

ЦИТОЛОГИЯ

Д. П. ЧОЛАХЯН, А. Х. ДАНИЕЛЯН

ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА ОПЛОДОТВОРЕНИЯ И НАЧАЛЬНЫЕ
ФАЗЫ ЭМБРИОГЕНЕЗА У КУКУРУЗЫ ПРИ РАЗНЫХ СПОСОБАХ
ОПЫЛЕНИЯ

За последние годы все больше исследований проводятся по изучению процесса оплодотворения, а также эмбрионального развития растений в связи с разными способами опыления [2, 4, 5, 7, 8, 10]. Эти работы показывают какой сложный и разнообразный характер имеют процессы, совершающиеся в зародышевых мешках до и после опыления и оплодотворения.

По культуре кукурузы имеется сравнительно мало эмбриологических исследований. Они велись в Московской области [9, 11] и частично в АрмССР [5, 6].

Наши исследования проводились в 1957 году в условиях Араратской низменности АрмССР. Целью работы было: изучение процесса оплодотворения и начальных фаз эмбриогенеза у кукурузы при разных вариантах опыления. Семяпочки фиксировались после опыления через 16—72 часа в фиксаже Навашина с предварительной обработкой в Карнуа. Срезы приготавливались толщиной в 18—20 μ . Окрашивание проводилось железным гематоксилином по Гейденгейну. Зарисовки делались при помощи рисовального аппарата РА—4, окуляр 20 х, объектив 40.

При опылении использовались сорта кукурузы: Северодакотская, Северокавказская желтозерная I, Белозерная 10. Варианты опыления: обыкновенная гибридизация, опыление смесью пыльцы, а контроль — внутрисортное скрещивание материнского сорта Северодакотская.

Разные варианты опыления по-разному влияют на процесс оплодотворения и на интенсивность образования клеток эндосперма и зародыша. В варианте Северодакотская $\times$ Белозерная 10—через 16 часов после опыления у 80% изученных зародышевых мешков пыльцевые трубки не только излили свое содержимое, но уже произошло оплодотворение. Эта же картина получается и в варианте Северодакотская $\times$ Северодакотская. В остальных двух вариантах в те же часы фиксации после опыления во всех изученных зародышевых мешках оплодотворения яйцеклетки и центрального ядра уже произошло. Однако через 18 часов после опыления мы видим другую картину: в варианте Северодакотская $\times$ Белозерная 10 количество зародышевых мешков, где еще не произошло оплодотворение, и даже пыльцевая трубка не излила свое содержимое, составляет 40%, тогда как через 16 часов после опыления—20%,

а в варианте же Северодакотская $\times$ Северодакотская их больше и составляет 75% (табл. 1).

Обычно зародышевый мешок у кукурузы со своими элементами хорошо виден даже при малых увеличениях. До оплодотворения долгое время полярные ядра не присоединяются и лежат рядом. Хорошо видны ядро и ядрышко этих клеток, цитоплазма зернистая (рис. 1). В отдельных случаях ядрышко одного из полярных ядер по размерам больше, чем ядрышко другого полярного ядра. Яйцеклетка же имеет овальную или округлую форму с хорошо окрашенным ядром и ядрышком (рис. 1).

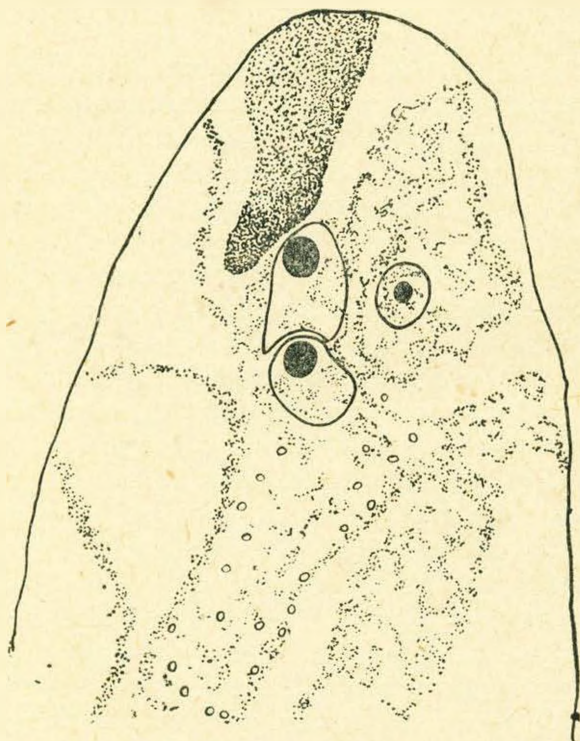


Рис. 1. Часть зародышевого мешка кукурузы, полученного от варианта Северодакотская $\times$ Белозерная 10 (через 16 ч. после опыления). Помутневшая синергида, яйцеклетка; полярные клетки сблизилась, но еще не слились;

Необходимо отметить также, что во всех вариантах после опыления через 18 часов уже наблюдается образование клеток эндосперма и даже немногочлеточного зародыша. При обыкновенной гибридизации сорта Северодакотская $\times$ Белозерная 10, процент зародышевых мешков, где уже образуются клетки эндосперма составляет 20%, при опылении этого же материнского сорта другим опылителем Северокавказская желтозерная 1—80%, а при опылении смесью пыльцы этих же отцовских сортов ни в одном изученном зародышевом мешке этого не наблюдается. При внутрисортном скрещивании такие зародышевые мешки составля-

Таблица 1
Влияние разных вариантов опыления на процесс оплодотворения и начальные фазы эмбриогенеза у кукурузы, 1957 г. (в %)

Время фиксации после опыления через	Северодакотская × Бело-зерная 10				Северодакотская × Северо-кавказская 1				Северодакотская × (Белозерная 10 + Северокавказская 1)				Северодакотская × Северо-дакотская			
	пыльцевая трубка не излила свое содержимое	пыльцевая трубка излила свое содержимое	оплодотворение произошло	образуются клетки эндосперма	пыльцевая трубка не излила свое содержимое	пыльцевая трубка излила свое содержимое	оплодотворение произошло	образуются клетки эндосперма	пыльцевая трубка не излила свое содержимое	пыльцевая трубка излила свое содержимое	оплодотворение произошло	образуются клетки эндосперма	пыльцевая трубка не излила свое содержимое	пыльцевая трубка излила свое содержимое	оплодотворение произошло	образуются клетки эндосперма
16 ч.	20	80	80	—	—	100	100	100	—	100	100	—	25	75	75	—
18 ч.	40	60	40	20	—	100	100	80	25	75	25	—	75	25	25	25
20 ч.	—	100	75	25	40	60	40	40	60	40	60	40	60	40	40	40
22 ч.	60	40	20	—	80	20	20	—	20	40	20	20	75	25	—	—
24 ч.	20	80	60	40	—	—	—	—	20	80	60	60	60	40	—	—
26 ч.	75	25	25	25	—	80	80	60	40	60	80	80	80	20	—	—
28 ч.	60	40	25	—	20	—	—	—	20	60	20	60	60	40	20	—
30 ч.	60	40	25	—	40	100	80	80	40	40	40	—	40	60	—	—
36 ч.	40	60	60	40	40	60	60	40	60	40	20	—	—	40	20	—
48 ч.	25	75	30	25	60	40	20	20	60	40	40	—	60	40	40	—
60 ч.	—	100	75	—	—	100	100	—	—	100	100	—	—	60	40	—
72 ч.	—	100	100	100	—	—	—	—	—	100	100	100	—	60	40	—

ют всего 25%. Необходимо отметить, что у кукурузы часто наблюдается такое явление, когда семяпочки одного и того же початка (взятые из средней части) в тот же час фиксации после опыления бывают в разных физиологических состояниях. Тогда как в отдельных семяпочках образуются клетки эндосперма и зародыша, в других семяпочках почему-то нет еще никаких изменений. Здесь не произошел процесс оплодотворения, и даже пыльцевая трубка пока не излила свое содержимое, о чем

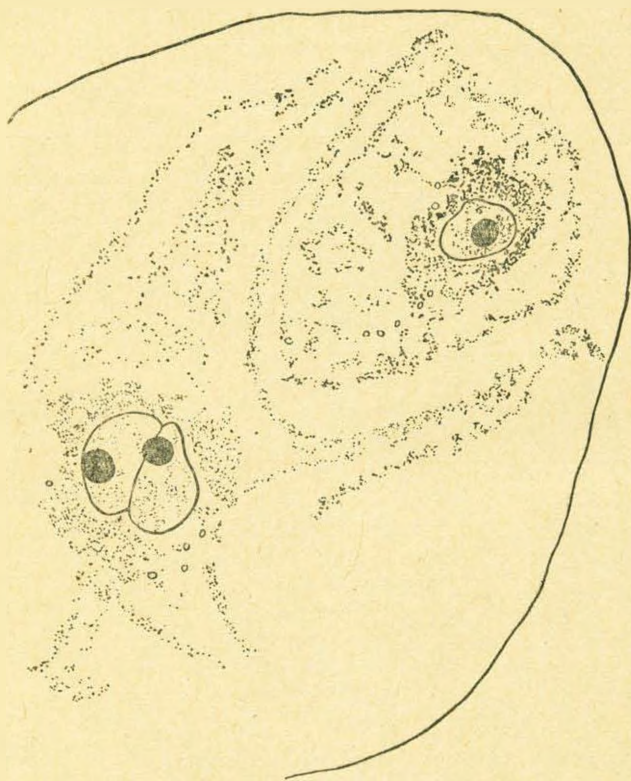


Рис. 2. Часть зародышевого мешка кукурузы, полученного от варианта Северодакотская $\times$ Северодакотская 10 (через 18 ч. после опыления).

свидетельствуют непомутневшие синергиды. В тех же случаях, когда пыльцевая трубка уже излила свое содержимое, мы видим помутневшую и даже частично деформированную одну синергиду (рис. 1, 3, 4). Но в этом случае изменяется не только синергида. Некоторые изменения мы наблюдаем также и в других элементах зародышевого мешка. В основном к этому времени полярные ядра уже сливаются. Центральная клетка с ядром и ядрышком по своим размерам оказывается больше яйцеклетки, обычно цитоплазма центральной клетки лучше видна. В ядре появляется зернистость, ядрышко крупное, хорошо окрашенное (рис. 3, 4, 5). В яйцеклетке также видны изменения. Ядро и ядрышко увеличены (рис. 3, 4, 5), цитоплазма более сгущена и даже в неко-

торых случаях темноокрашенная. Антиподы в это время почти не измененные, такие же как и до оплодотворения.

При изучении фиксированных семязпочек, полученных в разных вариантах опыления, особой закономерности не наблюдается. Предполагалось, что чем позже часы фиксации после опыления, тем лучшие данные должны были получаться. Однако в варианте Северодакотская $\times$ Белозерная 10 через 16 часов после опыления в 20% семязпочек пыльцевая трубка еще не излила свое содержимое в зародышевый мешок, через 22 часа количество таких семязпочек еще больше и составляет 60%, через 26 часов — 75%, че-

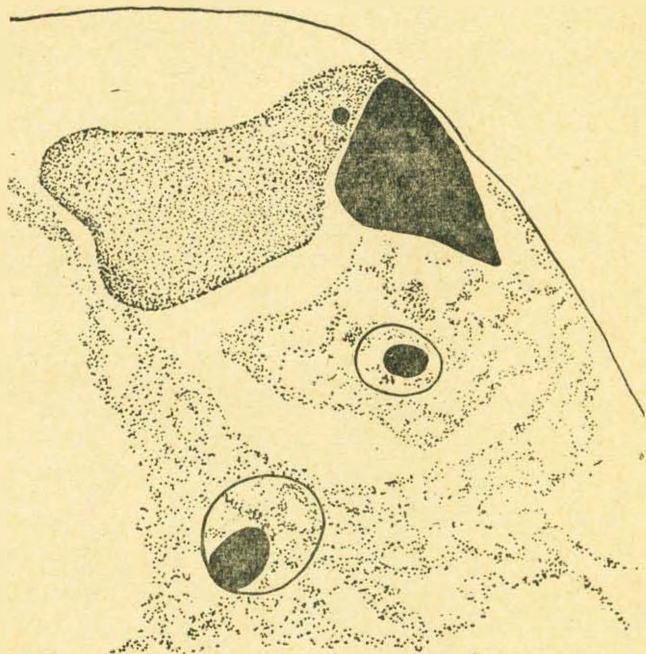


Рис. 3. Часть зародышевого мешка кукурузы, полученного от варианта Северодакотская $\times$ (Белозерная 10+Северокавказская желтозерная 1), (через 16 ч. после опыления), центральная клетка, увеличенная после оплодотворения; две синергиды, одна из которых помутнела. Видна также и оплодотворенная яйцеклетка с хорошо окрашенным ядром и ядрышком.

рез 28 часов—60%, через 30 часов—60% и т. д. (табл. 1). Если в варианте Северодакотская $\times$ Северодакотская через 16 часов после опыления уже в 75% зародышевых мешков произошел процесс оплодотворения и через 18 часов в 25% образуются клетки эндосперма, то через 20 часов после опыления в 40% зародышевых мешков мы видим не только клетки эндосперма, но и немногочелюточный зародыш. В этом же варианте при фиксации после опыления через 22, 24, 26, 28 часов нет ни одного зародышевого мешка, где происходило бы оплодотворение. Только через 30

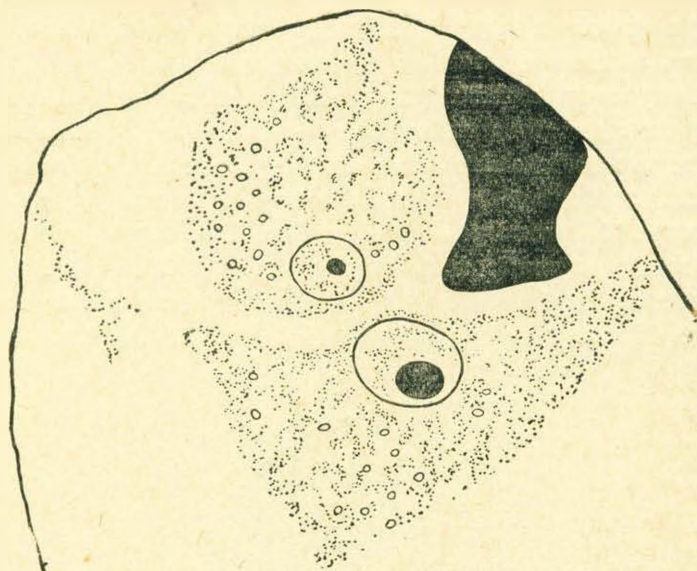


Рис. 4. Часть зародышевого мешка кукурузы, полученного от варианта Северодакотская $\times$ Северокавказская желтозерная 1, (через 18 ч. после опыления): синергида помутневшая, яйцеклетка и центральная клетка уже оплодотворенные.

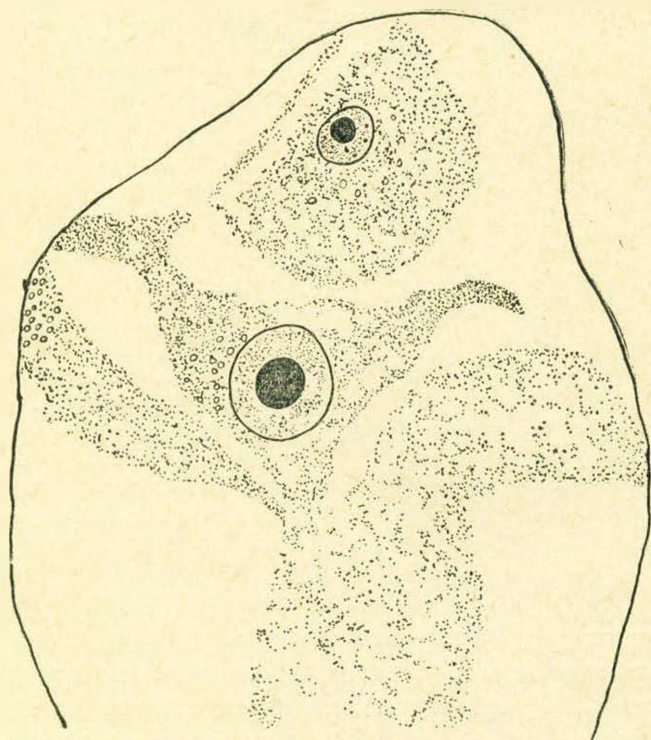


Рис. 5. Часть зародышевого мешка кукурузы, полученного от варианта Северодакотская $\times$ Северодакотская (через 22 ч. после опыления): центральная клетка и яйцеклетка с увеличенным ядрышком после оплодотворения.

часов после опыления в зародышевых мешках наблюдается, правда не очень большой процент, но все же оплодотворение яйцеклетки и центрального ядра. Через 60 часов после опыления в этом варианте многоклеточный эндосперм и зародыш не наблюдаются. Вариантом, где процесс оплодотворения и образования клеток эндосперма происходит более интенсивно, был Северодакотская $\times$ Северокавказская желтозерная 1. Несмотря на некоторые отклонения, здесь уже с 16 до 48 часов после опыления количество зародышевых мешков, где образуются клетки эндосперма и зародыша, составляет от 20 до 100%. Интересно и такое явление, что через 16 ч. фиксации после опыления процент зародышевых мешков с клетками эндосперма составляет 100%, через 20 ч.—40%, через 30 ч.—80%, а через 60 ч.—20%. Почти такую же картину наблюдаем и в варианте Северодакотская $\times$ (Белозерная 10 + Северокавказская жел-



Рис. 6. Зародышевый мешок кукурузы, полученный от варианта Северодакотская $\times$ (Белозерная 10 + Северокавказская желтозерная 1), (через 48 ч. после опыления): антиподы, несколько клеток зародыша и эндосперма.

тозерная 1). Через 16 и 18 ч. после опыления в зародышевых мешках еще нет клеток эндосперма и зародыша, а через 20 ч. наблюдается образование многоклеточного эндосперма и первых клеток зародыша. С 20 по 28 ч. процент зародышевых мешков с образовавшимися клетками эндосперма составляет 20—80%, а после опыления через 30, 36, 48, 60 часов ни в одном зародышевом мешке клетки эндосперма не наблюдаются,

а через 72 ч. фиксации во всех 100% изученных зародышевых мешках уже хороший многоклеточный эндосперм и несколько клеток зародыша.

При изучении процесса образования клеток эндосперма можно отметить следующее: обычно в наших исследованиях после оплодотворения центральная клетка почти сразу же начинает делиться. В некоторых случаях наблюдается образование в центральной клетке второго ядрышка, затем появляется перегородка в ядре и образуются две клетки эндосперма. Обычно эти клетки имеют хорошо окрашенное ядрышко и ядро круглой или удлинненной формы. После первого деления сразу

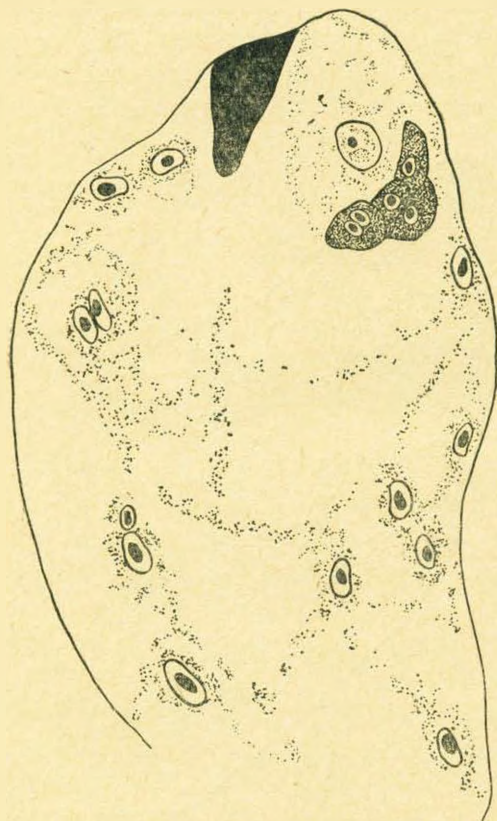


Рис. 7. Часть зародышевого мешка кукурузы, полученного от варианта Северодакотская $\times$ Северокавказская желтозерная 1, (через 30 ч. после опыления): а) видна помутневшая синергида, несколько клеток зародыша и эндосперма.

следует и деление этих новых клеток эндосперма и за короткий промежуток времени в зародышевых мешках мы видим уже в разбросанном виде несколько клеток эндосперма (рис. 6, 7). Впоследствии они как бы располагаются около стенок и в центральной части зародышевых мешков. Яйцеклетка в это же время бывает в стадии зиготы и часто не делится, даже в том случае, когда зародышевый мешок полон много-

численным количеством клеток эндосперма. Зигота, в отличие от яйцеклетки, имеет сравнительно большое ядро с хорошо окрашенным ядрышком. Что касается других элементов, то нужно отметить, что попутнившая синергида долго остается в деформированном виде, а в антиподах почти не наблюдается заметных изменений (рис. 6, 7). Тип образования клеток эндосперма здесь нуклеарный. Образованные ядра эндосперма наполняют зародышевый мешок, вокруг них цитоплазма, но перегородки в цитоплазме образуются позже, почти тогда, когда весь зародышевый мешок наполнен клетками эндосперма. К этому времени уже наблюдается и 8—12-клеточный зародыш. Деления зиготы не наблюдали. Мы видели или зиготу, или двухклеточный зародыш, где клетки по своим размерам отличаются одна от другой. Перегородка, делящая зиготу, в разных случаях имела разное направление. Терминальная клетка была сравнительно больше, чем базальная.

Нами изучалось свыше 1500 зародышевых мешков кукурузы, однако уловить момент слияния спермия с яйцеклеткой и центральной клеткой нам удалось лишь в редких случаях. Видимо, для этого необходимы более короткие сроки фиксации, так как этот процесс происходит довольно быстро.

Исходя из вышесказанного, можно прийти к следующим выводам: разные способы по-разному влияют на интенсивность процесса оплодотворения и образования эндосперма и зародыша, — здесь выявляются специфические признаки родительских компонентов; при опылении материнского сорта разными отцовскими сортами результаты бывают разные, здесь, видимо, проявляются избирательность и другие биологические явления; при опылении смесью пыльцы двух сортов получают средние данные, хуже, чем при опылении пыльцой одного сорта и лучше, чем при опылении пыльцой другого сорта; при внутрисортовом скрещивании данные, по сравнению с гибридизацией, сравнительно хуже.

Необходимо особо отметить тот факт, что трудно сказать, в какой час после опыления во всех зародышевых мешках произошло оплодотворение. В отдельных случаях даже через 72 часа после опыления пыльцевая трубка не излила свое содержимое в зародышевый мешок. Видимо, здесь при опылении, по каким-либо причинам, из пыльцевой смеси не были избраны более сходные зерна и трубки, или по каким-либо физиологическим причинам возможно трубки не дошли до зародышевого мешка. Может быть при опылении семян (и даже на той же части початка) были по-разному развиты, отдельные из них уже готовы к принятию пыльцевых трубок, другие же еще не развиты и т. д. Большое влияние имела прогамная фаза, которая хорошо или отрицательно действовала на весь процесс, замедляя или ускоряя процесс оплодотворения.

Գ. Պ. ԶՈՒԱՆՅԱՆ, Ա. Խ. ԴԱՆԵԼՅԱՆ

ՓՈՇՈՏՄԱՆ ՏԱՐԲԵՐ ԶԵՎԵՐԻ ԱԶԳԵՅՈՒԹՅՈՒՆԸ ԵՎՊՏԱՅՈՐԵՆԻ
ԲԵՂՄՆԱՎՈՐՄԱՆ ՊՐՈՑԵՍԻ ԵՎ ՍԱՂՄՆԱՅԻՆ ԶԱՐԳԱՅՄԱՆ ՎԱՂ
ՓՈԽԵՐԻ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ու մ

Աշխատանքը կատարվել է 1957 թվականին, Արարատյան հարթավայրի պայմաններում, Եգիպտացորենի Սևերոգակոտակայա, Բելոզլորնայա 10, Սևերոկավկասկայա ժելտոզլորնայա 1 սորտերի վրա: Ուսումնասիրվել է սովորական միջսորտային հիբրիդացման և 2 տարբեր հայրական սորտերի ծաղկափոշիով փոշոտելու ազդեցությունը բեղմնավորման պրոցեսի ինտենսիվության, էնդոսպերմի ու սաղմնային բջիջների առաջացման վրա:

Հետազոտությունները ցույց են տալիս, որ փոշոտման տարբեր ձևերի զեպքում բեղմնավորման պրոցեսի ինտենսիվությունը տարբեր է լինում: Այսպես, երբ Սևերոգակոտակայա մայրական կոմպոնենտը փոշոտվում է Սևերոկավկասկայա ժելտոզլորնայա 1 սորտի ծաղկափոշիով, ապա ստացված արդյունքները միևնույն ժամանակամիջոցում շատ ավելի լավն են, քան այն զեպքում, երբ նույն մայրական կոմպոնենտը փոշոտվում է Բելոզլորնայա 10 սորտի ծաղկափոշիով: Այդ 2 սորտերի ծաղկափոշիների խառնուրդով փոշոտելիս ստացվող տվյալները լինում են միջին, ավելի լավ, քան միայն Բելոզլորնայա 10 սորտի ծաղկափոշիով փոշոտելիս և ավելի վատ, քան Սևերոկավկասկայա ժելտոզլորնայա 1 սորտի ծաղկափոշիով փոշոտելիս: Միաժամանակ պետք է նշել, որ ուրիշ սորտի ծաղկափոշիով փոշոտելիս ստացված տվյալները շատ ավելի լավ են, քան սեփական սորտի ծաղկափոշիով փոշոտելիս: Հետաքրքիր է այն, որ փոշոտման տարբեր ժամերի ընթացքում ստացվող տվյալները տարբերվում են միմյանցից: Երբեմն ավելի վաղ Ֆիքսացիայի ժամանակ փոշոտումից հետո առնում ենք, որ արդեն բեղմնավորումը կատարվել է (օրինակ՝ 16 ժամ փոշոտումից հետո) և նույնիսկ ձևավորվել են էնդոսպերմի առաջին բջիջները, իսկ ավելի ուշ ժամերին, օրինակ՝ 30, 36, 48 ժ. սերմնաբոցերոջների մեծ մասում բեղմնավորման պրոցեսը զեռես կատարված չէ: Նմանատվյալները ցույց են տալիս, որ բեղմնավորման պրոցեսն աչքաբան բարդ է ու բազմակողմանի, որ ամեն մի չնախատեսված ազդակ փոխում է այդ պրոցեսի ընթացքը: Ինչ-որ պատճառով անցում միևնույն կողմի նույն մասում գտնվող սերմնաբոցերոջների մի մասում, Ֆիքսացիայի միևնույն ժամում, բեղմնավորման պրոցեսն ավարտված է, մյուսների մոտ փոշեհատիկային խողովակը դեռ նոր միայն իրեն պարունակությունը լցրել է սաղմնային պարկի մեջ, իսկ որ ամենակարևորն է, որոշ մասի մոտ սաղմնային պարկը ոչ մի փոփոխություն չի ենթարկվել: Այսուհետ կամ ինչ-որ պատճառներով փոշեհատիկային խողովակները չեն հասնում սաղմնային պարկին, կամ ծաղկափոշու խառնուրդից չեն բնորոշվում իրենց բնույթին ավելի համապատասխանները, իսկ որ ամենահավանականն է, ըստ երևույթին այդպիսի սերմնաբոցերոջներում փոշոտման մոմենտին սաղմնային պարկը զեռես պատրաստ չի մասնակցելու բուլբի կյանքի համար այդքան կարևոր ու անհրաժեշտ պրոցեսին, ինչպիսին բեղմնավորման պրոցեսն է:

Նգիպտացորենի բազմաթիվ սերմնաբողբոջների բջջաաղմնաբանական ուսումնասիրությունները ցույց են տալիս, որ փոշոտման մոմենտից սկսած արդեն աղմնային պարկերի մեջ կատարվում է ինչպես ֆիզիոլոգիական, այնպես էլ մորֆոլոգիական փոփոխություններ: Այլ կերպ ասած՝ պրոզամ ֆազայում, ալսինքն մինչև սեռական բջիջների աղմնային պարկ մտնելը և մշտնելուց հետո էլ տեղի է ունենում փոփոխություն աղմնային պարկի էլեմենտների արտաքին և ներքին կառուցվածքի մեջ: Բեղմնավորման պրոցեսին հաջորդում է էնդոսպերմի և աղմնային բջիջների առաջացումը, որոնք և սկիզբ են տալիս ապագա օրգանիզմին:

Փորձերը կրկին անգամ հաստատում են, որ ինչպես ստացվող արդյունքներն են բազմազան, այնպես էլ բեղմնավորման պրոցեսն ունի իր ներքին բարդ և բազմազան օրինաչափություններն ու առանձնահատկությունները:

ЛИТЕРАТУРА

1. Александров В. Г. и Яковлев М. С., Морфология зегна и строение эндосперма разных форм кукурузы. Ботанический журнал, т. 20, 3, 1935.
2. Бенецкая Г. К., Оплодотворение и эмбриогенез у подсолнечника при различных способах опыления. Известия АН АрмССР (биол. и сельхоз. науки), т. V, 7, 1952.
3. Гарасимова-Навашина Е. И., Развитие зародышевого мешка, двойное оплодотворение и вопрос о происхождении покрытосеменных. Ботанический журнал, т. 39, 5, 1954.
4. Замотайлов С. С., Эмбриология инжира при разных вариантах опыления. Известия АН СССР, 2, 1955.
5. Мовсесян С. Н., Эмбриогенез у кукурузы при различных вариантах опыления. Известия АН АрмССР, (биолог. и сельхоз. науки), т. 7, 10, 1954.
6. Мовсесян С. Н., О влиянии старения пыльцы кукурузы на процесс оплодотворения, Известия АН АрмССР (биолог. и сельхоз. науки), т. IX, 3, 1956.
7. Полякова Т. Ф., и Крупинова Г. Ф., Влияние межсортового переопыления на семенную продуктивность и состояние яйцевого аппарата у красного клевера. Вестник Ленинградского университета (серия биол.), 3, 1956.
8. Устинова Е. И., Эмбриологический анализ завязей подсолнечника при опылении смесью пыльцы. Журнал Агробиология, 3, 1951.
9. Устинова Е. И. и Дьякова М. И., К изучению процесса оплодотворения и развития зародыша и эндосперма у кукурузы. Доклады ВАСХНИИЛа, 5, 1953.
10. Устинова Е. И., Влияние количества и разнообразия пыльцы на оплодотворение и развитие зародыша у подсолнечника. Известия АН СССР (серия биол.), 5, 1954.
11. Устинова Е. И., Некоторые вопросы оплодотворения кукурузы. Журнал Агробиология, 6, 1955.
12. Элленгори Я. Е. и Светозарова В. В., Процесс оплодотворения у покрытосеменных растений. Известия АН СССР, 3, 1950.