

ЦИТОЛОГИЯ

Е. Г. СИМОНЯН

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА ОПЛОДОТВОРЕНИЯ
ПОДСОЛНЕЧНИКА ПРИ ОПЫЛЕНИИ УТРОМ И ВЕЧЕРОМ

Процесс оплодотворения, начиная от момента прорастания пыльцы на рыльце до слияния ядер половых клеток, у сложноцветных проходит очень быстро. У многих других покрытосеменных промежуток времени между моментом опыления и слиянием гамет значительно больший, колеблется от нескольких часов до нескольких недель и даже месяцев.

Исследования ряда авторов показывают, что успех оплодотворения зависит от условий опыления, а также от качества пыльцы [1,2,7]. Е. Н. Герасимова [6] установила, что оплодотворение (объединение гамет) у *Steris capillaris* в условиях Москвы при температуре 19—20°C, как правило, наступает через 30—35 минут после опыления.

В более сухом и жарком климате Казахстана (Алма-Ата) при более высокой температуре (25—30°) цветки тех же растений цветут всего один день, и слияние гамет наступает уже через 15—20 минут после опыления [7].

Это определение промежутка времени между опылением и слиянием гамет у *Steris* совпадает с тем, которое приводят В. Поддубная-Арнольди и В. Дианова [9] для кок-сагыза в Кегенском районе Казахстана, где, по их наблюдениям, объединение гамет наступало тоже через 15 минут после опыления.

Е. И. Устинова [11] показала, что у подсолнечника при опылении смесью пыльцы ускоряются все процессы по сравнению с тем, когда опыление производится однородной пыльцой своего сорта.

Г. К. Бенецкая [1,2] установила, что в варианте опыление смесью пыльцы своего растения и растения другого сорта оплодотворение и развитие зародыша и эндосперма протекает несколько иначе, чем в двух вариантах опыта (опыление пыльцой растения своего сорта с предварительным удалением своей пыльцы, опыление смесью пыльцы своего растения и растения своего сорта и др.). В этом варианте пыльцевая трубка изливает свое содержимое в зародышевый мешок, и мужские гаметы сливаются с яйцеклеткой и ядром центральной клетки зародышевого мешка раньше, чем в приведенных выше других вариантах.

Из сказанного следует, что скорость и успех оплодотворения зависят от качественного состава пыльцы и от условий, сопутствующих этому процессу.

Исходя из этого положения, нами был поставлен опыт с опылением и фиксацией пестиков подсолнечника днем и ночью. Целью настоящего исследования явилось выяснение скорости процесса оплодотворения в различное время суток.

В опыте было взято два сорта подсолнечника: Болгария с белыми семянками (мать) и Фуксинка-62 с черными семянками (опылитель). Для исследования поставленного вопроса было проведено опыление пыльцой растения другого сорта с предварительным удалением своей пыльцы.

Опыт проводился следующим образом: за несколько дней до раскрытия корзинки подсолнечника покрывались матерчатыми изоляторами. Под изолятором происходило раскрытие язычковых цветков корзинки, за которыми раскрывались и трубчатые цветки в трех—четырёх наружных рядах соцветия. Пинцетом удалялись закрытые цветки средней и внутренней зоны корзинки. Пыльца удалялась с цветков сначала встряхиванием корзинки, а затем смывалась струей воды из пульверизатора. После смывания пыльцы на корзинку вновь одевался изолятор до полного высыхания цветков. Когда лопасти рылец разъединялись и принимали горизонтальное положение приступали к опылению. Опыление производилось в 9 часов утра и 9 часов вечера. Пыльца наносилась на рыльца мягкой кисточкой. Фиксация семяпочек производилась: через 30 мин., 40 мин., 50 мин., 1 час., 1 ч. 10 м., 1 ч. 20 м., 1 ч. 30 м., 1 ч. 40 м., 1 ч. 50 м., 2 ч., 2 ч. 30 м., 3 часа, 24 часа после вечернего опыления и через 40 мин, 50 мин, 1 час., 2 ч., 3 ч., 24 ч. после утреннего опыления. Материал фиксировался смесью Навашина; парафинированный материал резался на микротоме толщиной в 18—20 микронов: препараты окрашивались железным гематоксилином по Гейденгейну и по Фельгену. Но так как на нашем материале лучшие картины получались при окрашивании железным гематоксилином, то в работе приводятся рисунки с препаратов, окрашенных этим способом.

До излияния содержимого пыльцевой трубки в зародышевый мешок в его микропиллярной части можно наблюдать картины, описанные на том же объекте С. Г. Навашиным [8], Г. К. Бенецкой [1,2] и другими исследователями. На наших препаратах также хорошо видны: яйцеклетка грушевидной формы, ядро центральной клетки зародышевого мешка, расположенное непосредственно под яйцеклеткой и синергиды (рис 1—3)*.

В опыте с дневной фиксацией нами установлено, что пыльцевые трубки изливают свое содержимое в зародышевый мешок у подошного сорта через 50 минут после опыления (рис. 4).

* Рисунки сделаны при помощи рисовального аппарата Аббе с увеличением об. 40 X ок. 7.

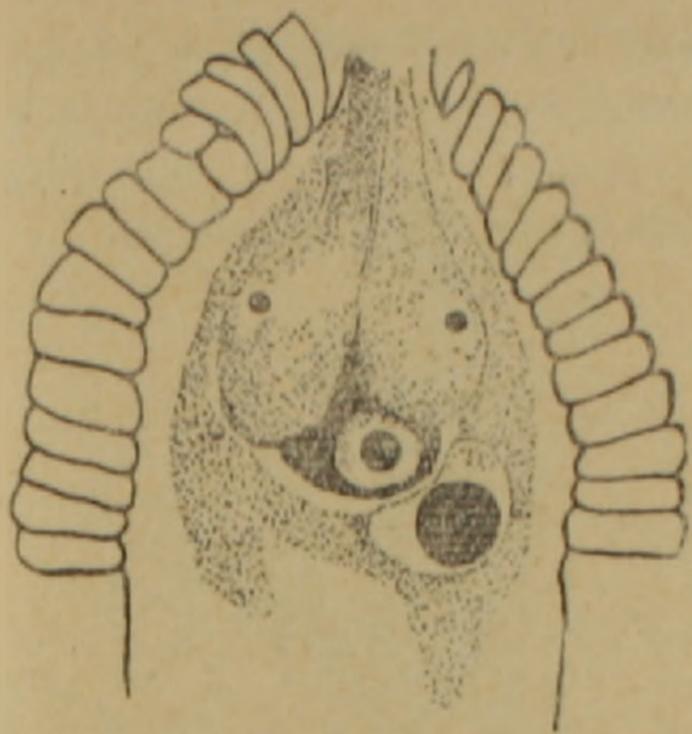


Рис. 1. Верхняя часть зародышевого мешка через 50 мин. после опыления до излияния в него содержимого пыльцевой трубки. Видны нижняя часть яйцеклетки, синергиды и ядро центральной клетки зародышевого мешка (ночное опыление).

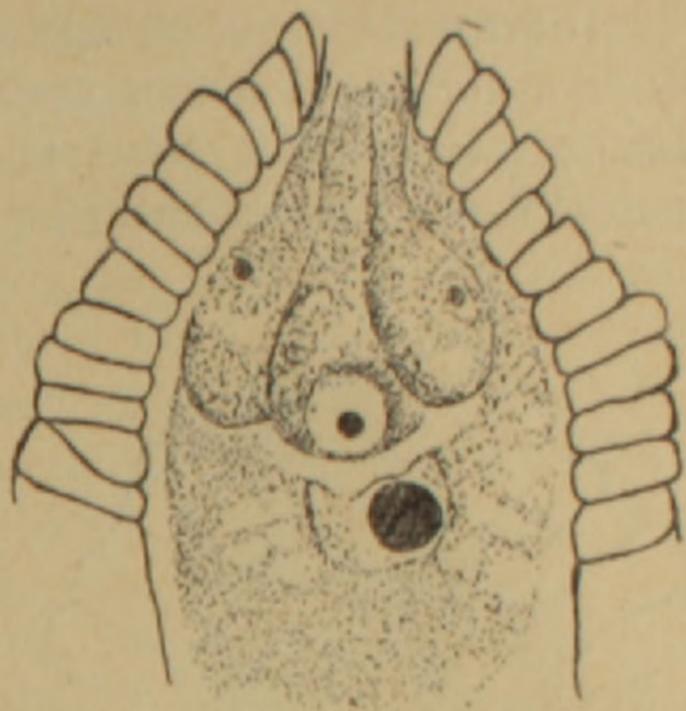


Рис. 2. Верхняя часть зародышевого мешка через 1 час после опыления до излияния в него содержимого пыльцевой трубки. Видны нижняя часть яйцеклетки с ядром, синергиды и ядро центральной клетки зародышевого мешка (ночное опыление).

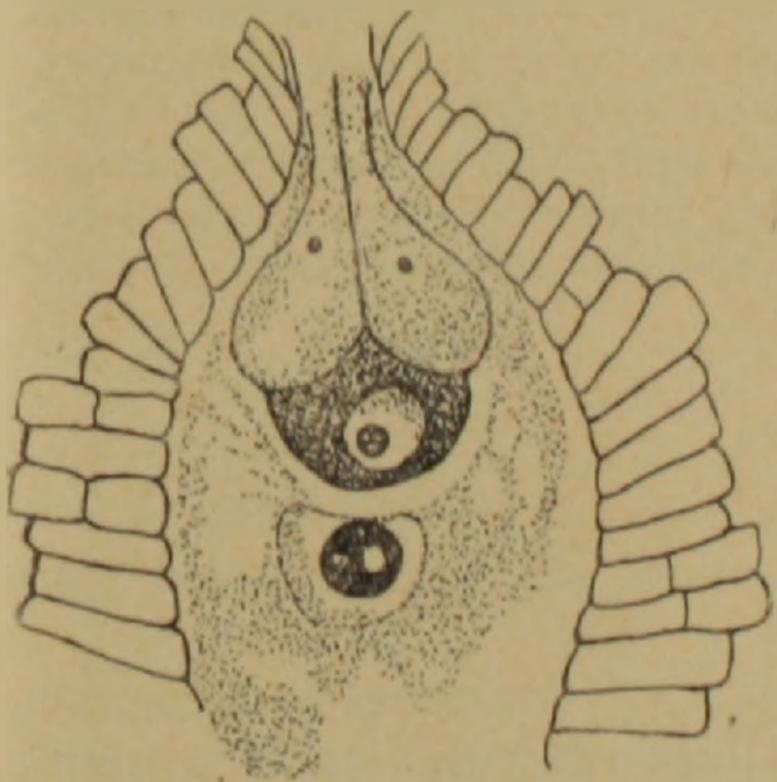


Рис. 3. Верхняя часть зародышевого мешка через 2 часа после опыления. Видны нижняя часть яйцеклетки, синергиды и ядро центральной клетки зародышевого мешка (ночное опыление).

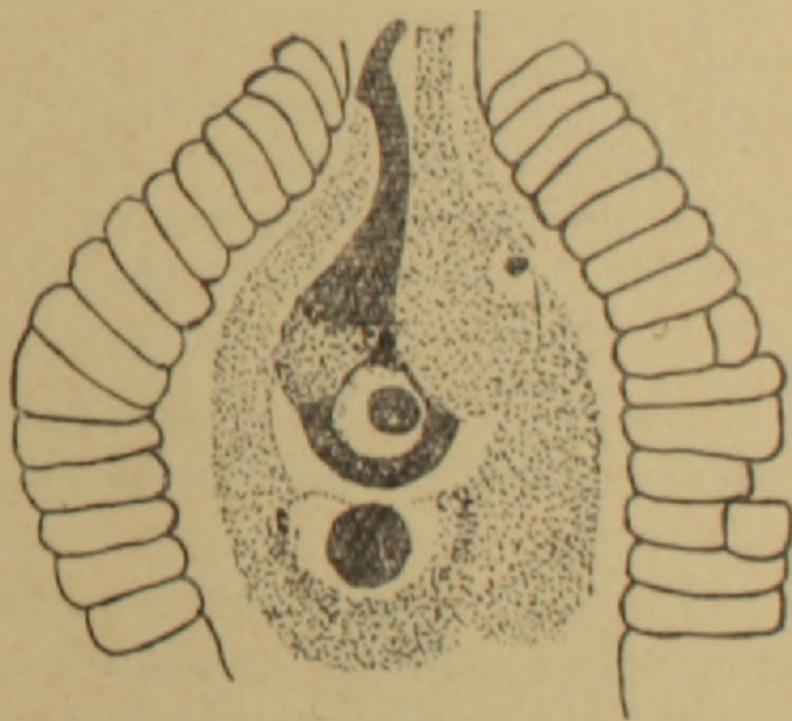


Рис. 4. Верхняя часть зародышевого мешка через 50 мин. после опыления. Видна яйцеклетка с ядром; слева — помутневшая синергида, справа — неизменная синергида. Ниже яйцеклетки ядро центральной клетки зародышевого мешка (дневное опыление).

Г. К. Бенецкая [1] на сорте Фуксинка-62 в тех же условиях наблюдала излияние содержимого пыльцевой трубки в зародышевый мешок через 1—1 час 15 мин. после опыления.

По всей вероятности, это явление можно объяснить сортовыми различиями, ибо эти два сорта, как нами было замечено, и в других отношениях ведут себя различно.

Пыльцевые трубки при опылении и фиксации семяпочек подсолнечника ночью изливают свое содержимое в зародышевый мешок не раньше, чем через 2 часа после опыления. А через 2 часа 30 мин. после опыления мы видели спермии в зародышевом мешке (рис. 5, 6).

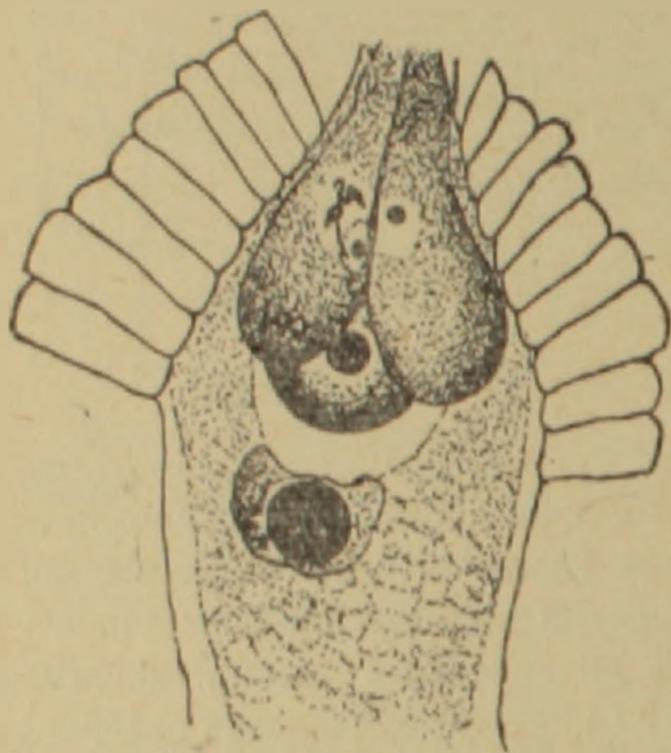


Рис. 5. Верхняя часть зародышевого мешка через 2 часа 30 м. после опыления. Видна нижняя часть яйцеклетки; над яйцеклеткой — неизменные синергиды, на одной из них (левой) находятся два спермия. Ниже яйцевого аппарата расположено ядро центральной клетки зародышевого мешка (ночное опыление).

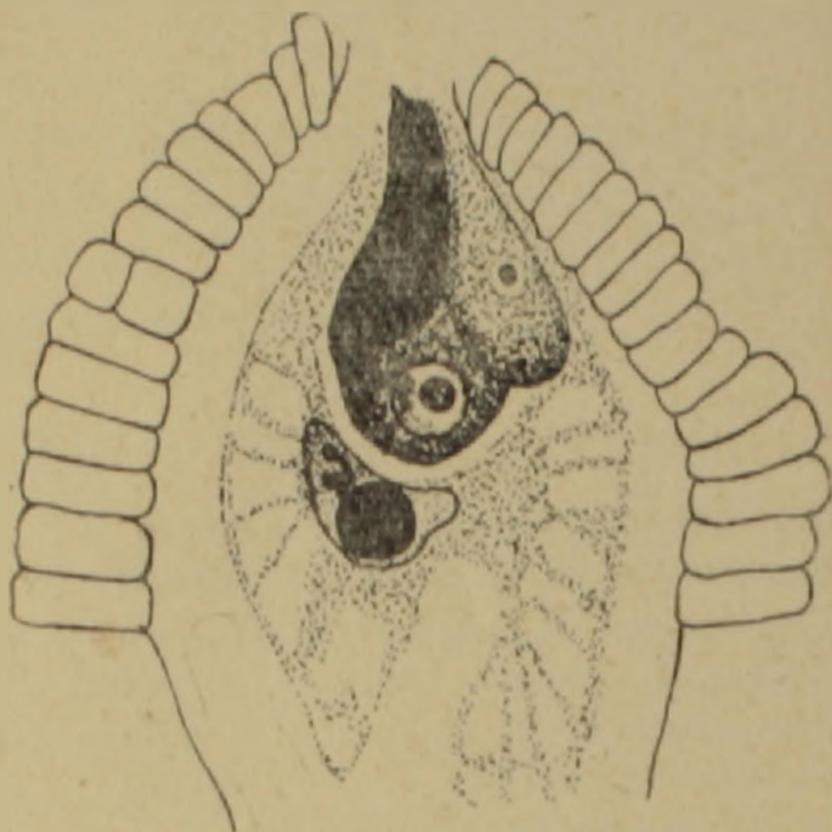


Рис. 6. Верхняя часть зародышевого мешка через 2 часа 30 м. после опыления. Слева над яйцеклеткой находится помутневшая синергида. В ядре зиготы и в ядре центральной клетки зародышевого мешка видно по одному скплению массы хроматинового вещества (ночное опыление).

На рис. 5 показана верхняя часть зародышевого мешка, в котором видны обе неизменные синергиды, на одном из которых лежат два спермия.

Известно, что цитоплазма пыльцевой трубки, излившаяся в зародышевый мешок, окрашивается железным гематоксилином в темный цвет и одна или даже обе синергиды сжимаются и темнеют. Однако в данном случае, несмотря на то, что пыльцевая трубка доросла до зародышевого мешка и спермии, принесенные ею, проникли в него, содержимое пыльцевой трубки не разлилось в зародышевый мешок, и синергиды остались неповрежденными.

Подобно некоторым другим авторам [1, 2, 10—14], нами констатирован факт изливания содержимого нескольких пыльцевых трубок в зародышевый мешок. Из просмотренных 250 препаратов обоих вариантов явление диспермии установлено лишь в одном случае. Очевидно, как указывает Е. И. Устинова [11—13], диспермия и полиспермия чаще всего наблюдаются при опылении обильным и разнообразным количеством пыльцы.

Через 1 час после опыления при дневной фиксации на нашем материале спермии находятся в цитоплазме яйцеклетки. Между яйцеклет-

кой и ядром центральной клетки зародышевого мешка виден другой спермий; он проектируется на яйцеклетку (рис. 7). Через 2 часа после

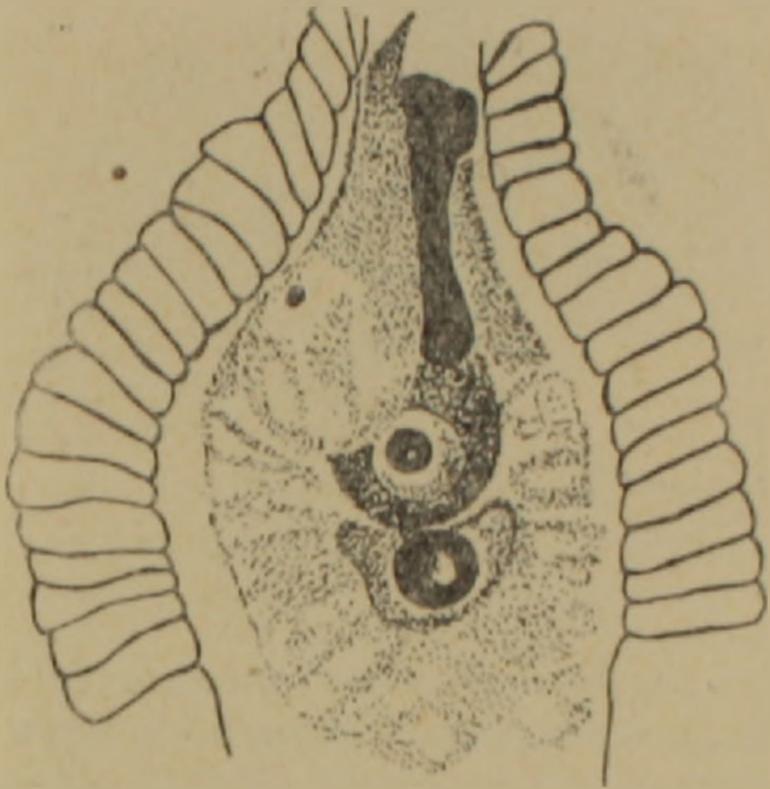


Рис. 7. Верхняя часть зародышевого мешка через 1 ч. после опыления. Справа помутневшая синергида; под синергидами — яйцеклетка, в плазме которой находится спермий (дневное опыление).

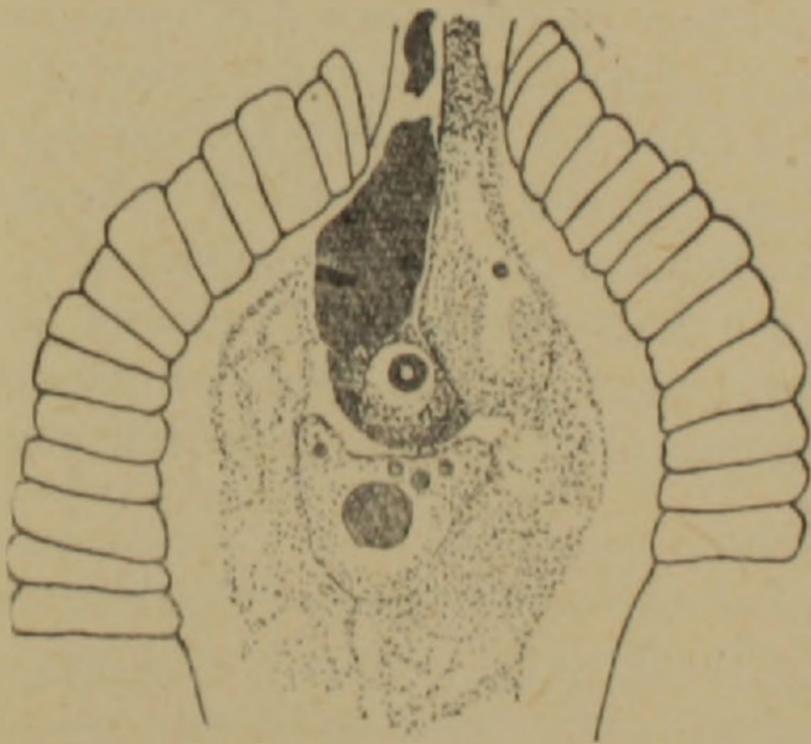


Рис. 8. Верхняя часть зародышевого мешка через 2 часа после опыления. Видна яйцеклетка, в ядре которой находятся два дополнительных ядрышка; в ядре центральной клетки зародышевого мешка — четыре дополнительных ядрышка (дневное опыление)

ра спермиев уже произвела двойное оплодотворение, один из спермиев другой пары находится в цитоплазме яйцеклетки, а другой — у ядра центральной клетки зародышевого мешка. Третья пара спермиев находится у основания синергиды.

Из полученных данных следует, что быстрота роста пыльцевых трубок, оплодотворения и развития зародыша у подсолнечника тесно

опыления (дневная фиксация) в ядре яйцеклетки и в ядре центральной клетки зародышевого мешка появляются дополнительные ядрышки. На рисунке 8а видна часть яйцеклетки, в ядре которой находятся два дополнительных ядрышка.

Картину оплодотворения при ночной фиксации можно видеть на рисунке 6, где в женских ядрах видны массы хроматинового вещества на месте слившихся с женскими ядрами спермиев. Через 3 часа после опыления на месте объединенных с женскими ядрами спермиев появляются дополнительные ядрышки (рис. 9, 10).

На рис. 9 изображен зародышевый мешок через 3 часа после опыления при дневной фиксации. В описываемый зародышевый мешок излили свое содержимое три пыльцевые трубки, так как в зародышевом мешке находятся 3 пары спермиев. Первая па-

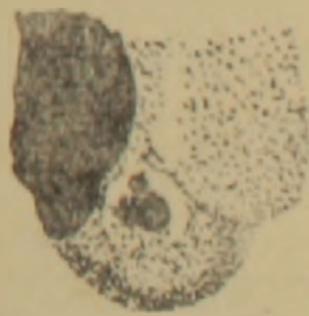


Рис. 8а. В ядре яйцеклетки два дополнительных ядрышка. Рисунок сделан с другого среза того же препарата (дневное опыление).

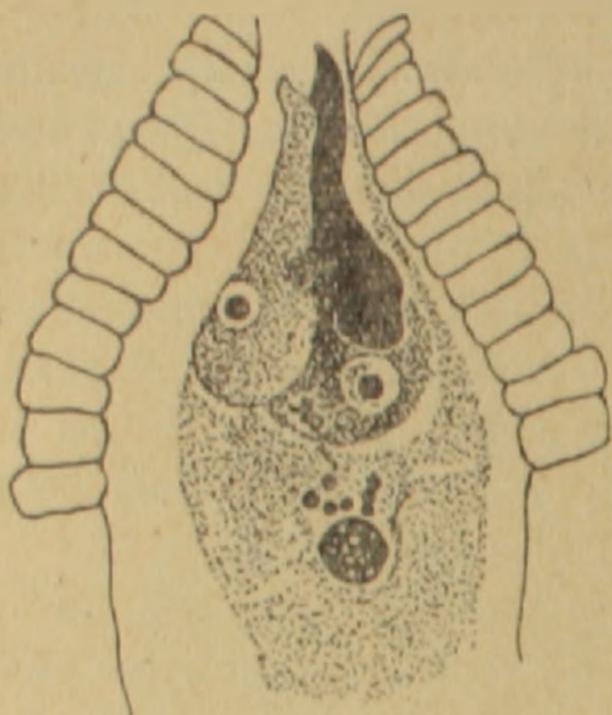


Рис. 9. Верхняя часть зародышевого мешка через 3 часа после опыления. Вблизи помутневшей синергиды находятся два спермия. Яйцеклетка уже оплодотворена. В цитоплазме яйцеклетки находится дополнительный спермий. В ядре центральной клетки зародышевого мешка видно семь дополнительных ядрышек между яйцеклеткой и ядром центральной клетки зародышевого мешка, в плазме также находится спермий (дневная фиксация).

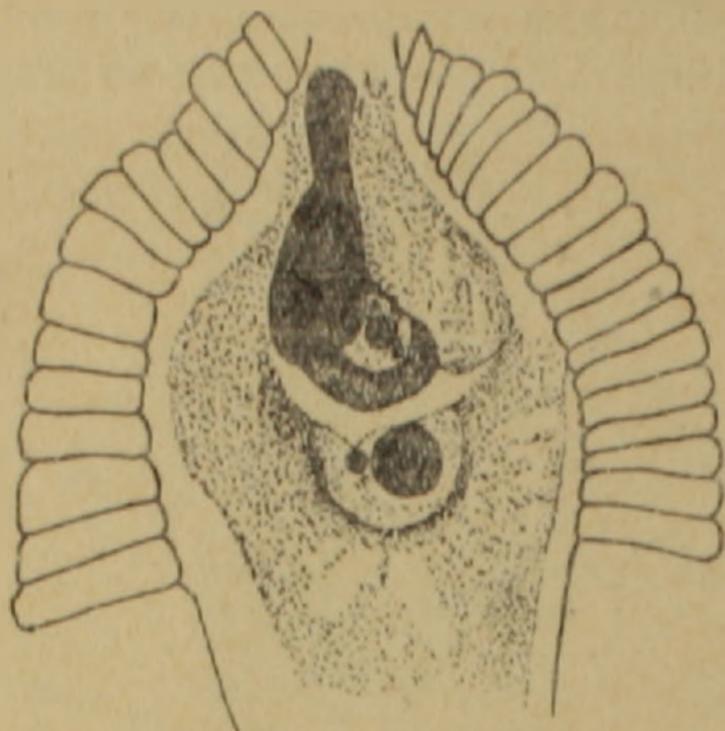


Рис. 10. Верхняя часть зародышевого мешка через 3 часа после опыления при ночной фиксации. Видна зигота, слева над нею — помутневшая синергида. В ядре центральной клетки зародышевого мешка видно второе ядрышко после оплодотворения (ночное опыление)

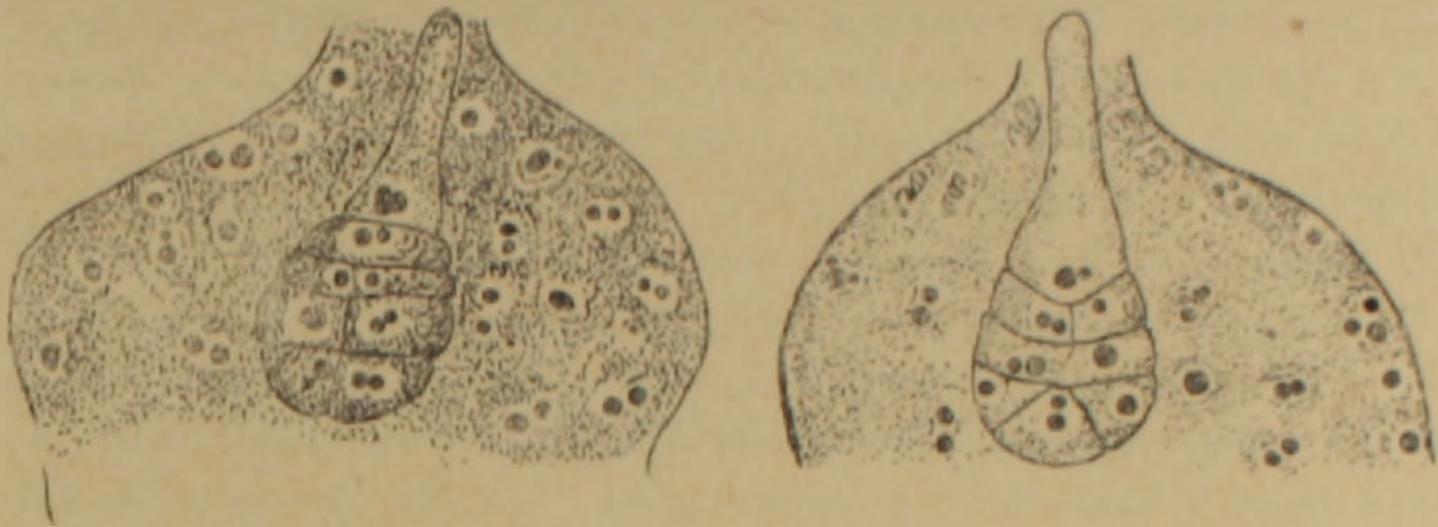
связана со световым фактором. Ниже приводим температурные данные (II—VII 1953 года), когда были произведены опыление и фиксация материала по оплодотворению.

Из данных таблицы видно, что в температурных условиях дня проведения опыления и фиксации материала по сравниваемым вариантам изменений, которые могли бы вызвать разницу в скорости роста пыльцевых трубок, не наблюдается.

| II—VII 1953 г. | 9 час. | | 9 ч. 50 м. | | 10 час. | | 11 час. | | 11 ч. 30 м. | | 12 ч. | | 9 час. | |
|----------------|--------|-------|------------|------|---------|-------|---------|-------|-------------|------|-------|--------|--------|--|
| | утра | веч. | утра | веч. | утра | веч. | утра | веч. | утра | веч. | веч. | утра | веч. | |
| Температура | 28,6° | 28,3° | — | — | 30,5° | 28,7° | 31,9° | 27,6° | 33,1° | — | 26,8° | 12—VII | 28,9° | |
| | | | | | | | | | | | | 53 ч. | | |
| | | | | | | | | | | | | 30,1° | | |

Весьма интересным является то обстоятельство, что зародыш через 24 часа после опыления и при дневной и при ночной фиксации находится на одинаковой стадии развития (рис. 11а,б).

Как видно из приведенных рисунков, в этот период развития зародыш представляет собой восьмиклеточное образование с подвеском.



а

б

Рис. 11. Верхняя часть зародышевого мешка через 24 часа после опыления утром (а) и вечером (б). На обоих рисунках виден зародыш с подвеском — восьмиклеточное образование, окруженное ядрами эндосперма, между которыми измечаются границы клеток.

В заключение выражаю искреннюю благодарность кандидату биологических наук Г. К. Бенецкой за руководство и помощь в процессе выполнения данной работы.

Институт генетики и селекции растений АН Армянской ССР

Поступило 14 X 1955 г.

Ե. Հ. ՍԻՄՈՆՅԱՆ

ԱՐԵՎԱԾԱՂԿԻ ԲԵՂՄՆԱՎՈՐՄԱՆ ՊՐՈՑԵՍԻ ՀԱՐԱԲԵՐԱԿԱՆ ՌԻՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ ԱՌԱՎՈՏՅԱՆ ԵՎ ԵՐԵԿՈՅԱՆ ԺԱՄԵՐԻ ՓՈՇՈՏՄԱՆ ԴԵՊՔՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ու մ

Մի շարք հեղինակների ուսումնասիրությունները ցույց են տալիս, որ բեղմնավորման պրոցեսի հաջողությունը կախված է ինչպես փոշոտման աստիճանից և պայմաններից, այնպես էլ փոշու սրակից:

Ելնելով այս դրույթյունից, մեր կողմից առավտայան ու երեկոյան ժամերին փոշոտվել և ֆիքսվել են արևածաղկի վարսանդները: Այս աշխատանքի նպատակն է կզել պարզարանել բեղմնավորման պրոցեսի ընթացքը տարբեր պայմաններում (ցերեկ և գիշեր):

Փորձը կատարված է արևածաղկի երկու սորտերի հետ՝ Բալզարիա (մայր) և Ֆուկսինկա-62 (փոշոտող): Այս ուսումնասիրության համար վերցրված է հետևյալ վարիանսը՝ փոշոտում ուրիշ սորտի բույսի փոշիով, առանց սեփական փոշու ներկայություն: Վարսանդների ֆիքսացիան կատարվել է փոշոտումից հետո սրոջ ընդմիջումներով:

Նյութը ֆիքսվել է նախաշինի մեթոդով, որից հետո կտրատվել է միկոտոմով՝ 18—20 միկրոն հաստությամբ: Պրեպարատները ներկվել են երկաթյա հեմատոքսիլինով՝ Գեյլենգեյնի և Ֆոյգինի մեթոդով: Հոգվածում բերված նկարները ներկված են երկաթյա հեմատոքսիլինով:

Մեր հետազոտությունները ցույց են տվել, որ՝

1. Յերեկային ֆիքսացիայի ժամանակ փոշանոթները իրենց պարունակությունը լցնում են սաղմնապարկի մեջ, փոշոտումից 50 րոպե անց:

2. Գիշերային ֆիքսացիայի ժամանակ փոշանոթներն իրենց պարունակությունը լցնում են սաղմնապարհի մեջ ոչ շուտ, քան փոշոտումից երկու ժամ անց, քանի որ երկու ժամ 30 րոպե անց սաղմնապարհում արդեն դանդում են սպերմաները:

3. Յերեկային ֆիքսացիայի ժամանակ, փոշոտումից մեկ ժամ անց սպերման արդեն թափանցում է ձվարջջի պիտոպլազմայի մեջ, իսկ երկու ժամ անց ձվարջջի կորիզի մեջ հանդես են գալիս լրացուցիչ կորիզակներ: Գիշերային ֆիքսացիայի ժամանակ, երկու ժամ 30 րոպե անց իզահան կորիզում արդեն նկատվում է քրոմատինի նյութի կուտակում: Բեղմնավորման պատկերը նկատվում է փոշոտումից երեք ժամ հետո:

Հետաքրքրական է այն հանդամանքը, որ 24 ժամ անց, ինչպես ցերեկային, այնպես էլ գիշերային ֆիքսացիայի ժամանակ սաղմն իրենից ներկայացնում է ութ բջջից կազմված գոյացություն:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бенецкая Г. К. Оплодотворение и эмбриогенез у подсолнечника при различных способах опыления, Изв. АН АрмССР (биол. и сельхоз. науки), т. 5, 7, стр. 17 - 33, 1952.
2. Бенецкая Г. К. Оплодотворение и первые фазы эмбриогенеза у подсолнечника. Изв. АН АрмССР (биол. и сельхоз. науки), т. 7, 12, стр. 7—17, 1954.
3. Герасимова-Навашина Е. Н. Морфологические данные о цитоплазме мужского гаметофита у *Crepis*. ДАН СССР, т. 56 4, 415—418, 1947.
4. Герасимова-Навашина Е. Н. О развитии и строении спермиев у *Crepis*. ДАН СССР, т. 56 6, 643—646, 1947.
5. Герасимова-Навашина Е. Н. О поведении спермиев в пыльцевой трубке у *Crepis*. ДАН СССР, т. 57, 3, 285—288, 1947.
6. Герасимова-Навашина Е. Н. Пыльцевое зерно, гаметы и половой процесс у покрытосеменных, Тр. Бот. института им. В. Л. Комарова АН. СССР-2, серия VII, 1951.
7. Герасимова-Навашина Е. Н. К цитолого-эмбриологическому пониманию процесса опыления, Тр. Бот. института АН СССР, в. 3, сер. VII, 1951.
7. Герасимова-Навашина Е. Н. К цитолого-эмбриологическому пониманию процесса опыления. Тр. Бот. института АН СССР, в. 3, сер. VII, 1952.
8. Навашина С. Г. Об оплодотворении у сложноцветных и орхидных, Изб. тр., т. 1, 2.5—2.9, 1951. Впервые опубликовано в Известиях Имп. АН, т. XIII, 3, стр. 335—340, 1900.
9. Поддубная-Арнольди В. А., Дианова В. Характер размножения некоторых каучуконосных и некаучуконосных видов рода *Гачахасит*, Бот. журн. СССР, т. 22, 3, 277—295, 1937.
10. Поддубная-Арнольди В. А. К вопросу о ди- и полиспермии у высших растений, Изв. АН СССР, сер. биол., 1, 1951.
11. Устинова Е. И. Эмбриологический анализ завязей подсолнечника при опылении смесью пыльцы, «Агробиология», 3, стр. 103—113, 1951.
12. Устинова Е. И. и Нестерова Т. Т. Развитие зародыша у подсолнечника при различных вариантах опыления, Докл. ВАСХНИЛ, в 1', стр. 14—20.
13. Устинова Е. И. Влияние количества и разнообразия пыльцы на оплодотворение и развитие зародыша подсолнечника, Изв. АН СССР, сер. биол., 5, стр. 74—87, 1954.
14. Чернояров М. В. Новые данные в эмбриологии *myosurus minimus*, Записки Киевского общества естествоиспытателей, г. XXIV, 3, 95—170, 1915.