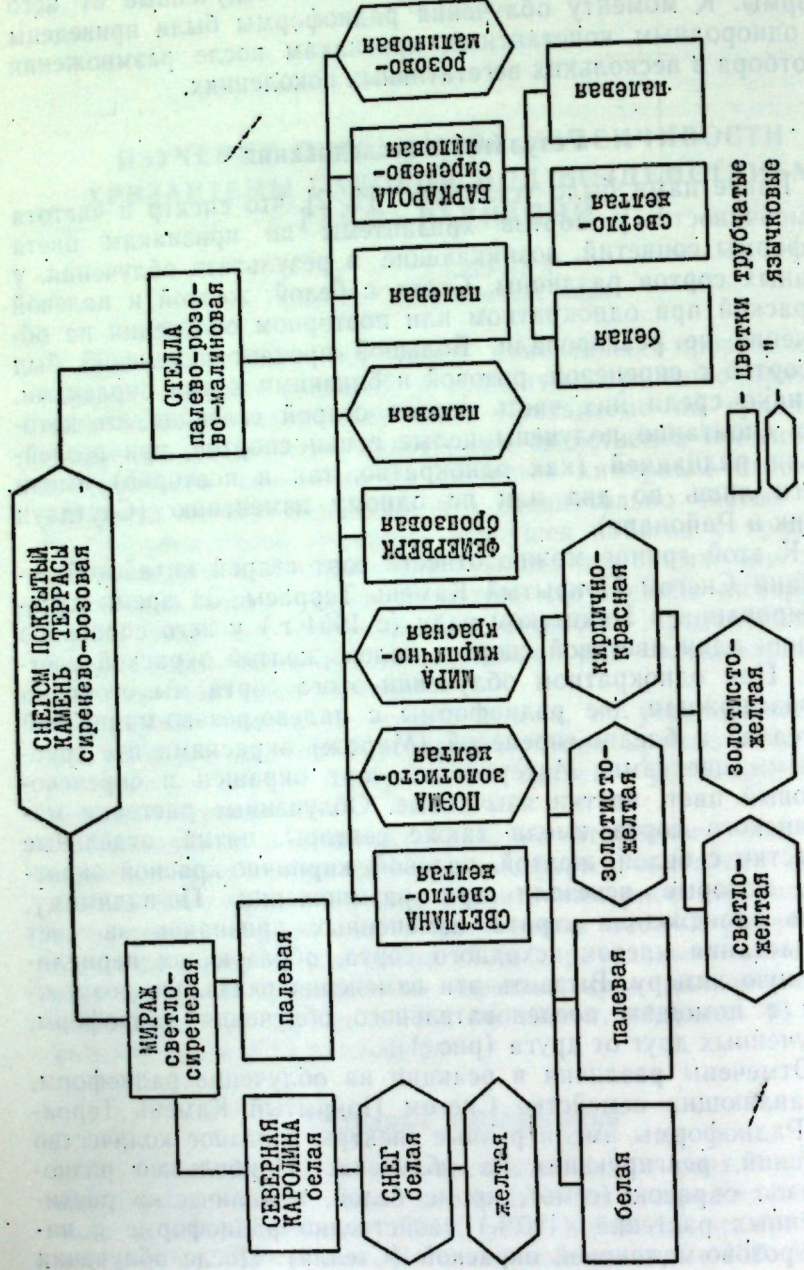


Рис. 1. Последовательность получения измененных форм хризантем, составляющих семейство Снегом Покрытый Камень Террасы.

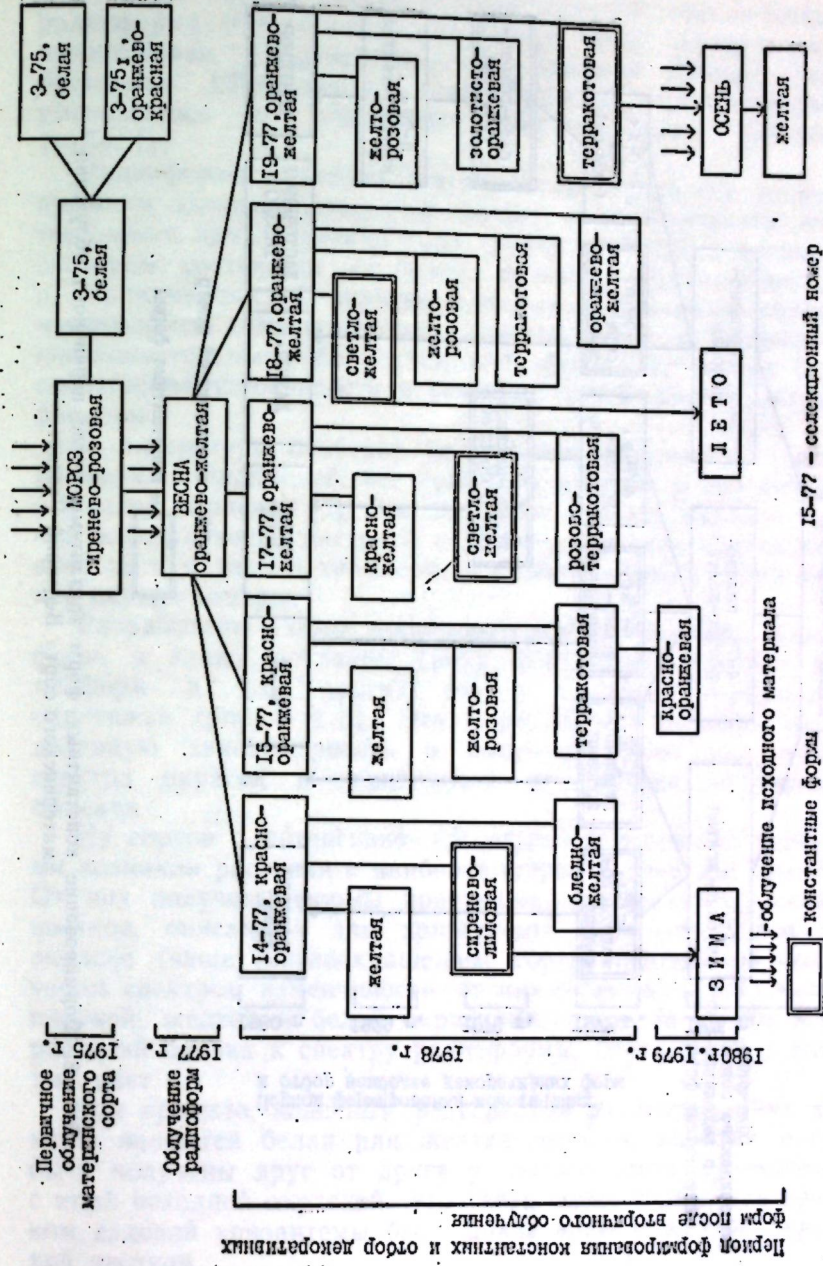


Рис. 2. Формирование постоянных форм хризантем после облучения материнского сорта Мороз и его радиоформ Весна и Осень.

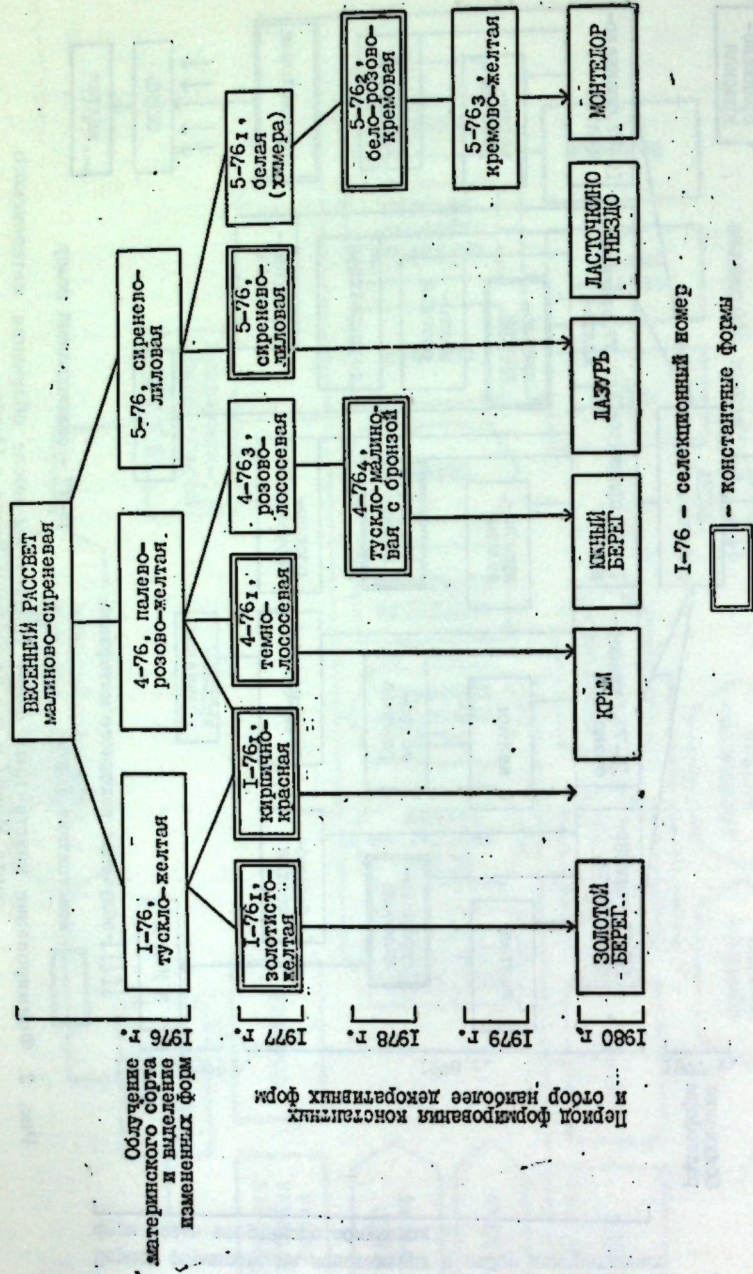


Рис. 3. Формирование константных форм хризантемы после первичного облучения материнского сорта Весенний Рассвет.

радиоформ Стеллы спектр окрасок сужался; светло-желтая радиоформа (Светлана) имела четыре новые окраски: синево-лиловая (Баркарола) — три; красная (Мира) — две; бронзовая (Фейерверк) — одну окраску. Соответственно уменьшалось и количество расхимеренных растений (табл. 1).

Радиоформа Светлана (светло-желтая окраска) вопреки прежним экспериментальным данным о константности желтого цвета при облучении дала группу растений с цветовым спектром, состоящим из белой, палевой, золотисто-желтой и кирпично-красной окрасок, которые относятся к малоизменяющимся гомогистонным формам. Это подтверждено последовательным облучением радиоформ. Им может быть свойственна устойчивость в условиях длительного культивирования.

В литературе, особенно касающейся сведений об экспериментах с радиацией, нет данных о мутации у хризантемы с желтой окраской [3]. Это позволяет сделать вывод о том, что возникновение растений с желтой окраской цветка связано не с мутацией хромосом, а с перестановкой слоев тканей внутри химеры.

Разработаны схемы последовательного получения новых форм, а также показаны сроки формирования семьи радиоформ и для других сортов с сиренево-розовыми окрасками (рис. 2 и 3). Это позволило установить определенную закономерность в получении того или иного спектра окрасок в зависимости от окраски изучаемого объекта.

Из сортов с интенсивно-сиреневыми и розовыми цветками возникли растения с наиболее широкой цветовой гаммой. От них получены формы практически со всеми окрасками цветков, описанных для хризантемы. Ближние к ним по окраске (чаще светлоокрашенные сорта) отличаются более узким спектром изменчивости, от них произошли растения с палевой, желтой и белой окрасками; цветовая гамма этих растений близка к спектру радиоформы, окрашенной в желтый цвет.

Как правило, конечным результатом расхимеривания химеры являются белая или желтая окраски, которые могут быть получены друг от друга у любого сорта хризантемы с иной исходной окраской. Это увязывается с тем, что предком садовой хризантемы были дикие виды с желтой окраской цветков.

### Расхимирование сорта Снегом Покрытый Камень Террасы при последовательном облучении его радиоформ

Изменение после облучения	форма цветков		Материнский сорт (сиреневая, язычково-кобая)	Радиоформы							Снег (безязычково-язычковая)							
	язычково-кобая	трубчатая		Стелла (палево-розово-малиновая, трубчатая)	Светлана (светло-желтая, трубчатая)	Баркарела (сиреневая, лиловая, трубчатая)	Мира (кирпично-красная, язычково-вая)	Феферверк (бронзовая, трубчатая)	Мираж (светло-сиреневая, трубчатая)									
				+	+	+	+	+	+	+								
Палево-розово-малиновая	+	+	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Розово-малиновая	+	+	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Палево	+	+	1	10	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Бронзовая	+	+	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Светло-желтая	+	+	1	6	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Золотисто-желтая	+	+	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Кирпично-красная	+	+	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Сиренево-лиловая	+	+	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Сиреневая	+	+	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Белая	+	+	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Всего	-	-	47	29	54	38	21	34	37	45	45	19	11,7	37,8	37	14	4	8,9
В опыте	-	-	7	29	45	5	4	4	14	4	4	4	4	14	14	14	4	4
Растения с изменениями	-	-	14,1	100	83,3	13,2	19	11,7	37,8	37,8	19	11,7	11,7	37,8	37,8	37,8	8,9	8,9

Количество побегов с измененной окраской и формой соцветий, шт.

Количество растений с измененной окраской, шт.

## В ы в о д ы

1. Изучена морфогенетическая структура тканей верхушки побега у хризантем с различной исходной окраской.
2. Разработаны схемы получения форм хризантем с новой окраской и реже — новой формой цветков. Показаны сроки формирования семьи радиоформ.
3. Получены малоизменяющиеся устойчивые по окраске и форме цветков хризантемы, относящиеся к гомогистонтным организмам.
4. Установлено, что сортам с интенсивной сиреневой или розовой окраской цветка свойственна широкая гамма изменчивости; близкие по окраске, но светлоокрашенные сорта отличаются узким спектром изменчивости.
5. Конечным результатом расхимиривания химерной хризантемы являются белая и желтая окраски, которые могут быть получены у любого сорта с иной исходной окраской.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Глазурина А. Н. Результаты работы по радиоселекции хризантем. — Бюл. Никитск. ботан. сада, 1975, вып. 3(28).
2. Глазурина А. Н., Семин В. С. Действие гамма-лучей на изменчивость хризантем — Бюл. главн. ботан. сада, 1978, вып. 110.
3. Bowen M. G., Sawse P. A., Dick M. G. The induction of sports in Chrysanthemums by gamma-radiation. Rad. Bot., 1962, 1, N 4.

### A STUDY OF VARIABILITY POTENTIAL OF GARDEN CHRYSANTHEMUMS AS INFLUENCED BY GAMMA-RADIATION

A. N. GLAZURINA

### SUMMARY

The variability of characters in 43 chrysanthemum varieties connected with various chimerical structure of shoot tips was studied.

An objective law in obtaining one or another coloration spectrum depending on the coloration of the object under irradiation has been stated.

Stable chrysanthemum forms undergoing a slight change and being homohistotous organisms have been obtained.

УДК 576.312.32

**РОЛЬ ВЫЯВЛЯЕМОЙ МЕТОДАМИ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ОКРАСКИ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ХРОМОСОМ В ПРОЦЕССАХ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ И ИЗМЕНЧИВОСТИ.** ГОСТЕВ А. А., КРЫЛОВ В. С., ОРЛЯНСКИЙ Н. В. — В кн.: Цитогенетические и эмбриологические исследования многолетних растений. Сб. научн. трудов/Никит. ботан. сад, 1983, с. 7—16.

Проанализировано положение хромосомного уровня организации наследственной информации в иерархической системе строения биологических объектов. На этой основе рассматривается роль структуры хромосом в процессах наследственности и изменчивости. Определяются требования к методике дифференциальной окраски хромосом для наиболее полного выявления деталей структуры хромосом с целью максимального использования полученной информации в практике. Обсуждается необходимость развития объективных количественных характеристик как для естественного, так и для индуцированного полиморфизма хромосом.

Ил. 2, библиогр. 16 назв.

УДК 576.312.32:518.5

**ОСОБЕННОСТИ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ОКРАСКИ ХРОМОСОМ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВ ЛИЛЕЙНЫХ, СЛОЖНОЦВЕТНЫХ, ЗОНТИЧНЫХ И РОЗОЦВЕТНЫХ.** КРАПИВЕНКО Е. Ф., БАШМАКОВА Е. Ю., ИВАНОВА Е. В., ШКУРАТОВА Н. Н. — В кн.: Цитогенетические и эмбриологические исследования многолетних растений. Сб. научн. трудов/Никит. ботан. сад, 1983, с. 17—25.

Показана возможность визуального выявления особенностей структурной организации и идентификации хромосом растений, относящихся к семействам Liliaceae, Asteraceae, Rosaceae, Apiaceae, с помощью дифференциальной окраски по методике Гостева—Аскера. Используя эту методику, дифференциальность окрашивания хромосом можно наблюдать как у длинно-, так и у короткохромосомных растений. Для визуального изучения особенностей структуры хромосом у *Allium sera* L., *Crepis alpina* L., *Coriandrum sativum* L. наиболее удобна стадия прометафазы; для *Prunus salicina* L. — стадия профазы. Проведена идентификация одиннадцати пар гомологичных хромосом *Coriandrum sativum* L. на стадии прометафазы.

Ил. 21, библиогр. 16 назв.

УДК 576.312.32:518.5

**НЕКОТОРЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ХРОМАТИНА В МИТОТИЧЕСКИХ, ПОЛИТЕННЫХ И ПАХИТЕННЫХ ХРОМОСОМАХ SALVIA NORNINUM.** ОРЛЯНСКИЙ Н. В., ОРЛЕНКО С. П., ШКУРАТОВА Н. Н. — В кн.: Цитогенетические и эмбриологические исследования многолетних растений. Сб. научн. трудов/Никит. ботан. сад, 1983, с. 26—33.

Проведено изучение и сравнение трёх типов хромосом *Salvia hortispium* (митотических, политеменных и пахитенных), окрашенных дифференциально и по Сноу.

Установлены общность и отличие этих типов хромосом в плане их структурной организации, что связано с функциональной нагрузкой.

Ил. 4, библиогр. 11 назв.

УДК 576.312.32:518.5

**ТРАНСФОРМАЦИЯ СТРУКТУРЫ ХРОМОСОМ В ПРОЦЕССЕ МИТОЗА И ВОЗМОЖНОСТИ ЕЕ МАТЕМАТИЧЕСКОГО ОПИСАНИЯ.** КРЫЛОВ В. С., ГОСТЕВ А. А. — В кн.: Цитогенетические и эмбриологические исследования многолетних растений. Сб. научн. трудов/Никит. ботан. сад, 1983, с. 34—42.

Важной проблемой исследования хромосом является разработка методики изучения динамики изменения структуры хромосом в процессе митоза. Одно из направлений в решении этой задачи — построение функции трансформации структуры хромосом, выявленной методами дифференциальной окраски. Разработка методики поиска функции трансформации потребовала выбора уровня модели хромосомы, анализа снятия характеристик структуры, поиска методов построения количественных зависимостей.

Предложенный методический подход использовался в изучении растительных объектов с разными размерами хромосом *S. sklarea* и *Narjorarpus*. Во всех случаях наблюдалась линейная зависимость между структурой хромосом на разных стадиях митотического цикла. Развитие этого методического подхода позволит составить количественную характеристику полиморфизма хромосом и построить математическую теорию динамики изменения их структуры в процессе митоза.

Ил. 3, библиогр. 10 назв.

УДК 581.162.4:581.321

**ОПЛОДОТВОРЕНИЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ СЕМЯПОЧЕК IN VITRO — ВАЖНОЕ ЗВЕНО СЕЛЕКЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА.** ЗДРУЙКОВСКАЯ-РИХТЕР А. И., БАБА-СЮК М. С. — В кн.: Цитогенетические и эмбриологические исследования многолетних растений. Сб. научн. трудов/Никит. ботан. сад, 1983, с. 43—53.

Излагаются основные результаты работ по культуре неоплодотворенных семязачек совместно с пыльцой (оплодотворение *in vitro*). Показывается важность данного метода в преодолении само- и перекрестной несовместимости при гибридизации, а также при изучении процесса оплодотворения, зиготогенеза и ранних стадий эмбриогенеза в контролируемых условиях.

Ил. 6, библиогр. 11 назв.

УДК 581.531:582.5

**НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЭМБРИОЛОГИИ ЗЕМЛЯНИЧНИКА МЕЛКОПЛОДНОГО.** ШЕВЧЕНКО С. В. — В кн.: Ци-

тогенетические и эмбриологические исследования многолетних растений. Сб. научн. трудов/Никит. ботан. сад, 1983, с. 54—62.

Приведены результаты изучения особенностей эмбриологического развития земляничника мелкоплодного в связи со снижением числа особей разных возрастных групп подростка.

Установлено, что процессы формирования мужского и женского гаметофитов и оплодотворения проходят в основном нормально. Количество нарушений этих процессов незначительно и не может быть причиной снижения семенного возобновления *Arbutus andrachne* L.

Ил. 9, библиогр. 3 назв.

УДК 575.2.581.412

**ЗАКОНОМЕРНОСТИ ГАПЛОФАЗЫ ПРИ ИНТРОДУКЦИИ ХВОЙНЫХ В КРЫМУ.** РУГУЗОВ И. А. — В кн.: Цитогенетические и эмбриологические исследования многолетних растений. Сб. научн. трудов/Никит. ботан. сад, 1983, с. 63—72.

Выявлены особенности структуры пыльцевых зерен и нормогенеза мужских гаметофитов хвойных, связанные с функцией оплодотворения. Показаны случаи нарушений морфогенеза мужских гаметофитов сосновых и обсуждены их возможные причины. Установлено явление утраты способности сбрасывать экзину в секрете семязачек у тисовых, таксодиевых, головчатотисовых и кипарисовых, которое идентифицируют как проявление гомозиготного рецессивного гена мужской стерильности в раздробленных популяциях и при интродукции.

Ил. 3, библиогр. 19 назв.

УДК 581.1:582.477

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭМБРИОЛОГИЯ НЕКОТОРЫХ ХВОЙНЫХ КРЫМА.** СКЛОННАЯ Л. У. — В кн.: Цитогенетические и эмбриологические исследования многолетних растений. Сб. научн. трудов/Никит. ботан. сад, 1983, с. 73—82.

Описаны процессы микро- и мегаспорогенеза, особенности контакта мужских и женских гаметофитов и их развития у кедр гималайского (*Pinaceae*) и можжевельника высокого (*Cupressaceae*). Обсуждены нарушения процессов при формировании мужских гаметофитов на разных этапах гаплофазы. Показаны условия несовместимости гамет и развития пустых семян.

Ил. 5, библиогр. 17 назв.

УДК 581.331:582.998.2

**ЦИТОЭМБРИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ХРИЗАНТЕМЫ САДОВОЙ.** НОВИКОВА В. М. — В кн.: Цитогенетические и эмбриологические исследования многолетних растений. Сб. научн. трудов/Никит. ботан. сад, 1983, с. 83—91.



Приводится описание микро- и мегаспорогенеза, развитие мужского и женского гаметофитов у хризантемы садовой на примере сортов Астория, Сонейвои и Эвелин Буш.

Дана характеристика гаметофитам.  
Ил. 2, библиогр. 14 назв.

УДК 575+631.52

**ПРОБЛЕМА СИНТЕЗА ЛАВАНДИНА. РАБОТЯГОВ В. Д.**

— В кн.: Цитогенетические и эмбриологические исследования многолетних растений. Сб. научн. трудов/Никит. ботан. сад, 1983, с. 92—101.

Рассмотрены главные направления в генетико-селекционных исследованиях лавандина с точки зрения: а) преодоления стерильности у межвидовых гибридов первого поколения; б) изучения возможности использования экспериментальной полиплоидии в сочетании с межвидовой гибридизацией для синтетического создания новых гибридных генотипов; в) получения гетерозисных полиплоидных лавандинов, по качеству масла приближающихся к л. узколистной.

Табл. 4, библиогр. 10 назв.

УДК 581.163:635.965.281

**ИНДУЦИРОВАННЫЙ АПОМИКСИС У ЛУКОВИЧНЫХ НА ПРИМЕРЕ ТЮЛЬПАНА. РОМАНОВА Г. С., КОЛЬЦОВА А. С., МОСОЛКОВА И. М.**

— В кн.: Цитогенетические и эмбриологические исследования многолетних растений. Сб. научн. трудов/Никит. ботан. сад, 1983, с. 102—113.

На основе экспериментов по выявлению способности к апомиктическому размножению тюльпанов и проведенного цитоморфологического и цитозембриологического анализа гистогенезов генеративных органов в завязях, обработанных физиологически активными веществами и опыленных чужеродной пылью, установлено следующее.

Дикорастущие виды тюльпанов дают семенное потомство только в результате скрещивания. 27 сортов культурного вида *T. gesneriiflora* проявили способность к автономному и индуцированному апомиксису, который выражается в форме партеногенеза и апогаметии, у апомиктических растений проявлялись новые признаки, несвойственные исходным формам.

Ил. 5, табл. 3; библиогр. 9 назв.

УДК 631.588.2:635.976.861

**МУТАГЕНЕЗ РОЗЫ САДОВОЙ. ЗЫКОВ К. И., КЛИМЕНКО З. К.** — В кн.: Цитогенетические и эмбриологические исследования многолетних растений. Сб. научн. трудов/Никит. ботан. сад, 1983, с. 114—123.

В результате десятилетних экспериментальных исследований изучены радиационная чувствительность и закономерности радиационной изменчивости садовых роз. Показаны роль генотипа и

перспективность селекции роз при сочетании мутационной и комбинационной изменчивости.

Табл. 2, ил. 2, библиогр. 6 назв.

УДК 581.15:635.978.2:582.675.1

**ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЧИВОСТИ ОКРАСКИ ЦВЕТКОВ КЛЕМАТИСА. БЕСКАРАВАЙНАЯ М. А., ЛЕВКО Г. Д., ЯРОСЛАВЦЕВА З. П.** — В кн.: Цитогенетические и эмбриологические исследования многолетних растений. Сб. научн. трудов/Никит. ботан. сад, 1983, с. 124—129.

В результате цитогенетических и биохимических исследований и применения методов экспериментального мутагенеза были изучены изменчивость окраски чашелистиков и состав пигментов у 11 видов клематиса, представляющих интерес для создания новых высокодекоративных сортов. Предполагается, что наследование пигментов, детерминирующих окраску цветков, осуществляется по меньшей мере системой из трех генов.

Под действием гамма-радиации и этиленмина, а также других химмутагенов происходит изменение окраски цветков в результате перекombинации генов, ответственных за синтез того или иного пигмента.

Впервые получены данные о пигментном составе цветков у *Clematis vitalba*, *C. tangutica*, *C. integrifolia*.

На госсортоиспытание передан новый сорт клематиса Загадка, полученный методом экспериментального мутагенеза.

Табл. 1, библиогр. 13 назв.

УДК 635.9.539.16

**ИЗУЧЕНИЕ ПОТЕНЦИАЛА ИЗМЕНЧИВОСТИ ХРИЗАНТЕМЫ САДОВОЙ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ГАММА-РАДИАЦИИ. ГЛАЗУРИНА А. Н.**

— В кн.: Цитогенетические и эмбриологические исследования многолетних растений. Сб. научн. трудов/Никит. ботан. сад, 1983, с. 130—138.

Изучалась структура химерных сортов хризантемы радиационным методом у материнских сортов и полученных от них радиоформ. Для этого облучали ( $^{60}\text{Co}$ ) укорененные черенки дозой 1,5 кр.

Отмечены различия в реакции на облучение радиоформ, составляющих семейство Снегом Покрытый Камень Террасы. Последовательное облучение позволило установить, что спектр окрасок и количество расхимеренных растений постепенно сужаются и приводят к возникновению желтых, белых, палевых и кирпично-красных, мало изменяющихся гомогистотипных форм.

Представлены схемы расхимеривания сортов с помощью радиации и доказано, что формы, возникающие от желтых окрасок, связаны не с мутацией хромосом, а с перестановкой слоев тканей внутри химеры.

Конечным результатом расхимеривания химеры являются белая или желтая окраски, которые могут быть получены друг от друга у любого сорта хризантемы с иной исходной окраской.

Табл. 1, ил. 3, библиогр. 3 назв.

## СОДЕРЖАНИЕ

Введение . . . . .	5
Гостев А. А., Крылов В. С., Орлянский Н. В. Роль выявляемой методами дифференциальной окраски структурной организации хромосом в процессах наследственности и изменчивости . . . . .	7
Крапивенко Е. Ф., Башмакова Е. Ю., Иванова Е. В., Шкуратова Н. Н. Особенности дифференциальной окраски хромосом растений семейств лилейных, сложноцветных, зонтичных и розоцветных . . . . .	17
Орлянский Н. В., Орленко С. П., Шкуратова Н. Н. Некоторые закономерности распределения хроматина в митотических, политеменных и пахитенных хромосомах <i>Salvia hogmipum</i> . . . . .	26
Крылов В. С., Гостев А. А. Трансформация структуры хромосом в процессе митоза и возможности ее математического описания . . . . .	34
Здруйковская-Рихтер А. И., Бабасюк М. С. Оплодотворение изолированных семязпочек <i>in vitro</i> — важное звено селекционно-генетического процесса . . . . .	43
Шевченко С. В. Некоторые особенности эмбриологии земляничника мелкоплодного . . . . .	54
Ругузов И. А. Закономерности гаплофазы при интродукции хвойных в Крым . . . . .	63
Склонная Л. У. Сравнительная эмбриология некоторых хвойных Крыма . . . . .	73
Новикова В. М. Цитозембриологические исследования хризантемы садовой . . . . .	83
Работягов В. Д. Проблема синтеза лавандина . . . . .	92
Романова Г. С., Кольцова А. С., Мосолкова И. М. Индуцированный апомиксис у луковичных на примере тюльпана . . . . .	102
Зыков К. И., Клименко З. К. Мутагенез розы садовой . . . . .	114
Бескаравайная М. А., Левко Г. Д., Ярославцева З. П. Изучение изменчивости окраски цветков клематиса . . . . .	124
Глазурина А. Н. Изучение потенциала изменчивости хризантемы садовой под воздействием гамма-радиации . . . . .	130
Рефераты . . . . .	139

Introduction . . . . . 5

Gostev A. A., Krylov V. S., Orlyansky N. V. The role of structural chromosome organization revealed by differential staining methods in processes of inheritance and variability . . . . . 7

Krapivenko E. F., Bashmakova E. Y., Ivanova E. V., Shkuratova N. N. Special characters of differential chromosome staining in Liliaceae, Asteraceae, Apiaceae and Rosaceae . . . . . 17

Orlyansky N. V., Orlenko S. P., Shkuratova N. N. Some objective laws of chromatin distribution in mitotic, polytene and pachytene chromosomes . . . . . 26

Krylov V. S., Gostev A. A. Transformation of chromosome structure during mitosis and possibilities of its mathematical description . . . . . 34

Zdruikovskaya-Rikhter A. I., Babasyuk M. S. Fertilization of isolated ovules—a significant link of the breeding-genetic process . . . . . 43

Shevchenko S. V. Some embryology characters of strawberry tree (*Arbutus andrachne* L., fam. Ericaceae) . . . . . 54

Ruguzov I. A. Objective laws of haplophase when introducing conifers in the Crimea . . . . . 63

Sklonnaya L. U. Comparative embryology of some conifers of the Crimea . . . . . 73

Novikova V. M. Cytoembryological studies of garden chrysanthemums . . . . . 83

Rabotyagov V. D. \*Problems of lavandin synthesis . . . . . 92

Romanova B. S., Koltsova A. S., Mosolkova I. M. Induced apomixis in bulb plants taking tulip as an example . . . . . 102

Zykov K. I., Klimenko Z. K. Mutagenesis of garden roses . . . . . 114

Beskaravainaya M. A., Levko G. D., Yaroslavtseva Z. P. Studies of variability of clematis flowers color . . . . . 124

Glazurina A. N. A study of variability potential of garden chrysanthemums as influenced by gamma-radiation . . . . . 130

Synopses . . . . . 139

СОДЕРЖАНИЕ

Печатается по постановлению редакционно-издательского совета  
Никитского ботанического сада

**ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ЭМБРИОЛОГИЧЕСКИЕ  
ИССЛЕДОВАНИЯ МНОГОЛЕТНИХ РАСТЕНИЙ**

Сборник научных трудов

Том 91

Под общей редакцией  
кандидата биологических наук А. А. Гостева

Редактор Н. К. Секуров

Технический редактор А. И. Левашов

Корректор Д. И. Заславская

---

Сдано в набор 13.05.1983 г. Подписано в печать 10.10.1983 г. БЯ 00870.  
Формат 60x84/16. Бумага типографская № 1. Гарнитура литературная. Печать высокая.  
Объем 8,6 физ. п. л., 7 уч.-изд. л. Тираж 500 экз. Заказ 3039. Цена 65 коп.  
334267. Ялта, Крымская обл., Никитский ботанический сад.  
Редакционно-издательская группа. Тел. 33-55-22.  
Филиал типографии издательства «Таврида» Крымского обкома Компартии Украины  
334235, Ялта, ул. Володарского, 1/4.