

IV. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СЕЛЕКЦИИ

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕЙОЗА, КАЧЕСТВА ПЫЛЬЦЫ И СЕМЕННОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ У ВЫСОКОИНБРЕДНЫХ ЛИНИЙ РЕДИСА

Т. Ф. Полякова, С. И. Нарбут

С помощью инбридинга, создавая различные гомозиготные линии, можно моделировать генетические системы для ряда теоретических исследований и селекционных целей (Лобашев, 1965). Однако из-за низкой семенной продуктивности инбредных линий редиса при свободном опылении и особенно при изоляции соцветий эти линии не всегда могут быть использованы в работе (Нарбут, 1961). Выяснение причин низкой семенной продуктивности инбредных линий представляет поэтому несомненный интерес.

Одной из причин низкой семенной продуктивности могут оказаться нарушения мейоза. У инбредных линий мейоз изучался рядом исследователей на разных культурах, причем были обнаружены разного рода нарушения. На ржи было показано (Lanin, 1936; Кахидзе, 1939; Müntzing a. Akdik, 1948; Sybenga, 1958), что при инбридинге происходит понижение числа хвизм на бивалент, которое ведет к появлению унивалентов на более поздних стадиях мейоза и к различным, вытекающим отсюда, ненормальностям. Отмечается также затрудненное расхождение хромосом, наличие мостов и фрагментов в анафазе I и остатки мостов в конце II деления. О частом отсутствии конъюгации гомологичных хромосом и появлении унивалентов при инбридинге кукурузы сообщают Ф. Кларк (Clark, 1942) и Л. Зацевич (Zecsevíc, 1961). Все перечисленные выше нарушения мейоза (униваленты, мосты и фрагменты) были обнаружены также у инбредных линий редиса (Полякова и др., 1967).

Несмотря на то, что нарушения мейоза отмечались многими исследователями, связь мейоза с семенной продуктивностью изучена недостаточно. Насколько нам известно, такие работы проводились только на злаковых травах (Chung Fu Cheng, 1946; Nilsson, 1933; Nath a. Nielsen, 1961). Так, в работе Ханга Фа Хинга (Chung Fu Cheng, 1946) была изучена связь между нарушениями мейоза (которые оценивались при помощи подсчета микроядер в тетрадах микроспор) и абортивностью пыльцы, с одной стороны, и с семенной продуктивностью — с другой, у трех видов луговых трав — костра (*Bromus inermis* Leuss.), пырея ползучего (*Agropyron cristatum* L.) и лисохвоста лугового (*Alopecurus pratensis* L. Beauv.) при свободном опылении и при изоляции соцветий. Тесная положительная корреляция была установлена между количеством тетрад с микроядрами и количеством абортивной пыльцы, и отрицательная — между количеством абортивной пыльцы и количеством жизнеспособных семян при свободном опылении у костра и пырея.

У лисохвоста лугового как при изоляции соцветий, так и при свободном опылении установлена незначительная положительная корреляция.

Ф. Нильсон (Nillson, 1933), изучая зависимость образования семян при изоляции соцветий и свободном опылении от процента нормальной пыльцы у английского райграса (*Lolium perenne* L.), установил, что уменьшение количества нормальной пыльцы не сказывается на автофертильности (коэффициент корреляции $r=0,0854$), но оказывает некоторое влияние на общую фертильность при свободном опылении ($r=0,3696$). Отсутствие корреляции в первом случае автор объясняет тем, что для образования семян функционирующей пыльцы всегда бывает достаточно. Взаимоотношение между количеством нарушенных в мейозе при микроспорогенезе и образованием семян у инбредных линий тимофеевки (*Phleum pratense* L.) в первом и втором поколениях от самоопыления (S_1 и S_2) выясняли Дж. Нэф и Е. Нильсен (Nath & Nielsen, 1961). Количественный учет проводился ими при помощи сравнения количества нормально окрашенных и вальстом калии пылевых зерен и количества образующихся семян на колосе. При окрашиваемости пыльцы на 90—95%, что свидетельствует о почти нормальном протекании микроспорогенеза, наблюдалась очень низкая автофертильность и несколько более высокая фертильность. Это несоответствие между показателями автофертильности и фертильности вполне объяснимо действием тегов несовместимости при самоопылении. Дж. Нэф и Е. Нильсен отмечают также варьирование растений по количеству нарушений в мейозе и проценту abortивной пыльцы.

Оценивая работу этих авторов, следует отметить, что если между ходом мейоза и abortивностью пыльцы у растений обычно наблюдается тесная, прямая зависимость, то в отношении установления связи между мейозом и семенной продуктивностью этого сказать нельзя, тем более, если мейоз изучается только в процессе микроспорогенеза.

В нашей многолетней работе с инбредными линиями редиса было показано, что растения разных линий и одной и той же линии различаются по семенной продуктивности, причем эти различия носят наследственный характер (Нарбут, 1961). В настоящей статье излагаются результаты изучения мейоза, качества пыльцы и некоторых других сторон микроспорогенеза и их взаимоотношения с семенной продуктивностью для выяснения причин этих различий и низкой семенной продуктивности некоторых инбредных линий редиса.

Для исследования были взяты три инбредные линии из сортовой популяции Вировский белый — ЛВ-42, ЛВ-10 и ЛВ-274 и две из сортовой популяции Сакса — ЛС-81 и ЛС-67. Специально выбранные линии характеризовались низкой семенной продуктивностью при самоопылении и свободном опылении, а также некоторыми патологическими особенностями, а именно:

- ЛВ-42 — хлорофилловой недостаточностью,
- ЛВ-10 — насыщенностью семилеталями,
- ЛВ-274 — выщеплением растений с двумя точками роста,
- ЛС-81 — образованием „матрешек“ (завязей внутри завязи),
- ЛС-67 — увяданием в определенных условиях.

Более подробная характеристика этих линий дана при описании генетической коллекции (Нарбут, 1966).

Исследования следующие поколения:

- ЛВ-42 — А — А
- ЛВ-10 — А — А
- ЛВ-274 — А — А
- ЛС-81 — А — А
- ЛС-67 — А — А

Фиксация материала проводилась в течение четырех лет (1962—1965 гг.).

В июле у 1—2 растений каждого поколения каждой линии брались бутоны размером 2—3 мм и одновременно в качестве контроля — бутоны у 1—2 растений сортовой популяции. Фиксация проводилась смесью Навашина (10:4:1) и Карнуа (3:1). Срезы толщиной в 12 мк окрашивали железным гематоксилином по Гейденгайну и кристалл-виолетом, а также частично метиловым зеленым с пиронином по Унна и по Фельгену. Наряду с микротомными, приготавливали давленные препараты, для которых использовали материал, фиксированный по Карнуа.

У растений, исследованных на мейоз, пыльцу просматривали большей частью в 4-х бутонах с растения; количество abortивной пыльцы определяли на препаратах, окрашенных ацето-кармином. Дополнительно для более полной характеристики в 4—6 бутонах у 4—11 растений каждой из линий и сортовых популяций просматривали только пыльцу. Для суждения о степени нарушений мейоза анализировали метафазу I и II, анафазу I и II и зрелую пыльцу. Кроме того, просматривали тетрады и одноядерные микроспоры. В метафазе подсчитывали количество клеток с хромосомами, находящимися вне экватора, в анафазе — клетки с отставшими хромосомами, фрагментами и мостами. К сожалению, не всегда удавалось найти в материале нужные стадии мейоза; особенно редко они встречались у растений сорта Вировский белый.

Подсчеты по каждому растению и по каждому бутону были проведены отдельно, но так как результаты оказались статистически однородными, окончательная характеристика стадий мейоза дана на основании суммированных данных.

В 1964 г. кроме определения процента abortивной пыльцы, устанавливали также средний диаметр пыльцевого зерна, для чего в каждой линии измеряли больший диаметр у 100 пыльцевых зерен. Измерение производили на постоянных препаратах после фиксации материала по Навашину и обработки срезов по Фельгену.

Для определения автофертильности на каждом растении исследуемых линий и сортов в разные сроки периода вегетации в 1962—1965 гг. было изолировано по 80—100 цветков с целью самоопыления. Параллельно на каждом из этих растений было этикетировано столько же цветков для изучения фертильности при свободном перекрестном опылении.

Результаты изучения мейоза (табл. 1) показывают, что у каждой из инбредных линий ежегодно встречалось некоторое количество клеток с нарушениями мейоза, причем в этом отношении линии различаются. У исходных сортов также имеются клетки с нарушениями мейоза, но их достоверно меньше, чем у инбредных линий.

Нарушения мейоза носили следующий характер. В метафазе I наблюдалось расположение хромосом вне веретена; в анафазе I — одиночные и двойные мосты и фрагменты; в метафазе II — разное число хромосом в обеих группах. Кроме того, у некоторых инбредных линий (ЛВ-274, I₇) в метафазе II попадались клетки, в которых одни из бивалентов разных групп хромосом были связаны между собой, образуя «мост» (рис. 1, а и б), а у других (ЛВ-10, I₇) — клетки с удвоенным числом хромосом (рис. 1, в). Тетрады большей частью были нормальными, хотя у некоторых линий их ядра обнаруживали более бледную окраску по Фельгену, а сами тетрады имели тенденцию слипаться в общую массу. То же наблюдалось у одноядерных микроспор (ЛС-81, I₆).

Как результат нарушений мейоза, у каждой из линий в каждом исследованном бутоне встречались abortивные пыльцевые зерна, причем их было значительно больше, чем у исходной популяции. Так

Таблица 1

Нарушения в мейозе у исследованных растений инбредных линий редиса и их плодовитость

| Сорт, линия и поколение | Годы исследований | Количество (в %) клеток с нарушениями в стадиях | | | | t (diff) по метафазе I | Завязываемость | | | | |
|--|-------------------|---|------------|-------------|------------|------------------------|------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------|
| | | Метафазы I | Анафазы I | Метафазы II | Анафазы II | | стручков на 1 растение (в %) | | семян на 1 стручок | | |
| | | | | | | | гибридная | свободное опыление | гибридинг | свободное опыление | |
| Сорт Вировский белый | 1962 | 0,0±0,78 | не исслед. | не исслед. | не исслед. | | не исслед. | 60,2 | не исслед. | 3,80 | |
| | 1963 | 0,9±0,53 | то же | 0,0±0,00 | то же | | то же | 61,5 | то же | 3,60 | |
| | 1964 | 3,5±1,30 | 3,9±1,67 | 7,0±1,80 | 7,3±1,19 | | " " | 71,8 | " " | 4,16 | |
| ЛВ-42, I ₆ I ₇ I ₈ | 1962 | не исслед. | 6,9±2,98 | не исслед. | не исслед. | | 23,7 | 81,2 | 1,20 | 2,06 | |
| | 1963 | то же | 18,2±1,96 | 6,7±1,07 | 14,2±2,04 | 3,3 | 15,8 | 62,5 | 2,42 | 2,24 | |
| | 1964 | 12,3±1,59 | 16,3±1,76 | 15,3±1,73 | 2,2±2,51 | | 3,7 | 78,8 | 1,00 | 1,77 | |
| | 1965 | 11,9±2,28 | 22,6±3,57 | 24,6±3,76 | 41,2±4,87 | | 0,0 | 48,7 | 0,00 | 1,22 | |
| ЛВ-274, I ₆ I ₇ I ₈ I ₉ | 1962 | не исслед. | не исслед. | не исслед. | не исслед. | | | 39,0 | 70,0 | 1,40 | 2,71 |
| | 1963 | то же | то же | 8,9±1,76 | то же | 2,1 | 13,5 | 65,0 | 1,23 | 2,81 | |
| | 1964 | 8,9±1,77 | 12,3±3,84 | не исслед. | не исслед. | | 23,3 | 67,4 | 1,64 | 2,03 | |
| | 1965 | не исслед. | не исслед. | 6,2±1,46 | 11,7±1,98 | | 1,2 | 47,5 | 1,00 | 1,94 | |
| ЛВ-10, I ₆ I ₇ I ₈ | 1962 | 4,3±2,10 | 6,4±2,34 | 11,6±2,27 | не исслед. | | | 25,0 | 26,2 | 1,40 | 2,00 |
| | 1963 | 5,9±1,59 | 3,5±1,40 | 13,5±2,41 | то же | 3,0 | 7,1 | 68,3 | 1,80 | 2,78 | |
| | 1964 | не исслед. | не исслед. | 9,2±2,93 | 9,7±2,91 | | 15,0 | 57,4 | 1,58 | 1,04 | |
| Сорт Сакса | 1962 | не исследовано | | | | | | не исслед. | 53,6 | не исслед. | 4,60 |
| | 1963 | 0,9±0,32 | 1,8±0,53 | 3,2±0,71 | 6,5±1,27 | | то же | 78,3 | то же | 5,13 | |
| | 1964 | 2,9±0,94 | 3,7±1,17 | 7,9±1,55 | 9,6±2,72 | | " " | 66,3 | " " | 4,25 | |
| ЛС-81, I ₆ I ₇ I ₈ | 1962 | 10,8±2,08 | 11,8±1,52 | 20,9±5,16 | не исслед. | | 0,0 | 68,5 | 0,00 | 2,33 | |
| | 1963 | 4,7±1,19 | 7,5±2,67 | 7,9±1,89 | 18,7±3,44 | 3,1 | 17,0 | 28,3 | 1,64 | 1,53 | |
| | 1964 | 5,5±1,33 | не исслед. | не исслед. | 5,2±2,52 | | 0,8 | 0,0 | 71,7 | 0,00 | 2,00 |
| | 1965 | 3,0±0,94 | 6,3±1,41 | 5,1±2,00 | 6,3±1,88 | | | 6,6 | 43,7 | 0,50 | 2,12 |
| ЛС-67, I ₆ I ₇ I ₈ | 1962 | не исслед. | не исслед. | 18,9±3,71 | не исслед. | | | 42,5 | 62,5 | 1,88 | 4,04 |
| | 1963 | 3,8±0,96 | 7,4±1,94 | 8,5±1,58 | то же | 2,8 | 20,0 | 43,3 | 2,25 | 2,85 | |
| | 1964 | 6,3±1,76 | 10,5±1,95 | 16,5±3,55 | 14,2±2,31 | | 2,0 | 10,0 | 70,0 | 1,00 | 3,97 |

Примечание. В ряде случаев исследование не было проведено, так как отсутствовали нужные стадии мейоза в момент фиксации.

же как и в отношении клеток с нарушенным мейозом, у одних линий процент abortивной пыльцы был выше, у других — ниже, причем эти различия сохранялись из года в год. Так, из трех линий сорта Вировский белый наибольшее количество abortивной пыльцы было у линии ЛВ-42, которое в разные годы варьировало от 27,2 до 77,7%, наименьшее — у ЛВ-10 — от 3,1 до 12,2% и промежуточное — у ЛВ-274 — от 17,1 до 22,4% (табл. 2).

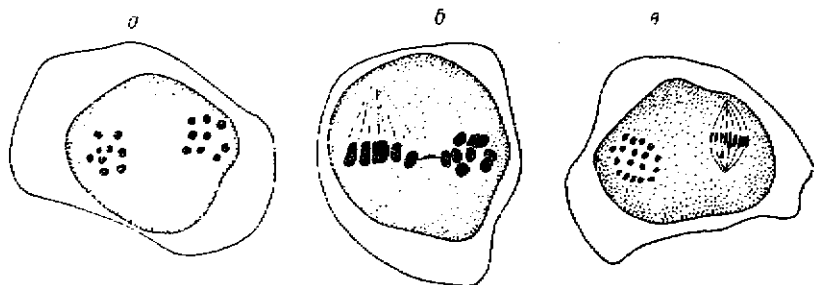


Рис. 1. Нарушения мейоза у гибридных линий редиса.

а — ЛВ-10 — метафаза II; б — ЛВ-274 — мостик-кольцо; в — ЛВ-42 — нарушенная метафаза II. Фиксатор Навашина, окраска кристалла-виолетом; уя, ок. К 25х, об. Аро 90х. а — ЛВ-10 — метафаза II; б — ЛВ-274 — мостик-кольцо; в — ЛВ-42 — метафаза II. Фиксатор Навашина, окраска кристалла-виолетом; уя, ок. К 25х, об. Аро 90х.

Данные табл. 2 показывают, что по количеству abortивной пыльцы различаются между собой не только разные линии, но и разные растения одной и той же линии. Очевидно, это есть следствие продолжающегося расщепления в линиях на гаметофитной фазе развития, в то время как по многим признакам спорофитной фазы к этому моменту уже достигнута значительная стабильность.

Наряду с большим количеством abortивной пыльцы у гибридных линий наблюдается разнообразие по величине пыльцевых зерен (табл. 3). Особенно выделяется в этом отношении ЛВ-42: у нее намного выше значения среднего квадратического отклонения (δ) и коэффициента изменчивости (σ).

Что касается размера, то у всех линий сорта Вировский белый пыльцевые зерна были крупнее, чем у растений исходной популяции. Характерно, что наиболее крупные пыльцевые зерна наблюдались также у растений ЛВ-42, но при этом отмечена при инбридинге очень низкая завязываемость плодов и небольшое количество семян в плоде (табл. 1, 1964 г.). При окрашивании пыльцевых зерен после фиксации по Навашину было обнаружено, что рыхлые неправильной формы спермии ЛВ-42 красились по Фельгену гораздо слабее, чем более компактные спермии растений сорта (рис. 2, а, б).

Что касается линий сорта Сакса, то по величине пыльцевых зерен достоверно отличается от сорта линия ЛС-67, у которой пыльцевые зерна оказались мельче.



Рис. 2. Нарушения в формировании спермиев у гибридных линий редиса.

а — спермии растений сортовой популяции Вировский белый (фиксатор Навашина, реакция Фельгена; уя, ок. К 15х, об. Аро 90х); б — спермии ЛВ-42 измененной формы и ослабленной окраски (фиксатор Навашина, реакция Фельгена; уя, ок. К 15х, об. Аро 90х).

Таблица 2

Количество абортивной пыльцы у гибридных линий и сортов редиса

| Сорт, линия и поколение | Год исследования | Количество абортивной пыльцы (в %) | | |
|-------------------------|------------------|--|---------------------|-----------------|
| | | у исследованного на мейоз растения ($x \pm m$) | В среднем для линии | |
| | | | размах варьирования | $\bar{x} \pm m$ |
| Сорт Вировский белый | 1962 | 2,9 ± 0,80 | не исслед. | не исслед. |
| | 1963 | не исслед. | то же | 5,2 ± 1,31 |
| | 1964 | 2,5 ± 0,29 | 2,5—12,8 | 7,8 ± 0,40 |
| | 1965 | 4,4 ± 0,26 | 3,7—6,9 | 5,1 ± 0,23 |
| ЛВ-42, I ₅ | 1962 | 68,3 ± 1,42 | — | — |
| | 1963 | 27,2 ± 0,86 | 15,8—98,6 | 41,3 ± 0,91 |
| | 1964 | 72,8 ± 0,93 | 38,3—86,3 | 70,3 ± 1,29 |
| | 1965 | 77,7 ± 0,48 | 53,8—95,2 | 58,4 ± 0,43 |
| ЛВ-274, I ₇ | 1963 | 22,1 ± 1,19 | 15,4—21,8 | 19,5 ± 0,36 |
| | 1964 | 22,4 ± 0,72 | 9,5—27,6 | 17,1 ± 0,75 |
| | 1965 | 30,6 ± 0,49 | 6,7—27,8 | 21,1 ± 0,34 |
| ЛВ-10, I ₆ | 1962 | 5,1 ± 1,15 | не исслед. | не исслед. |
| | 1963 | 3,1 ± 0,45 | 5,1—30,6 | 12,2 ± 0,54 |
| | 1964 | 11,1 ± 0,55 | 2,7—30,2 | 11,7 ± 0,87 |
| | 1965 | 11,1 ± 0,11 | 7—15,7 | 10,4 ± 0,27 |
| Сорт Сакса | 1963 | 4,4 ± 0,47 | 3,7—12,9 | 9,1 ± 0,40 |
| | 1964 | 5,4 ± 0,37 | 1,9—16,4 | 9,0 ± 0,41 |
| | 1965 | 6,6 ± 0,42 | 3,3—14,8 | 6,8 ± 0,26 |
| ЛС-81, I ₆ | 1962 | дегенерация | не исслед. | не исслед. |
| | 1963 | 38,6 ± 2,05 | 8,0—77,2 | 47,8 ± 0,67 |
| | 1964 | 39,6 ± 1,00 | 3,4—39,8 | 16,2 ± 0,98 |
| | 1965 | 9,5 ± 0,37 | 8,8—26,8 | 16,0 ± 0,31 |
| ЛС-67, I ₇ | 1962 | 55,2 ± 2,13 | не исслед. | не исслед. |
| | 1963 | 9,9 ± 0,87 | 8,5—47,1 | 23,7 ± 0,92 |
| | 1964 | 49,7 ± 0,85 | 5,7—49,7 | 28,7 ± 0,72 |
| | 1965 | 24,1 ± 0,53 | 13,7—51,4 | 33,8 ± 0,41 |

Примечание. У ЛС-81 наблюдалась дегенерация на стадии двуядерных микроспор.

Таблица 3

Размер пыльцевых зерен у гибридных линий редиса (в мк) (1964 г.)

| Сорт, линия и поколение | Диаметр пыльцевого зерна ($x \pm m$) | a | c | b _{ант} |
|-------------------------|--|------|-----|------------------|
| Сорт Вировский белый | 19,16 ± 0,10 | 1,00 | 5,7 | — |
| ЛВ-42, I ₅ | 22,82 ± 0,15 | 1,62 | 7,8 | 18,7 |
| ЛВ-274, I ₇ | 20,38 ± 0,12 | 1,28 | 6,9 | 7,7 |
| ЛВ-10, I ₆ | 19,45 ± 0,06 | 0,86 | 4,9 | 2,4 |
| Сорт Сакса | 20,46 ± 0,09 | 0,90 | 4,8 | — |
| ЛС-81, I ₆ | 20,18 ± 0,12 | 1,21 | 6,6 | 2,0 |
| ЛС-67, I ₇ | 22,39 ± 0,11 | 1,15 | 6,3 | 3,4 |

Таким образом, можно видеть, что путем инбридинга получены линии, которые различаются между собою не только по количеству abortивных пыльцевых зерен, но и по размеру зерен.

Весьма интересная картина наблюдалась при анализе пыльцевых зерен у растений I_5 ЛС-81. Еще в ядрах клеток археспория обращала на себя внимание резко измененная форма ядрышек (рис. 3, а, б).

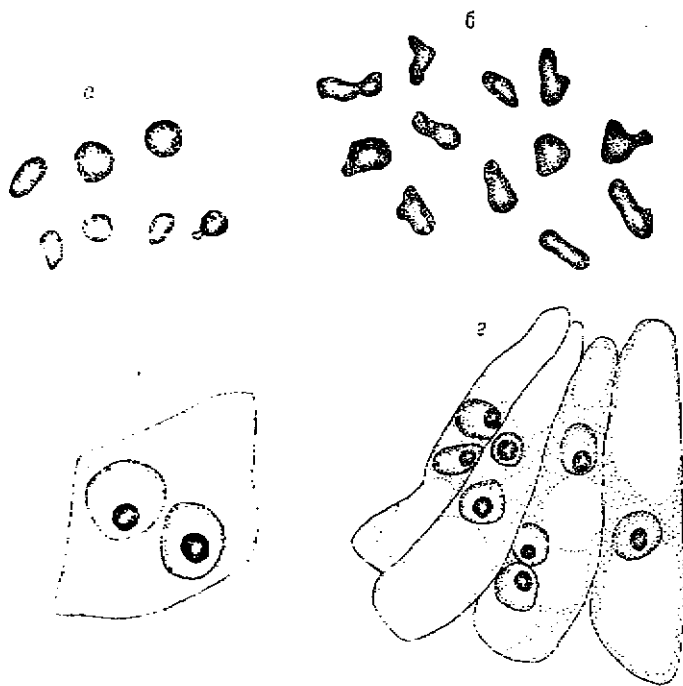


Рис. 3. Изменения формы ядрышка в клетках археспория и формы клеток тапетума у набредных линий редиса.

а — сортная популяция Варовский безны — форма ядрышка в клетках археспория (фиксатор Навашина, окраска железным гематоксилином по Гейденгайну; ук. об. К 15 х 16, Аро 90); б — I_5 ЛС-81 — форма ядрышка в клетках археспория (фиксатор Навашина, окраска железным гематоксилином по Гейденгайну; ук. об. К 15 х 16, Аро 90); в — сортная популяция Сакса — двуядерная клетка тапетума (фиксатор Навашина, окраска железным гематоксилином по Гейденгайну; ук. об. К 15 х 16, Аро 90); г — I_5 ЛС-81 — удлинённые ядра тапетума (то же стали развиты, что и у сортной популяции (фиксатор Навашина, окраска железным гематоксилином по Гейденгайну; ук. об. К 16 х 16, Аро 90)).

В сформированных бутонах, накануне распускания, зрелые пыльцевые зерна со спермиями отсутствовали: пыльники были заполнены двуядерными микроспорами, расположенными в полости пыльника не свободно, как обычно, а сплошной слипшейся массой. Генеративные ядра двуядерных микроспор окрашивались по Фельгену значительно слабее, чем у растений сорта. Клетки тапетума были необычно вытянуты и сильно вакуолизированы (рис. 3, в и г). По-видимому, в результате этих глубоких нарушений микроспорогенеза анализируемое растение линии ЛС-81 в 1962 г. при самоопылении было совершенно стерильным. В I_6 от других растений этой же линии в пыльниках наряду с двуядерными микроспорами и abortивными пыльцевыми зёрнами встречались и зрелые пыльцевые зерна со спермиями несколько измененной формы. Растение при самоопылении оказалось частично фертильным. В дальнейшем у растений I_7 данной линии двуядерных микроспор уже не обнаруживалось, а количество abortивной пыльцы уменьшалось (см. табл. 2). Несмотря на это растения были совершенно стерильны. Здесь

мы по всей вероятности столкнулись с эффектом действия отбора на хромосомную сбалансированность, который действовал в линиях параллельно с отбором на автофертильность.

При анализе пыльцевых зерен у растений других линий также были найдены значительные ненормальности. У растений I_6 ЛВ-42 обнаружено около 20% пыльцевых зерен с четырьмя порами вместо трех, обычных для пыльцевых зерен редиса, а в I_7 ЛВ-42, ЛВ-274 и ЛВ-10 хотя и не во всех бутонах, но найдены очень крупные пыльцевые зерна, количество которых составляло соответственно 0,2, 4,6 и 2,0%.

Все исследованные линии обоих сортов обладали в большинстве случаев пониженной фертильностью и особенно низкой автофертильностью (табл. 1 и 4). Линии сорта Вировский белый, несмотря на наличие изменчивости, обусловленной поколением инбридинга и условиями года, в большинстве случаев, так же как и сорт, обладают меньшей автофертильностью по обоим показателям, чем линии сорта Сакса. У таких линий, как ЛВ-42, ЛВ-274 и ЛВ-10, фертильность также резко снизилась, главным образом в I_8 и I_9 . У линии ЛС-67 она как бы стабилизировалась, хотя у нее и в I_9 продолжали еще выплывать автостерильные растения.

Таблица 4

Характеристика линий и сортов редиса по плодovitости при инбридинге и свободном опылении

| Сорт, линия и поколение | Год исследования | Завязываемость | | | |
|-------------------------|------------------|--------------------------------|-------------------------------|----------------------|--------------------|
| | | стручков на 1 растение (а + в) | | охлажда на 1 стручок | |
| | | инбридинг x, m | свободное опыление $x + m$ | инбридинг | свободное опыление |
| Вировский белый | 1962 | — | 60,2 ± 2,63 | — | 3,80 |
| | 1963 | — | 61,5 ± 2,37 | — | 3,60 |
| | 1964 | 3,5 ± 1,30 | 71,8 ± 3,69 | 2,00 | 4,16 |
| | 1965 | 0,7 ± 0,36 | 63,0 ± 2,00 | 1,25 | 4,08 |
| | | | | | |
| ЛВ-42, I_5 | 1962 | 19,7 ± 0,62 | 65,3 ± 2,38 | 1,23 | 2,33 |
| | 1963 | 11,6 ± 2,32 | 65,0 ± 3,90 | 1,93 | 2,00 |
| | I_6 1964 | 5,9 ± 1,31 | 61,9 ± 2,71 | 0,90 | 1,55 |
| | I_8 1965 | 9,1 ± 1,08 | 37,4 ± 1,82 | 0,87 | 1,51 |
| ЛВ-274, I_6 | 1962 | 14,7 ± 1,81 | 46,5 ± 2,55 | 1,36 | 2,12 |
| | I_7 1963 | 7,9 ± 1,26 | 60,8 ± 2,28 | 1,50 | 2,92 |
| | I_8 1964 | 7,6 ± 0,60 | 26,5 ± 1,01 | 1,68 | 2,46 |
| | I_9 1965 | 2,8 ± 0,47 | 31,5 ± 1,34 | 1,18 | 1,96 |
| ЛВ-10, I_5 | 1962 | 11,6 ± 1,27 | 32,2 ± 1,84 | 1,35 | 1,86 |
| | I_7 1963 | 6,6 ± 1,25 | 48,3 ± 2,53 | 1,80 | 3,47 |
| | I_8 1964 | 8,9 ± 0,86 | 60,2 ± 1,38 | 1,30 | 1,76 |
| | I_9 1965 | 1,6 ± 0,22 | 14,1 ± 0,62 | 1,02 | 1,38 |
| Сакса | 1962 | — | 83,6 ± 2,42 | — | 4,58 |
| | 1963 | — | 78,3 ± 2,23 | — | 5,17 |
| | 1964 | 11,4 ± 1,45 | 75,0 ± 1,98 | 1,83 | 4,41 |
| | 1965 | 14,3 ± 1,43 | 88,8 ± 1,28 | 2,18 | 5,56 |
| ЛС-81, I_5 | 1962 | 11,9 ± 1,50 | 48,1 ± 2,32 | 2,00 | 2,10 |
| | I_6 1963 | 25,3 ± 2,59 | 48,2 ± 2,8 | 2,46 | 1,94 |
| | I_7 1964 | 12,7 ± 1,66 | 39,1 ± 2,45 | 1,19 | 1,88 |
| | I_8 1965 | 11,9 ± 1,83 | 60,6 ± 2,72 | 1,47 | 1,78 |
| ЛС-67, I_6 | 1962 | 19,2 ± 1,84 | 53,4 ± 2,27 | 1,65 | 3,43 |
| | I_7 1963 | 1,6 ± 1,46 | 55,2 ± 1,90 | 2,11 | 3,20 |
| | I_8 1964 | 11,7 ± 1,18 | 63,9 ± 1,73 | 1,65 | 3,50 |
| | I_9 1965 | 27,5 ± 1,31 | 62,8 ± 1,41 | 2,89 | 3,34 |

Плодовитость сортов при инбридинге снижается не менее резко, чем у инбредных линий, хотя мейоз проходит у них почти нормально. Для удобства сопоставления данных о нарушениях мейоза и плодовитости эти показатели обработаны методом ранговой группировки. Путем сравнения рангов, занимаемых каждой из линий, возможно в какой-то мере выяснить характер этой зависимости. Так, данные табл. 5 показывают, что по проценту нормальной пыльцы у отдельных растений и у линии в целом наблюдается полное соответствие в рангах. Это говорит о том, что, хотя в линиях и идет расщепление по изучаемым признакам, все же наши цитологические данные, полученные на нескольких растениях, по-видимому, являются не случайными и могут характеризовать линию. То же, хотя и в меньшей степени, наблюдается и по показателям автофертильности.

Таблица 5

Показатели ранговой группировки исследованных на мейоз растений, линий и сортов редиса по проценту нормальной пыльцы и плодовитости (1962—1963 гг.)

| Сорт | Материал | Формы пыльцы | Завязываемость | | | |
|------------------|----------|--------------|------------------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| | | | строчков на 1 растение (в %) | | семян на 1 растение | |
| | | | абортивные | свободное опыление | инбридинг | свободное опыление |
| Вирровский белый | Растения | — | — | II | — | II |
| | Линия | — | VI | II | — | II |
| ЛВ-42 | Растения | VI | IV | I | II | VI |
| | Линия | VI | IV | II | VI | V |
| ЛВ-274 | Растения | IV | I | III | III | IV |
| | Линия | IV | V | VI | IV | IV |
| ЛВ-10 | Растения | III | II | VI | II | VII |
| | Линия | III | VI | VII | V | V |
| Сака | Растения | I | — | I | — | I |
| | Сорт | II | III | I | I | I |
| ЛС-81 | Растения | V | II | V | V | V |
| | Линия | V | I | V | III | V |
| ЛС-67 | Растения | VI | I | V | I | III |
| | Линия | VI | II | IV | III | III |

Что касается характера связи между нарушениями мейоза и автофертильностью, то линии в целом и отдельные цитологически исследованные растения ведут себя различно (табл. 1 и 4).

В 1963 г. самая низкая завязываемость плодов — 7,1% — отмечена у исследованного растения линии ЛВ-10, у которого было очень небольшое количество клеток с нарушениями мейоза и невысокое количество abortивной пыльцы (табл. 1). Самое низкое количество семян (1,23) наблюдалось у растения ЛВ-274 при значительном количестве нарушений мейоза и abortивной пыльцы. Однако у растения линии ЛВ-42 с такой же степенью нарушений мейоза и таким же высоким процентом abortивной пыльцы процент завязываемости плодов оказался самым высоким из всех инбредных линий сорта Вирровский белый, а количество семян — самым высоким из всех инбредных линий обоих сортов. Если у ЛВ-10 имеет место обратная зависимость между количеством нарушений мейоза и автофертильностью, то у ЛВ-274 она прямая. Линия ЛВ-10, показывающая плохую фертильность и автофер-

тельность при небольшом количестве нарушений в мейозе, возможно, обладает какими-то особыми генными различиями, приводящими к постоянному выщеплению семилеталей (Нарбут, 1966). У линии ЛС-67 при наличии небольшого количества клеток с нарушенным мейозом и небольшого количества abortивной пыльцы отмечается наиболее высокая из всех линий для 1963 г. автофертильность.

В 1964 г. у растений линий с наибольшим количеством нарушений мейоза и наибольшим количеством abortивной пыльцы отмечается полная стерильность (ЛС-81) или наиболее низкая завязываемость плодов и семян (ЛВ-42 и ЛС-67). Следовательно, здесь наблюдается прямая зависимость между автофертильностью и нарушениями мейоза. Но у линии ЛВ-274 с большим количеством нарушений мейоза и большим количеством abortивной пыльцы, чем у ЛВ-10, автофертильность оказалась выше. Таким образом, и в 1964 г., так же как и в 1963 г., у гибридных линий наблюдается то прямая, то обратная зависимость между нарушениями мейоза и автофертильностью. В 1964 г. у ЛВ-274 коэффициент корреляции между количеством abortивной пыльцы и завязываемостью стручков при инбридинге составил 0,98 ($t_{diff} = 8,9$), а в 1965 г. составил $-0,36$ ($t_{diff} = 0,95$). У ЛС-67 коэффициент корреляции между завязываемостью стручков и их осемененностью в 1964 г. был $-0,82$ ($t_{diff} = 4,3$), а в 1965 г. стал $-0,60$ ($t_{diff} = 2,5$).

Таким образом, ни методом ранговой группировки, ни вычислением коэффициента корреляции не удается подметить для всех линий четко направленную зависимость между нарушениями мейоза и автофертильностью или фертильностью: различно ведут себя не только разные линии, но и одна и та же линия в разные годы. Это одинаково справедливо для установления корреляции между количеством abortивной пыльцы и завязываемостью стручков или между завязываемостью стручков и осемененностью их. Все это, по-видимому, объясняется чрезмерной изменчивостью, вызываемой расщеплением по признакам гаметофита, которое продолжается в линиях в поздних поколениях инбридинга даже в I_9 , и подверженностью изучаемых признаков сильному модифицирующему влиянию внешних условий.

Итак, результаты проведенного исследования показывают, что для растений инбридных линий редиса характерно наличие микроспороцитов с нарушенным мейозом. Эти нарушения в основном сходны с описанными ранее для других культур (Lamm, 1936; Кахидзе, 1939; Sybenka, 1958; Clark, 1942; Zecsev, 1961). Исключение составляют картины, изображенные на рис. 1, б, которые не встречались нам в литературе. Наблюдаемая в метафазе II связь между двумя бивалентами из обеих групп хромосом возникает, по-видимому, благодаря ассоциации хромосом одной пары, вызванной частичной гомологией их участков.

Судя по характеру обнаруженных нами нарушений в мейозе и основываясь на литературных данных (Müntzing, 1952), можно полагать, что повышение частоты аномального поведения хромосом в мейозе при инбридинге вызвано ослабленной конъюгацией на ранних стадиях и структурными изменениями хромосом. Последние, как отмечает Н. Т. Кахидзе, появляются при инбридинге в результате определенных генотипических комбинаций, обусловленных переходом в гомозиготное состояние структурно измененных хромосом.

Часть нарушений мейоза приводит к образованию abortивной пыльцы, процент которой иногда бывает весьма значительным. Однако, как мы видели, abortивная пыльца всегда обнаруживается (напротив, у сорта «Костюк» с нарушенным мейозом, за некоторыми исключениями ЛВ-42 в I_9 и ЛВ-274 в I_7 , сорт Сакса в 1964 г.). Но эти нарушения, по-видимому, так варьированием числа клеток

с нарушенным мейозом в разных бутонах, так и чисто случайными причинами, например меньшим количеством исследованных бутонів со стадиями мейоза, чем количество бутонів, в которых просматривалась пыльца. Высокий процент нарушений мейоза в I_7 ЛВ-274 объясняется, по-видимому, именно этими причинами (см. табл. 1). Бóльший процент abortивных пыльцевых зерен по сравнению с микроспорами, имеющими нарушения в мейозе, объясняется, вероятно, во-первых, тем, что в мейозе нами учитывались только крупные нарушения, между тем мелкие нарушения могли иметь не меньшее значение для качества пыльцы, и, во-вторых, abortивность пыльцы могла быть вызвана не только нарушениями мейоза, но и изменениями другого рода, имеющими место при инбридинге, в частности нарушением функций клеток тапетума и характера их взаимодействия с развивающимися пыльцевыми зёрнами. Изменение морфологии клеток тапетума у ЛС-81 в I_5 и формы ядрышка в клетках археспория делают такое предположение очень вероятным. Кроме того, может быть и третья причина, связанная с наличием в линиях генов, не влияющих на течение мейоза, но нарушающих развитие пыльцевых зерен или функционирование гамет.

Инбредные линии характеризуются значительно большей изменчивостью в количестве abortивной пыльцы, чем сорта, что указывает на продолжательность в них расщепление. У исходных сортов изменчивость по этому признаку невысокая. Самый большой размах варьирования в количестве abortивной пыльцы у наименее изменчивого в этом отношении сорта Свекла составил в 1964 г. 1,9—16,4%, в то время как у линии ЛВ-274 с наименьшим размахом изменчивости из всех линий он колебался в пределах 9,5—29,6% (см. табл. 2).

Инбредные линии различаются между собою по количеству abortивных пыльцевых зерен. Эти различия носят явно генотипический характер. Так, независимо от года исследования у каждой из линий резко очерчена граница размаха варьирования процента abortивной пыльцы (см. табл. 2), что указывает на ту или иную степень хромосомной сбалансированности растений данной линии. Особенно выделяется при этом ЛВ-42, у которой часть растений из года в год образует 80,3—99,2% abortивной пыльцы, хотя в 1964 г. эта линия была представлена растениями I_7 , но по большинству морфологических признаков она являлась довольно константной.

Как мы уже отмечали, спермии зрелых пыльцевых зерен у ЛВ-42 в I_7 более бледно окрашивались по Фельгену (то же наблюдалось у ядер тетрад, одноядерных микроспор и спермиев другой инбредной линии — ЛС-81 в I_5 , I_6). Подобные случаи известны в литературе. В работе А. Мюнцинга и С. Акдика (Müntzing a. Akdik, 1948), исследовавших микроспорогенез шести поколений инбредных линий ржи, обнаружено более слабое окрашивание мейотических хромосом у инбредных линий ржи кристалл-виолеттом и по Фельгену, начиная с I_3 ; в нашей работе это было обнаружено ранее для спермиев зрелых пыльцевых зерен и еще у одной инбредной линии редиса: ЛВ-269 в I_7 при окраске по Фельгену (Полякова и др., 1967). Это явление, по-видимому, не случайно, хотя причины, вызывающие его, пока не ясны. Может быть, здесь имеет место уменьшение содержания ДНК, как предполагают Мюнцинг и Акдик, а может быть, изменение степени ее деполимеризации или спирализации. Спермии с ослабленной окраской, возможно, менее жизнеспособны, чем и может объясняться низкая автофертильность ЛВ-42 в 1964 г. Полное отсутствие завязывания плодов в том же году у ЛС-81 можно объяснить двумя причинами: с одной стороны, тем, что у ЛВ-42, т. е. более бледным окрашиванием спермиев, а с другой — прекращением развития пыльцевых зерен на стадии дву-

ядерных микроспор. Эта ненормальность микроспорогенеза, насколько нам известно, еще не описана в литературе по инбридингу. Интересно, что для этой линии вообще характерны некоторые нарушения процессов дифференциации в морфогенезе.

Таким образом, пониженная автофертильность инбредных линий может быть связана с качеством спермиев, что обнаруживается по ослабленной реакции Фельгена и с прекращением в развитии пыльцевых зерен. Что же касается нарушений мейоза при микроспорогенезе, то они не оказывают прямого влияния на автофертильность и общую фертильность. Результаты наших исследований находят себе подтверждение в литературе (Chung Fu Cheng, 1946; Nilsson, 1933; Nath a. Nielsen, 1961). То, что у растений сортов с более или менее нормальным ходом мейоза при инбридинге резко снижается автофертильность, говорит о том, что большее значение при этом имеют гены гаметофитного действия, обуславливающие конкурентную способность пыльцевых трубок.

Итак, хотя нарушения мейоза часто находятся в непосредственной связи с семенной продуктивностью, у инбредных линий между нарушениями мейоза при микроспорогенезе и пониженной автофертильностью прямой зависимости не наблюдается. Причину этого, по-видимому, можно видеть в том, как на это указывает и Ф. Нильсон (1933), что у инбредных линий, несмотря на значительное количество abortивной пыльцы, функционирующих пыльцевых зерен вполне достаточно для оплодотворения.

Следовательно, на автофертильность при инбридинге, по-видимому, скорее должны оказывать влияние другие факторы: во-первых, нарушения мейоза при макроспорогенезе и, во-вторых, гаметофитные факторы, определяющие общее количество функционирующих семязпочек.

ВЫВОДЫ

1. У растений разных поколений инбредных линий редиса (I_5-I_9) обнаружено значительное количество микроспороцитов с нарушенным мейозом, в ряде случаев достоверно превышающее таковое у исходных сортов. Характер нарушений в большинстве случаев тот же, который описан в литературе по инбридингу для других культур (наличие унивалентов, мостов и фрагментов).

2. У одной из инбредных линий — ЛС-81 в I_5 отмечено прекращение в развитии пыльцевых зерен на стадии двуядерных микроспор, при этом ядро генеративной клетки более бледно окрашивалось по Фельгену по сравнению с сортовой популяцией. Одновременно наблюдалось резкое изменение формы ядрышек в клетках археспория и сильное вытягивание и вакуализация клеток тапетума.

3. Обнаружено более бледное окрашивание по Фельгену спермиев зрелых пыльцевых зерен у инбредных линий в I_7 ЛВ-42 и в I_6 ЛС-81 и ядер тетрад и одноядерных микроспор в I_5 ЛС-81.

4. Инбредные линии различаются между собой как по количеству микроспороцитов с нарушенным мейозом, так и по количеству abortивных пыльцевых зерен. Эти различия имеют генотипический характер. Abortивной пыльцы у растений инбредных линий образуется больше, чем у растений сортовых популяций. Отмечена несколько большая изменчивость инбредных линий по содержанию abortивной пыльцы и величине пыльцевых зерен в сравнении с исходными сортами.

5. Количество abortивных пыльцевых зерен у всех инбредных линий значительно больше, чем микроспороцитов с нарушенным мейозом.

6. Несмотря на стабильность многих признаков спорофита у инбредных линий в I_5 — I_9 , отмечено значительное расщепление по признакам гаметофита, выразившееся в высокой изменчивости количества abortивной пыльцы.

7. Показано, что у инбредных линий между нарушениями мейоза при микроспорогенезе и пониженной автофертильностью прямой зависимости не наблюдается, а также не наблюдается четко направленной корреляции между количеством abortивной пыльцы и автофертильностью.

8. Автофертильность у растений сортовых популяций, характеризующихся более или менее нормальным протеканием мейоза и небольшим количеством abortивной пыльцы, не выше, чем у растений инбредных линий.

ЛИТЕРАТУРА

- Халидзе Н. Т. 1959. ДАН СССР, 25, 1: 69—71.
Лобашев М. Г. 1965. Журн. общ. биол., 26, 5: 513—520.
Чарбут С. Н. 1961. Тез. докл. на междунар. конф. по экспер. генетике. Изд. ЛГУ, 1: 113.
Чарбут С. Н. 1966. Генетика, 5: 89—100.
Полякова Т. Ф., Ч. Н. Чарбут, Т. Н. Кожина. 1967. «Генетика», 4: 157—160.
Chung F. C. 1942. J. E. Agr. Soc. of Agron., 38, 10.
Clark F. J. 1942. Jour. Agr. Exper. Sta. Bull., 279: 705—726.
Lamm R. 1956. Hereditas, 22, 1—2: 217—230.
Nath J. and E. Nielsen. 1961. Amer. J. Bot., 48, 9: 772—777.
Nielsen B. 1955. Bot. Notiser, 4: 6: 561—576.
Müntzing A. 1952. Acta Gen. et Cl. Sc. Upsal. Sect. I. Verh. d. Soz. Anthropol. und Rassenhygiene. Erg. Landw. Biol., 20: 173—176.
Müntzing A. and S. Ahlén. 1948. Hereditas, 34: 485—509.
Sybenga J. 1958. Zs. f. Vererb., 89: 338—351.
Zecevic L. 1961. Zbornik radova sestr. Instit. N. R. Srbija, Beograd, 5: 1, 43.