

Е. М. ВЕРМЕЛЬ, К. П. СОЛОВОВА

## ИСКУССТВЕННЫЙ ДИПЛОИДНЫЙ ПАРТЕНОГЕНЕЗ У ЦВЕТКОВЫХ РАСТЕНИЙ

(Представлено академиком Б. Л. Астауровым 1 IX 1972)

Явление девственного развития, или партеногенеза, как естественный процесс наблюдается в цикле развития многих организмов. У растений в природе широко распространено явление апомиктического размножения, являющееся эквивалентом естественного партеногенеза животных и протекающее на основе весьма разнообразных цитогенетических механизмов.

У животных уже давно удалось получить экспериментально также искусственный партеногенез, т. е. развитие зародыша, а в ряде случаев и половозрелых особей, из неоплодотворенных яиц с сохранением (в результате подавления редукции числа хромосом) или восстановлением (после редукции) исходной диплоидности в соматических клетках. В первом случае (подавление редукции) партеногенез носит название апомиктического или амеиотического, поскольку яйцеклетка развивается без слияния гамет и не проходит нормального мейоза. Примером успешного амеиотического партеногенеза может служить искусственный термический партеногенез, полученный у тутового шелкопряда Б. Л. Астауровым (1). У животных известен и второй тип диплоидного партеногенеза, так называемый аутомиктический, при котором диплоидность восстанавливается после мейоза путем слияния гаплоидных ядер в ходе созревания или после первого деления дробления. Последнее показано для случаев естественного рудиментарного партеногенеза тутового шелкопряда (1) и для индюшек (2). В подобном случае все пары хромосом будут, конечно, изогенны.

Оба типа искусственного партеногенеза растений (апомиктический и аутомиктический) могли бы представить большой интерес для селекции, поскольку в первом случае должна константно сохраняться исходная гетерозиготная конституция и наблюдаться перманентный гетерозис, а во втором случае все возникшие организмы должны быть гомозиготными по всем своим свойствам, создавая идеально гомозиготные чистые линии. Об этом уже давно говорили и писали, в частности, М. С. Навашин (6, 7). Н. И. Вавилов (4) и др., однако до сих пор методы индукции искусственного партеногенеза у растений разработаны не были. Такие опыты очень трудны, ибо зародышевый мешок, а тем более яйцеклетка всегда лежат глубоко в ткани завязи. Даже выделить и рассмотреть живую яйцеклетку цветковых растений крайне трудно, если не невозможно. Поэтому мы пошли по пути подыскания химического агента, обладающего высокой проникаемостью и реактивностью, но вызывающего лишь обратимые изменения протопласта. Таким веществом является ДМСО — диметилсульфоксид (3). Мы рассчитывали, что ДМСО, проникая в глубь завязи, окажет на зародышевый мешок и на яйцеклетку раздражающее воздействие и вызовет явление, аналогичное кортикальной реакции, хорошо изученной у животных (5); тем самым будет дан толчок, побуждающий неоплодотворенное яйцо вступить на путь развития.

Нашим основным объектом изучения была черная смородина, сорт Хлудовская, являющаяся гибридом между *Ribes nigrum* var. *euroaeum*, *R. nigrum* var. *sibiricum* и *R. dikuscha* F. (8). Столь сложный гетерозигот

был взят с тем, чтобы в партеногенетическом поколении получить значительную изменчивость, стойкую генетически в последующих поколениях.

Дополнительно были поставлены опыты на еще нескольких видах растений. Успешными оказались опыты на томатах *Solanum esculentum*, сорт Белый палив, и огурцах *Cucumis sativum*, сорт Грибовские II. Для ряда испытанных нами сортов малины и земляники нам пока еще не удалось найти условия получения партеногенетического развития.

Техника опытов очень проста. Сначала все цветки еще до раскрытия околоцветника кастрировали путем удаления незрелых пыльников и на них тотчас надевали пергаментные изоляторы. Через 1—3 дня, когда можно было считать, что завязи уже созрели, на них накладывали ватку с раствором ДМСО или же весь бутон опрыскивали раствором из распылителя. После этого все цветы вновь закрывали на 10—14 дней изолятором. Наиболее эффективными оказались 0,2—1,0% растворы ДМСО. Опыты на черной смородине с успехом были поставлены уже трижды: летом 1970, 1971 и 1972 гг. Завязывание партеногенетических плодов зависело от ряда условий: прежде всего от концентрации ДМСО и степени зрелости завязи, а также от погодных условий. Процент завязывающихся плодов под влиянием ДМСО в оптимальных условиях был обычно довольно высоким. Количественно его выражать пока следует для каждого опыта отдельно, но в среднем, в случае удачи, он достигал 20—40%.

В 1970 г. в контрольном опыте 12 кастрированных цветков были обработаны дистиллированной водой. При этом образовалась всего одна ягода. Этот факт не является ошибкой в технике опыта. По нашему мнению, он только подтверждает склонность черной смородины к апомиксису. Из этой единственной ягоды осенью было извлечено 2 крупных семени неправильной формы и 8 явно дефектных семян.

В том же году 0,1—10% растворами ДМСО было обработано около 200 бутонов. Зрелых ягод было получено 26, из них извлечено 255 семян, причем визуально полноценными оказалось 109. Для того чтобы сопоставить результаты опытов индукции партеногенеза с нормальным процессом формирования ягод при принудительном самоопылении цветков, были сделаны просчеты числа семян в ягодах размером 6—13 мм. 62 ягоды, полученные самоопылением, содержали в среднем по 28 семян, а ягоды того же размера, образовавшиеся после воздействия ДМСО,— всего по 9—12 семян, т. е. в 2—3 раза меньше. Число полноценных семян во всех случаях оставалось примерно одинаковым (около 50%).

Семена сбора 1970 г. в числе 109 после стратификации были высеяны в ящик 12 IV 1971 г. С 4 по 8 мая появилось 46 проростков, а с 20 по 22 мая еще 18. Всего проросло 64 растения или 58,7% от визуально полноценных семян. Два контрольных семени, полученных после обработки бутонов водой, проросли 18 мая. Отметим, что всхожесть семян черной смородины сорта Хлудовская от самоопыления достигала в 1971 г. 36%, т. е. была даже ниже, чем семян, полученных после обработки цветков ДМСО.

Пикировка всех сеянцев в грунтовые гряды проводилась в фазе 2—3 persistent листочков, а в сентябре 1971 г. они были пересажены на маточный участок. Из 64 растений было пересажено 57, тогда как 7, достигнув высоты 1—2 см, погибли (очевидно, это были растения с гомозиготными полуплетальными генами). Остальные растения имели высоту от 20 до 30 см (максимально 50 см); 66% растений имели кустовую форму и росли от корневой шейки в 2—5 стеблей, 34% имели только один стебель. Малоснежную холодную зиму 1971—1972 гг. растения перенесли хорошо, и ни одно из них не погибло.

Особенно важно то, что растения партеногенетического происхождения резко отличаются друг от друга по форме и характеру листьев. У разных растений мы находили листья от острых, стоящих «лодочкой», сильно морщинистых, характерных для *R. dikuscha* F., до почти гладких, с круглыми зубчиками, вышуклой средней жилкой и обвисающими краями, характер-

ных для представителей подвидов *R. nigrum* L. Вырезы на листьях и пропорции листа также очень различны. Как известно, форма листьев и их стросние, а также кущение сеянцев зависят прежде всего от генотипа организма.

Возможность получения партеногенеза воздействием ДМСО мы проверяли, как уже было сказано, на томатах. Опыт с томатами был поставлен 14—18 VII 1971 г. Растворы ДМСО наносили на завязи через 2—4 дня после кастрации, когда околоцветники окрасились в желтый цвет; затем цветки были вновь закрыты изоляторами. В ~40% случаев начали формироваться плоды; по скорости развития они не отличались от опыленных. 3—4 плода достигли крупных размеров и весили 30—70 г. Их пришлось снять, так как вся плантация погибала от поражения грибом. При вскрытии плодов установлено, что их строение и семена были нормальными.

Особенно важным нам представлялось получить эффект на раздельнополых цветках огурцов. Опыты проводили в феврале—марте 1972 г. в теплицах московского совхоза «Тепличный». Хотя во время постановки опытов насекомых-опылителей (ульи пчел) в теплицах не было, все женские цветки еще до их раскрытия были закрыты изоляторами. Лучшие результаты дали 0,75—1,0% растворы ДМСО, нанесенные на цветок тотчас после его раскрытия. Были получены 15—20 плодов нормальных размеров. Один из них был оставлен до полного созревания; он достиг длины 21 см при диаметре 24 см и весил 550 г. Из него извлечено 242 вполне зрелых семени (в том числе визуально дефектных 6). Семена высеяны и дали нормальные плодоложающие растения. Таким образом, получение искусственного партеногенеза воздействием ДМСО на примере однополых женских цветков может считаться несомненным.

Механизм партеногенеза под влиянием ДМСО должен быть, конечно, еще детально изучен эмбриологически, однако предположение, что полученные формы гаплоидны, отпадает уже по одному тому, что все растения имеют нормальные размеры и энергично развиваются; цитологический анализ корешков подтвердил их диплоидность\*. Очень маловероятен апомиктический (амейотический) диплоидный партеногенез, ибо партеногенетические потомки первого поколения очень разнообразны, а не повторяют по фенотипу материнский организм. То же соображение говорит и против возможности адвентивной эмбрионии, как особого типа вегетативного размножения. Аутомиктический диплоидный партеногенез путем слияния женского пронуклеуса с ядром «полоцита» (у растений макрогаметы) в данном случае также нереален, поскольку все 3 оставшиеся макрогаметы к этому моменту должны были дегенерировать и не могли пройти фаз деления ядер зародышевого мешка.

Можно думать, что под влиянием ДМСО диплоидность восстанавливается либо аутомиктически путем редупликации хромосом с последующим воссоединением их при первом делении дробления гаплоидной макрогаметы, либо зародыш берет свое начало от диплоидного центрального ядра зародышевого мешка, дающего, таким образом, начало не только эндосперму, но и новому организму. В этом случае все пары хромосом также будут изогенны, т. е. возникнет организм, гомозиготный по всем признакам. В пользу аутомиктического партеногенеза говорит большое разнообразие партеногенетического поколения, что мы наблюдали на примере черной смородины. Количественные соотношения фенотипов по каждой паре доминантных и рецессивных аллелей по понятным причинам будут равны 1:1.

Таким образом, экспериментально показано, что воздействие слабыми растворами диметилсульфоксида (ДМСО) на зародышевый мешок завязи черной смородины, томатов и огурцов в значительном числе случаев ведет к партеногенетическому развитию с образованием полноценных семян, дающих начало диплоидным растениям.

\* Просмотреть срезы корешков взяли на себя труд М. С. Навашин и Н. П. Чувашина, за что мы им очень благодарны.

Следует думать, что аналогичным путем, подобрав условия, можно получить партеногенез и у других цветковых.

Механизм партеногенеза, по всей вероятности, является аутомиктическим, что обеспечивает изогенность всех пар хромосом, а следовательно, и гомозиготность растений по всем признакам. Это дает возможность получать чистые линии в первом же партеногенетическом поколении и отбирать для дальнейшего размножения особи с желаемыми признаками и свойствами.

Институт научной и технической информации  
Академии наук СССР  
Москва

Поступило  
8 VII 1972

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

<sup>1</sup> Б. Л. Астауров, Искусственный партеногенез у тутового шелкопряда, «Наука», 1940. <sup>2</sup> Б. Л. Астауров, Ю. С. Демин, Онтогенез, 3, № 2 (1972). <sup>3</sup> Б. М. Банщиков, А. И. Тенцова, Н. С. Ажгихин, Фармация, 16, № 4 (1967). <sup>4</sup> Н. И. Вавилов, Избр. тр., 5, 1960. <sup>5</sup> А. С. Глизбург, Оплодотворение у рыб и проблема полиспермии, «Наука», 1968. <sup>6</sup> М. С. Навашин, Семеповодство, 14, № 2 (1933). <sup>7</sup> М. С. Навашин, Бот. журн., 19, № 4 (1934). <sup>8</sup> К. П. Соловова, В сборн. Химический мутагенез и создание селекционного материала, «Наука», 1972.