

Е. Г. СИМОНЯН, Г. Е. САМВЕЛЯН

## ЦИТО-ЭМБРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВИНОГРАДА (V. VINIFERA)

Проведенные на винограде эмбриологические исследования, необходимые для генетических и селекционных работ, недостаточны. Имеющиеся работы [2, 3, 7, 11, 12] посвящены главным образом биологии цветения, а приводимые в некоторых работах [8—10] данные далеко неполны, чтобы дать сколько-нибудь полное представление об эмбриологии этой ценной культуры.

Принимая во внимание важность установления моментов опыления, оплодотворения, начала и хода развития зародыша для селекционных работ, особое внимание было обращено именно на эти процессы. Работа была начата в Институте земледелия и продолжена в Научно-исследовательской лаборатории цитологии Ереванского государственного университета. Опыты ставились на трех сортах винограда (Кахет, Воскеат, Арагаци) на базе Научно-исследовательского института виноделия, виноградарства и плодоводства.

Материал фиксировался пятью фиксаторами (С. Г. Навашина, С. Г. Навашина с предварительным погружением в спирт с уксусной кислотой в соотношении 3:1, Карнуа, спирт, спирт с уксусной кислотой).

Как наиболее удачный фиксатор можно рекомендовать фиксаж С. Г. Навашина с предварительным погружением в спирт с уксусной кислотой. При остальных способах фиксации клетки завязи сильно разрушаются и интенсивно окрашиваются гематоксилином, а отдельные элементы зародышевого мешка становятся трудно различимыми. Материал красился гематоксилином по Гейденгайну, по Фельгену, метил-грюн пиронином по прописи Тревана и Шаррока и в различных буферных растворах метиленовой синей и кислым фуксином. Пригодность того или иного способа окраски зависит от стадии развития растения, однако в большинстве случаев из взятых способов наиболее приемлемым оказался гематоксилин на всех стадиях развития и Фельген при окраске пыльцевых зерен. Окраска иными способами оказалась безуспешной, очевидно из-за специфичности объекта и наличия в ее тканях большого количества дубильных и эргастических веществ, которые мешают нормальному ходу поставленных реакций (Фельген, метил-грюн пиронин). Были зафиксированы бутоны, кастрированные, искусственно опыленные цветки, завязи от свободного опыления и отдельные тычинки. Применялась также темпоральная фиксация: т. е. бутоны за несколько дней до их раскрытия кастрировались и изолировались пергаментными изоляторами, а затем через определенные промежутки времени после опыления, подвергались

фиксации в соответствующих смесях. Обычно цветки опылялись на третий день после кастрации (когда на поверхности рылец выступает жидкость), после чего фиксировались через каждые сутки в течение одной недели.

Изучение препаратов показало, что пыльцевые трубки винограда за 24 часа проходят столбик, проникают в завязь и достигают семязпочек. Одновременно растет большое количество пыльцевых трубок, обгоняя друг друга. Иногда в непосредственной близости от микропиле можно было наблюдать до нескольких пыльцевых трубок, однако в большинстве случаев в нее проникает только одна. Она проходит через микропиле, раздвигает клетки нуцеллуса, достигает зародышевого мешка и изливает туда свое содержимое через синергиду, в результате чего последняя разрушается (рис. 1, 12). Содержимое пыльцевой трубки обливает не только одну или обе синергиды, но и яйцеклетку, которая нередко становится трудно различимой (рис. 6). При этом элементы зародышевого мешка красятся гематоксилином очень интенсивно, что затрудняет также распознавание спермиев (рис. 8) и отдельных элементов зародышевого мешка (рис. 10). Вместе с тем часто встречаются картины, когда содержимое пыльцевых трубок ассимилируется в течение нескольких дней и в зародышевом мешке наблюдаются только следы последней (рис. 15). Исследуемый объект трудно поддается также окрашиванию по Фельгену, несмотря на то, что гидролиз производился в разные сроки (8—15 мин.), в реактиве Шиффа препараты выдерживались 1,5—2 часа и больше. Безуспешным было и окрашивание препаратов метил-грюнпиронином.

Зародышевый мешок винограда (*V. vinifera*) перед оплодотворением строго дифференцирован и состоит из двух синергид с крючкообразными выростами в верхней части и крупными ядрами — в нижней (рис. 2). По своему внешнему виду синергиды отличаются от яйцеклетки, которая имеет более крупные размеры с расширенной верхней частью, напоминающей колпачок или шапку, как бы прикрывающую верхнюю часть. Ядро расположено в нижней части, над которой наблюдается большая вакуоль (рис. 3). Ядра элементов яйцевого аппарата вообще крупные, они перед дифференцировкой расположены в середине клеток, а затем перемещаются книзу. В это же время полярные ядра находятся на стадии слияния (рис. 1). Ко времени дифференциации элементов зародышевого мешка центральное ядро перемещается в микропиллярную часть, ближе к яйцевому аппарату (рис. 4).

Синергиды и яйцеклетки в зрелом зародышевом мешке винограда сильно вакуолизированы (рис. 2—3), поэтому, когда пыльцевая трубка изливает свое содержимое в зародышевой мешок, последние сморщиваются и становятся трудно различимыми (рис. 10).

Просмотрев большое количество препаратов, можно заключить, что процесс оплодотворения у винограда в основном протекает более или менее однообразно, однако наблюдаются некоторые отклонения в деталях.

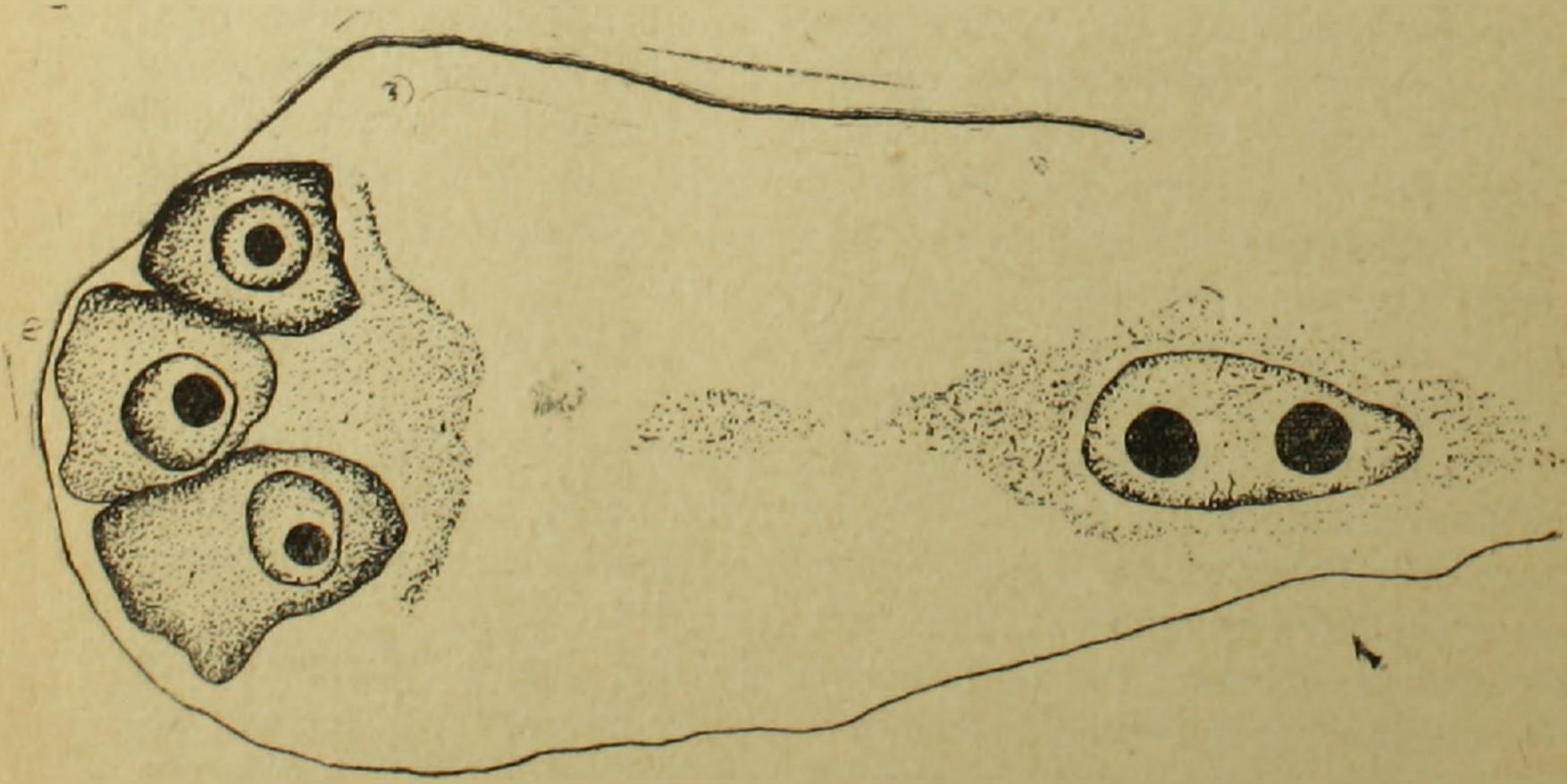


Рис. 1.

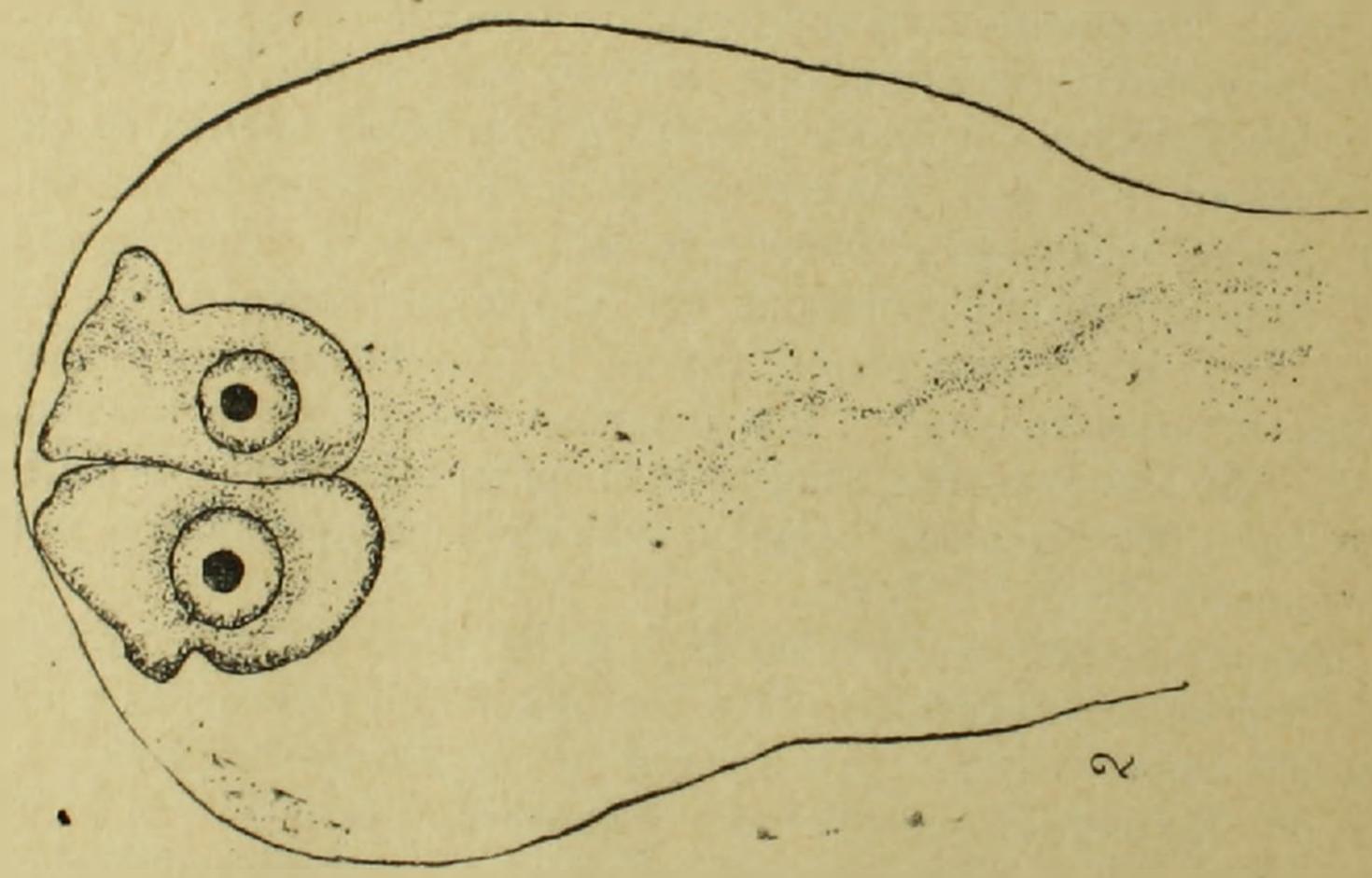


Рис. 2.

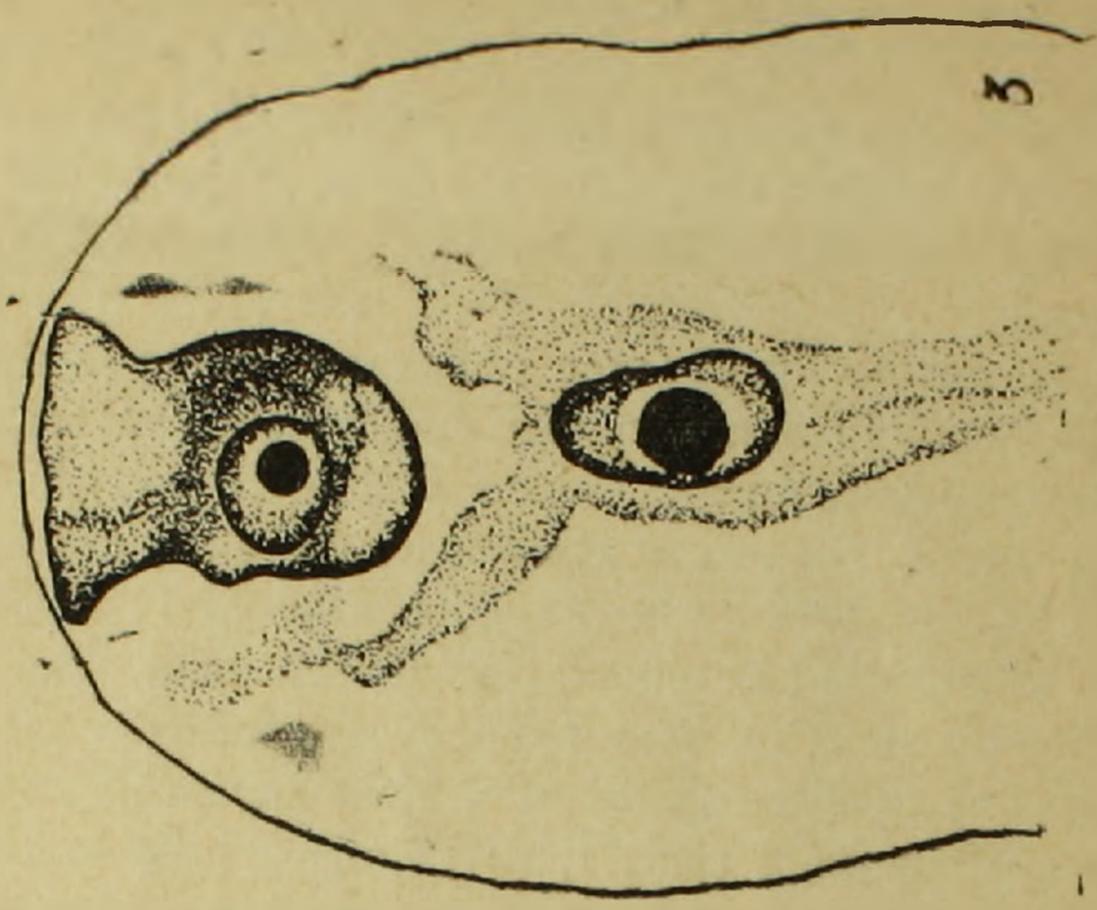
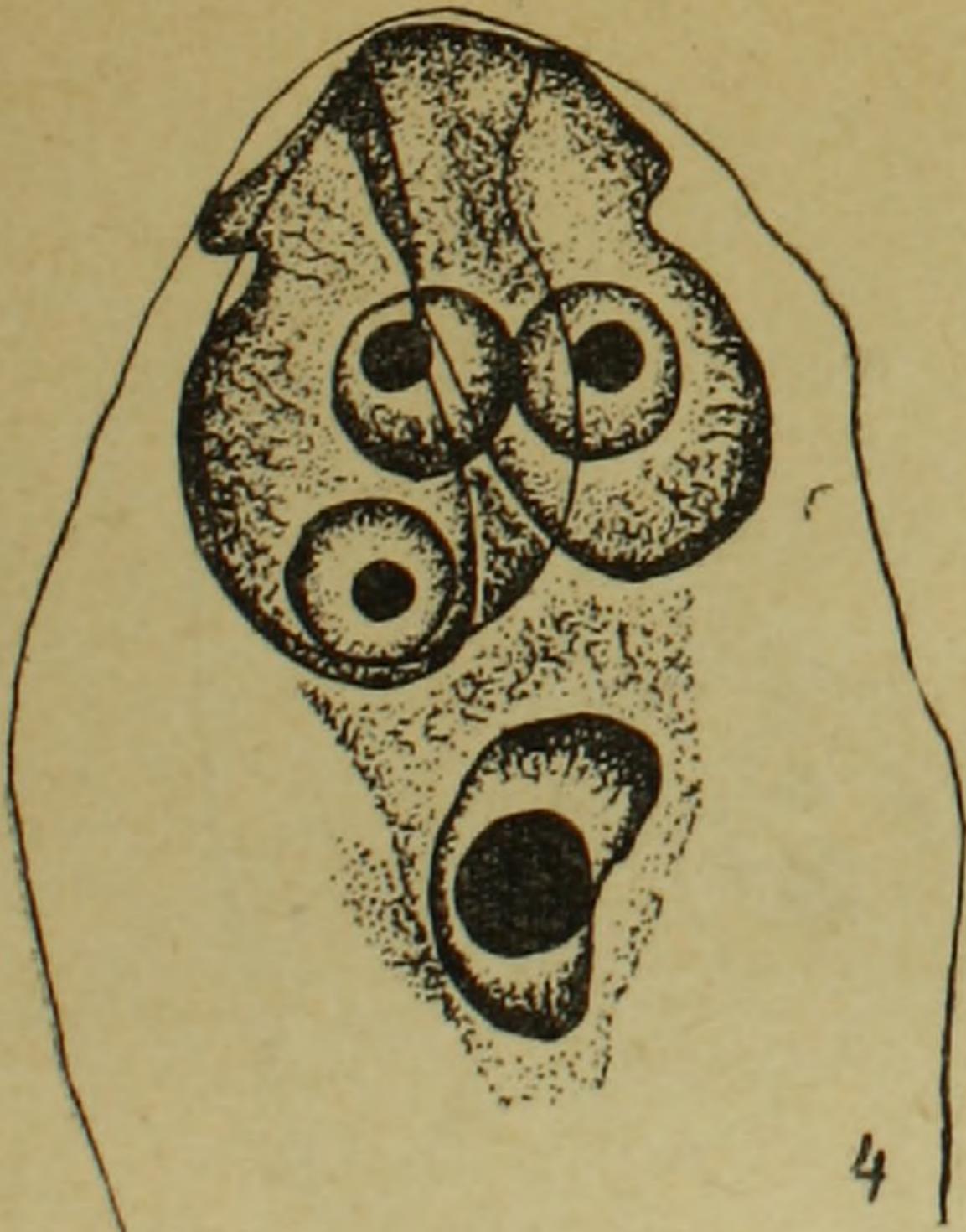
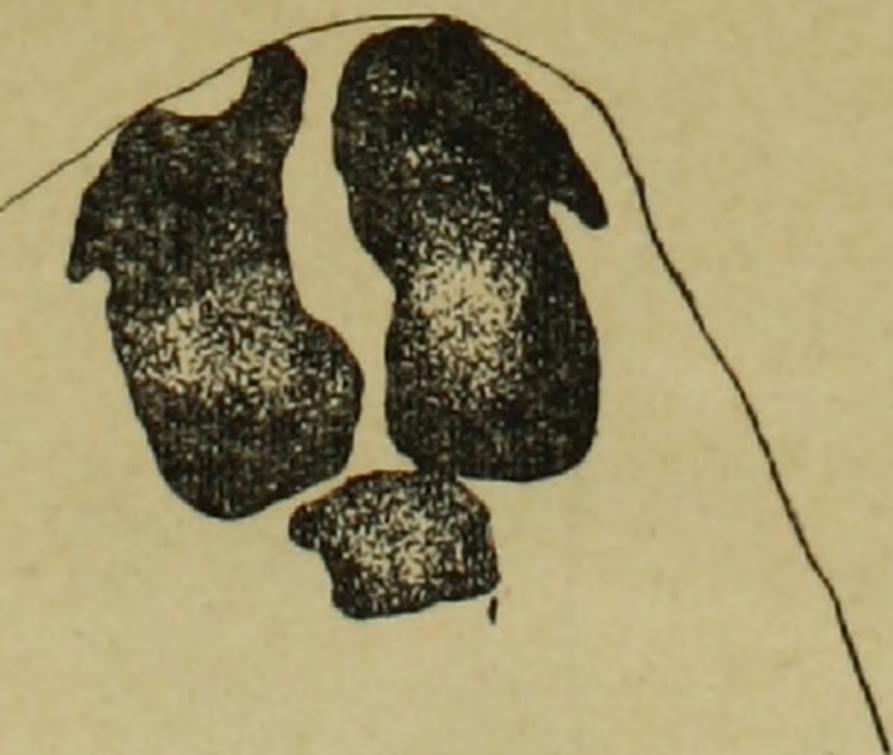


Рис. 3.



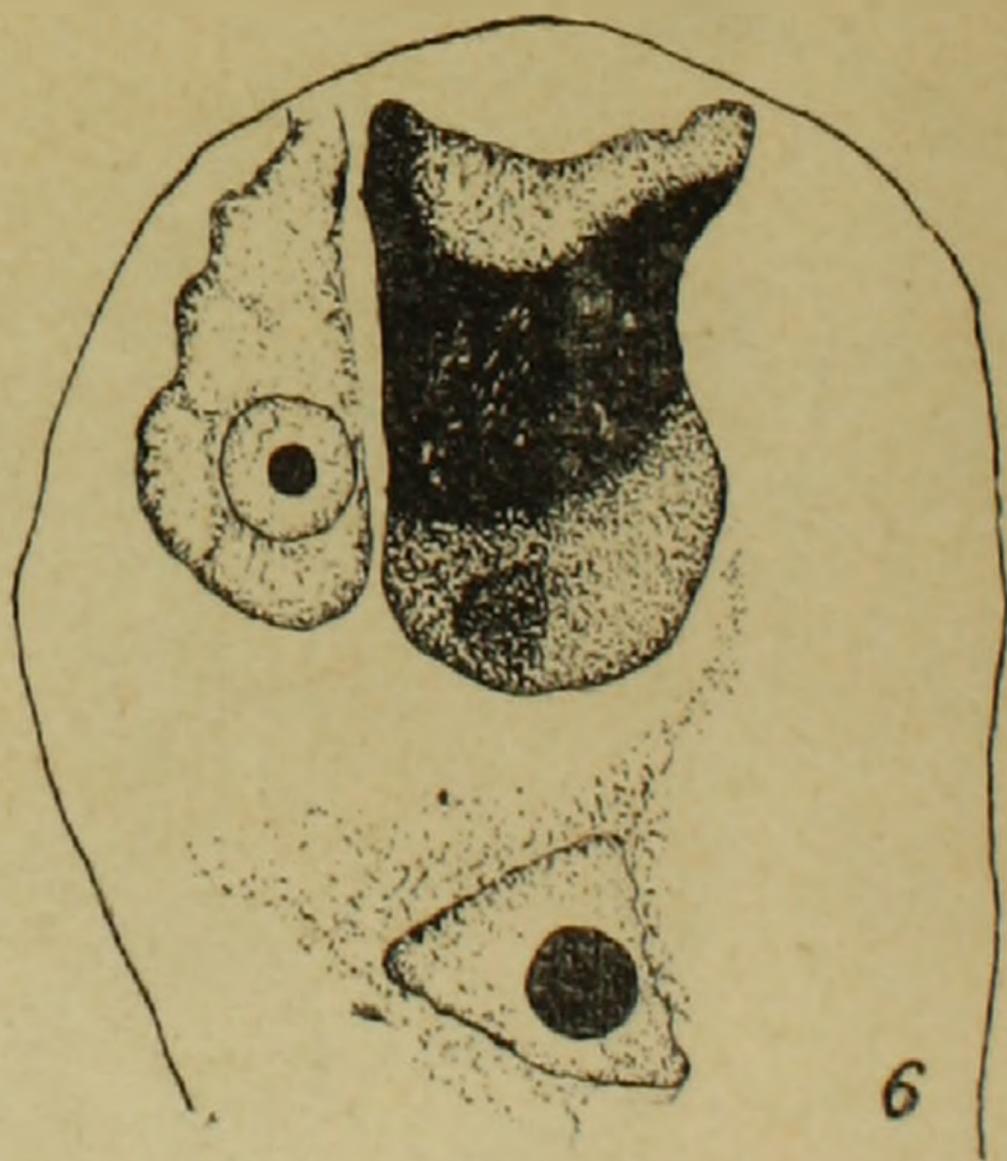
4

Рис. 4.



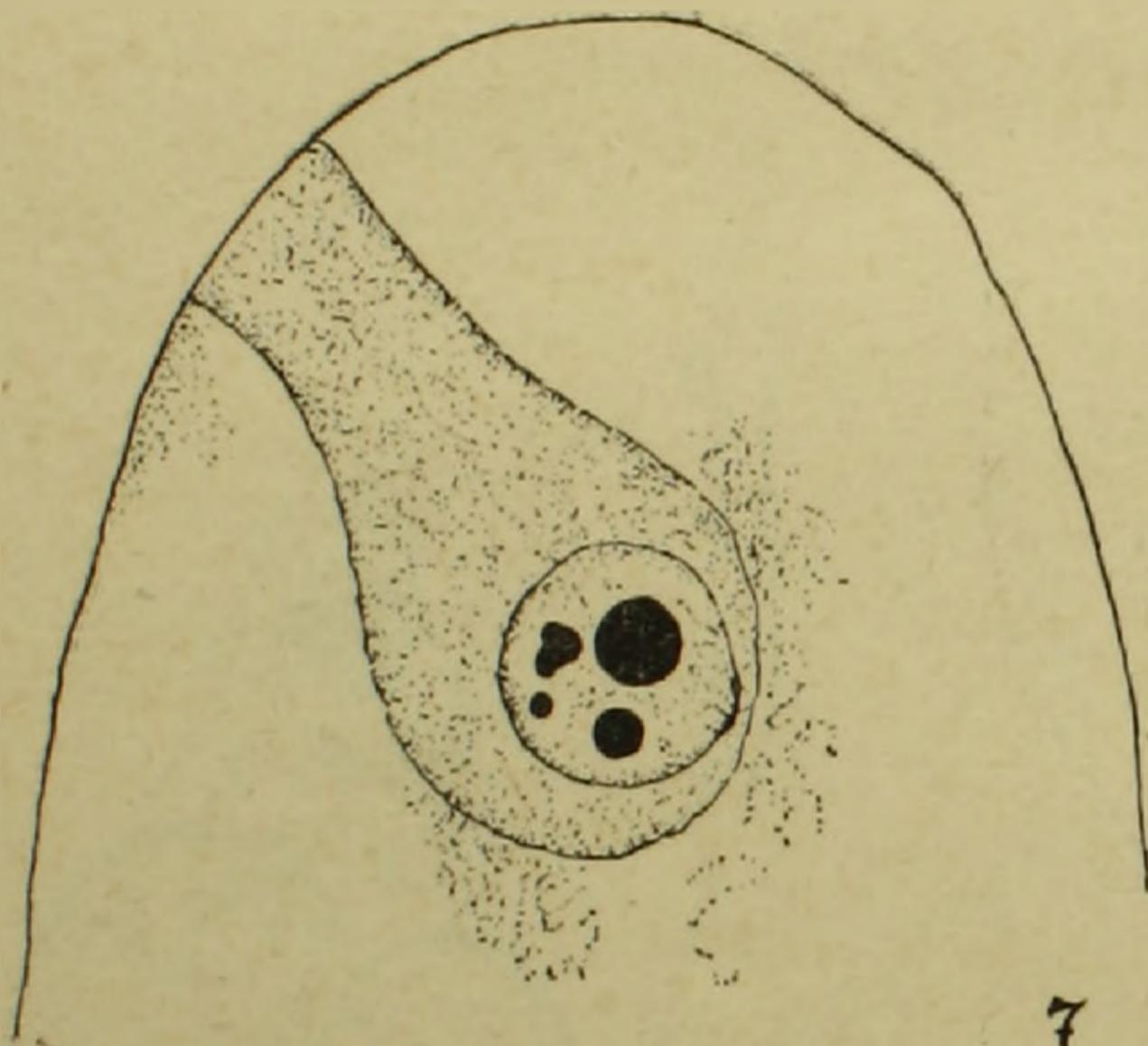
5

Рис. 5,



6

Рис. 6,



7

Рис. 7.

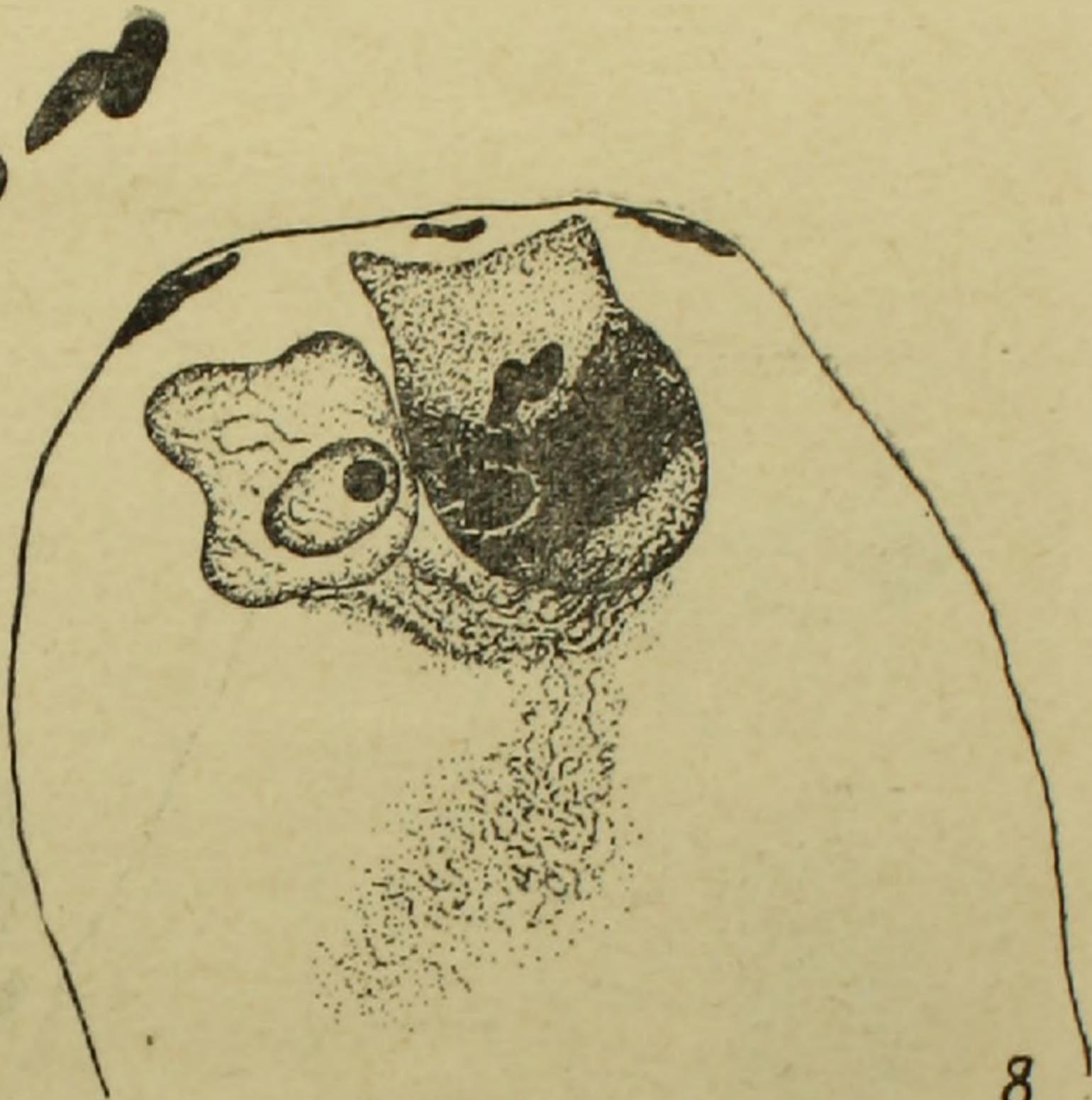


Рис. 8.

ПА-6076.

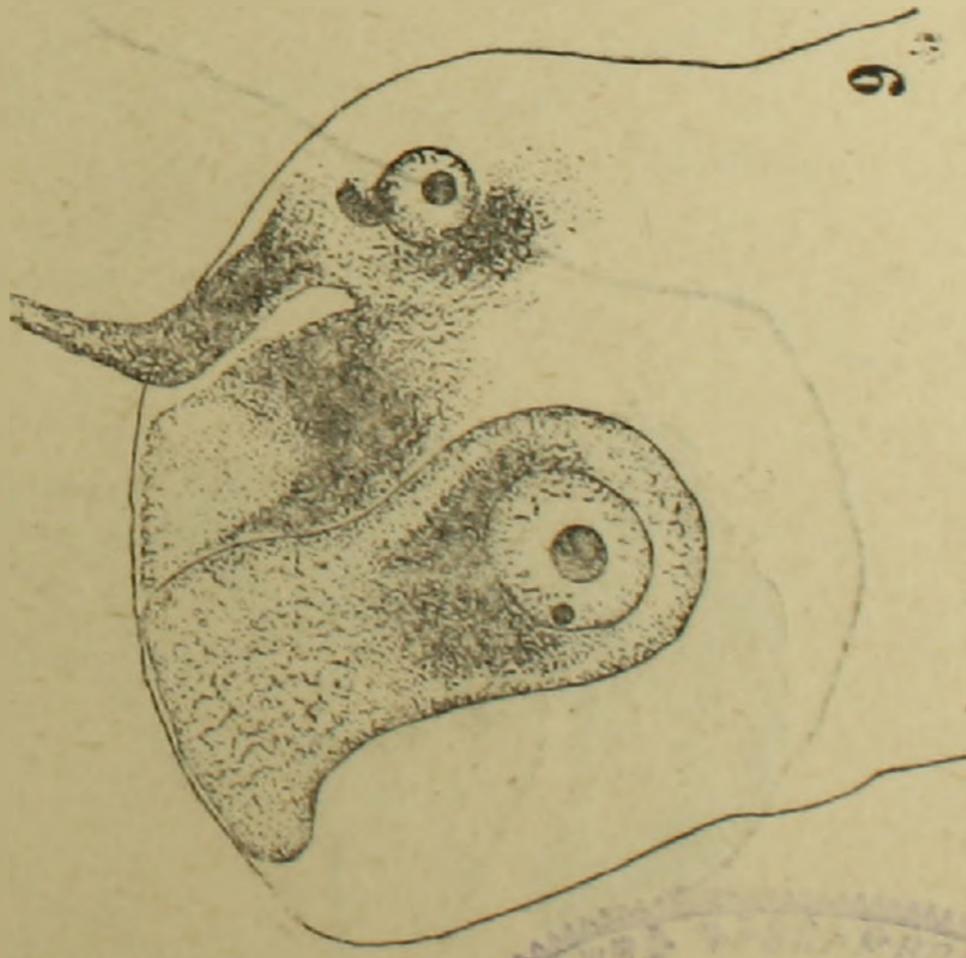


Рис. 9.



Рис. 10.



Рис. 11.

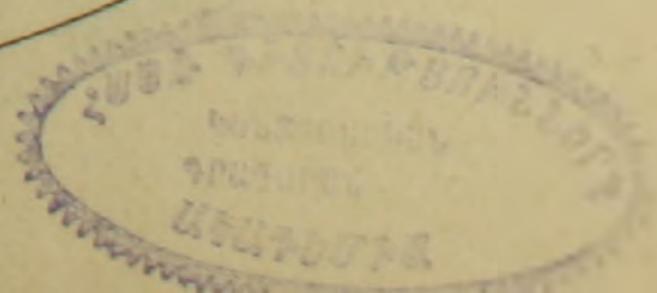




Рис. 12.

12

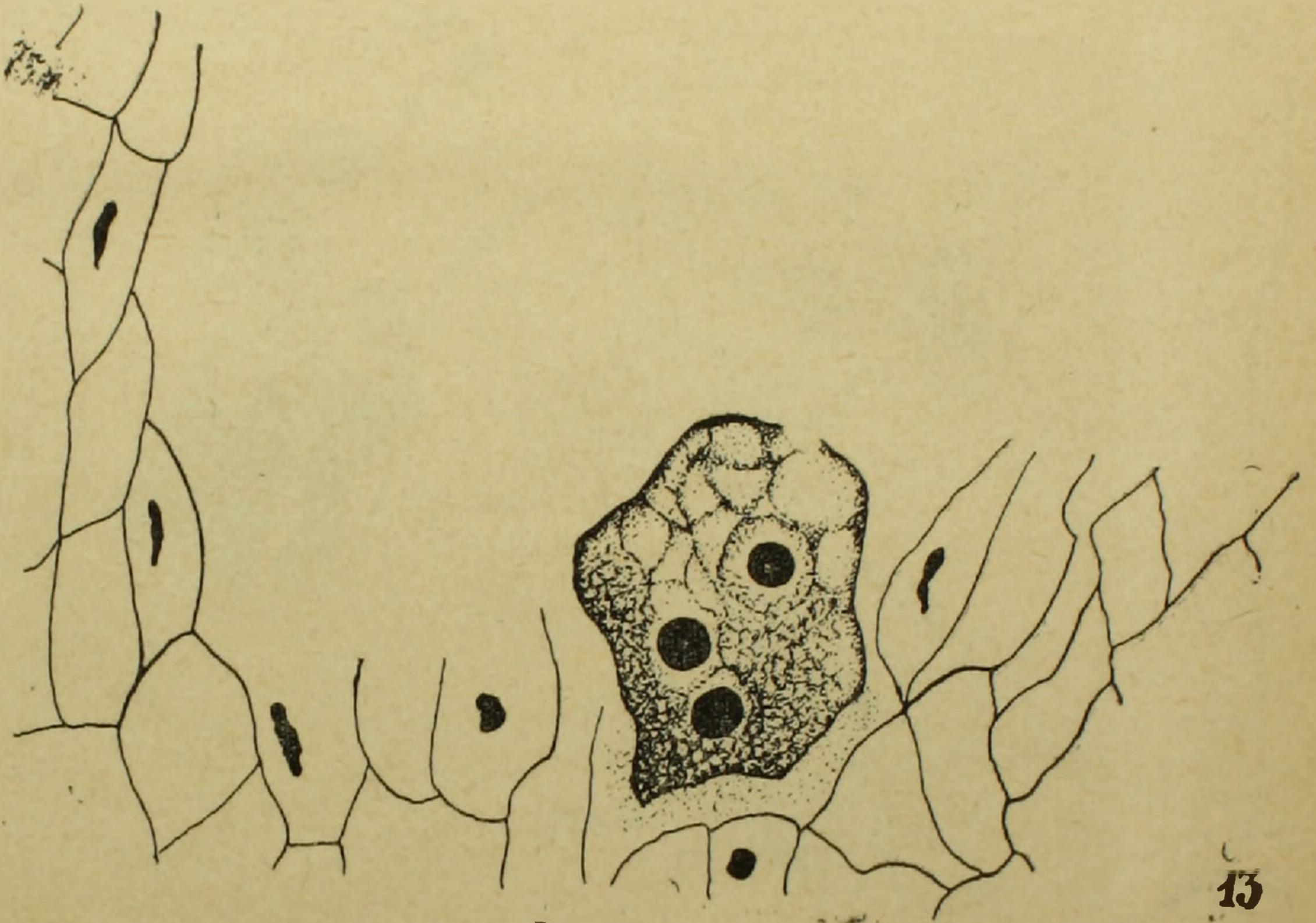
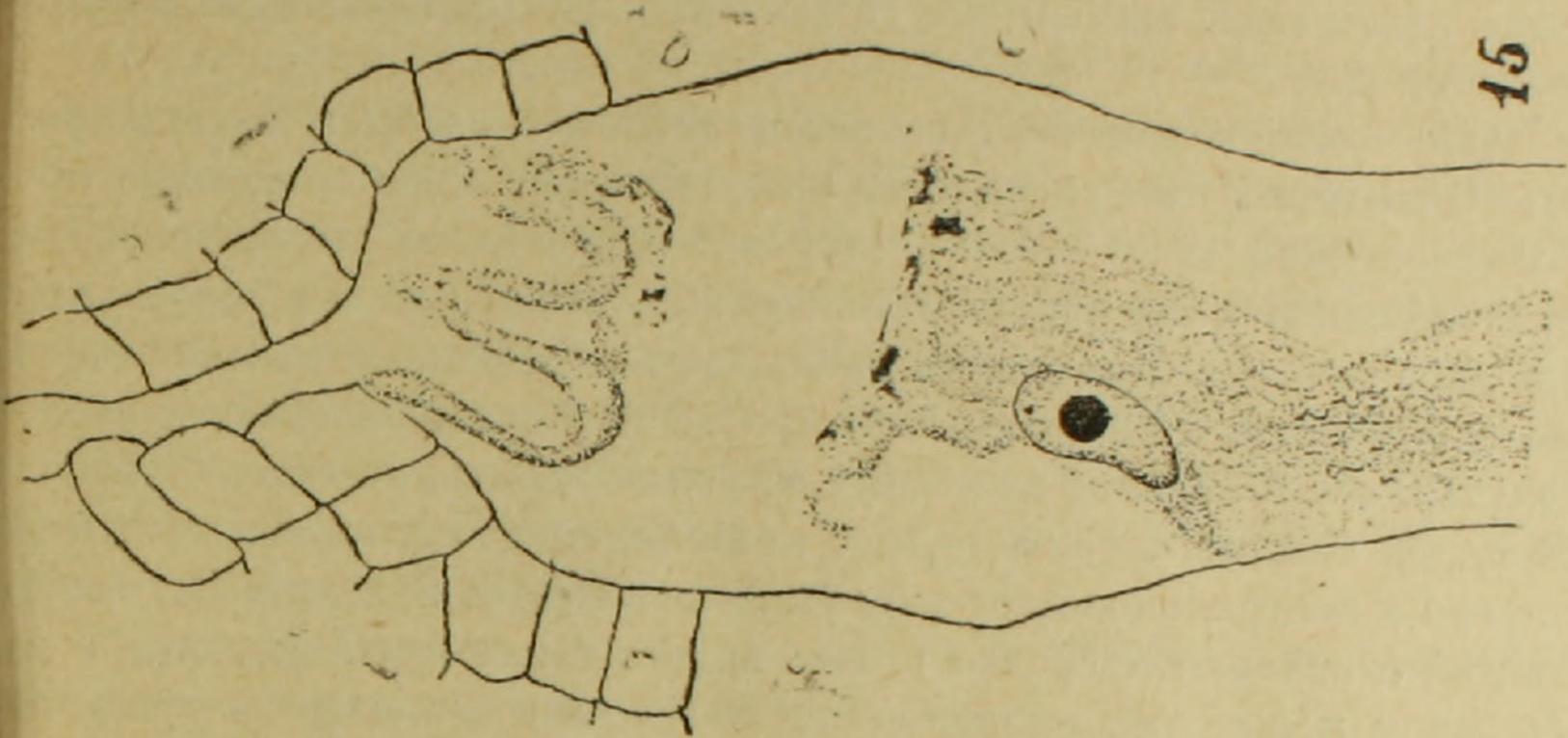
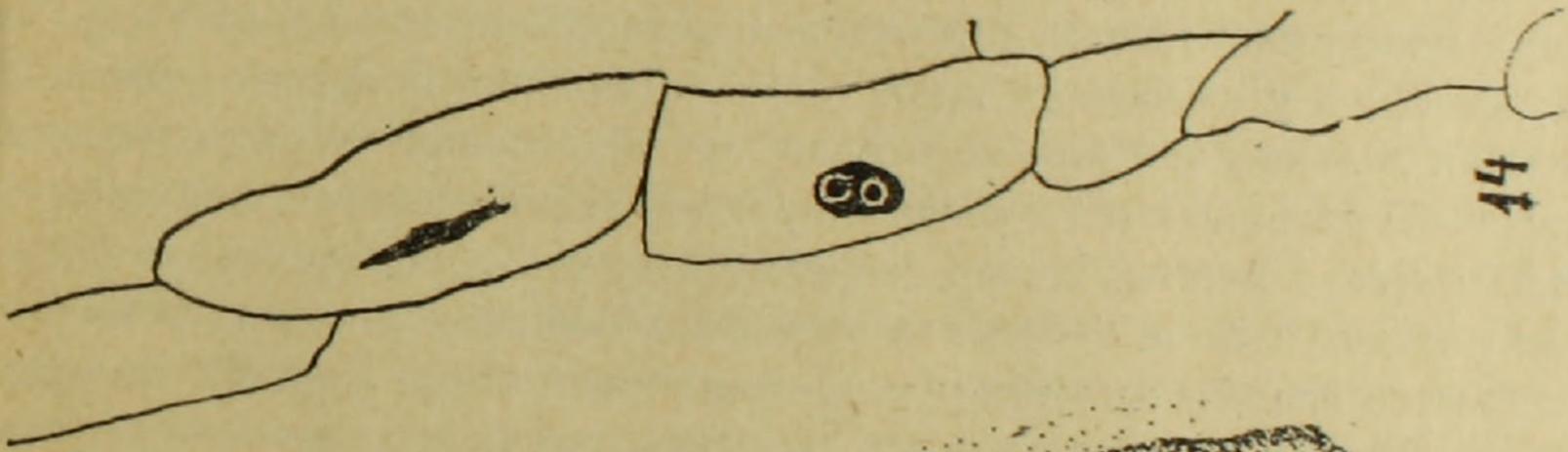


Рис. 13.



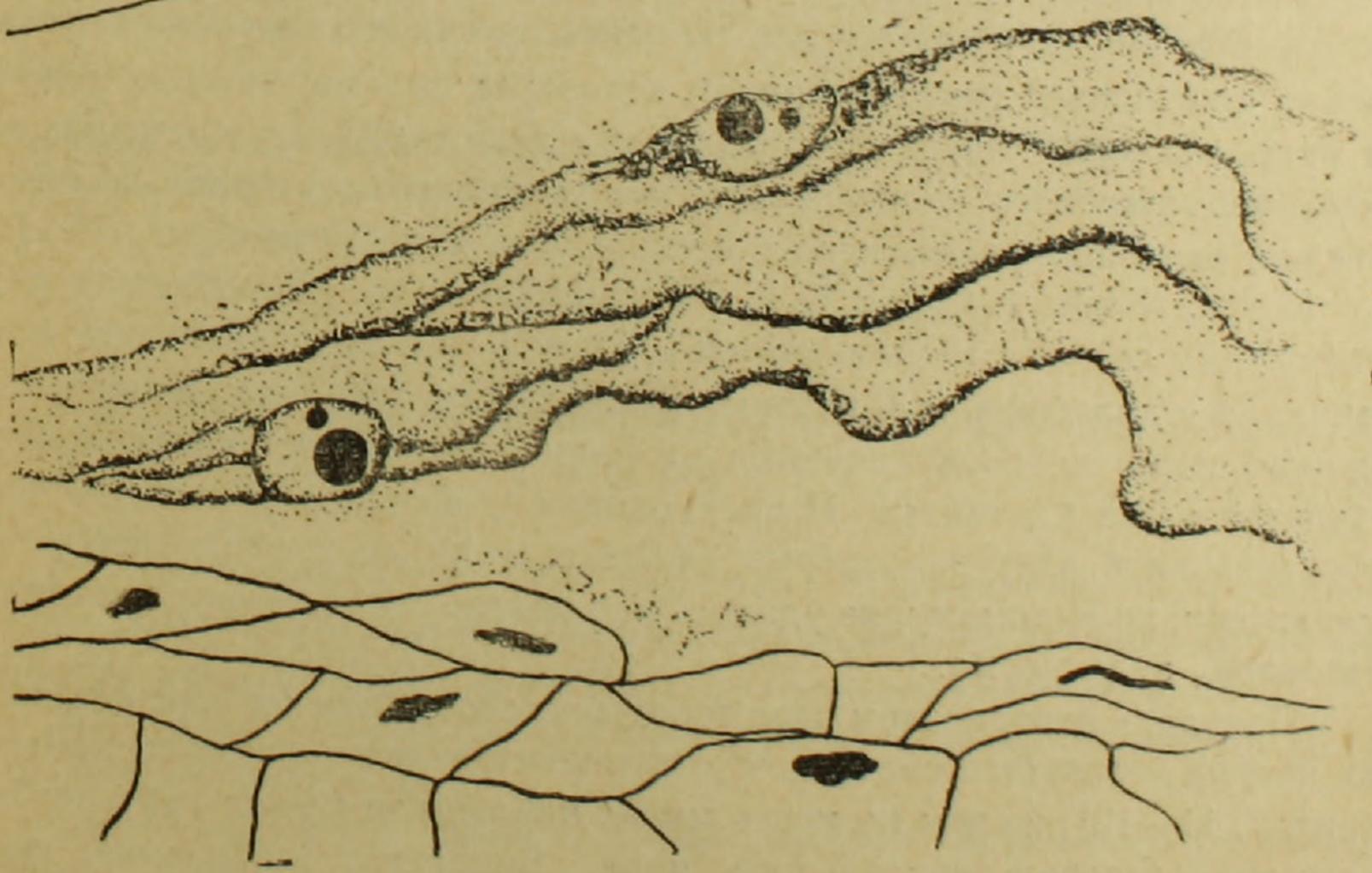
15

Рис. 15.



14

Рис. 14.



На рис. 5 и 10 изображены типичные картины микропиллярной части зародышевого мешка после вхождения одной пыльцевой трубки, когда она облила своим содержимым обе синергиды и центральное ядро зародышевого мешка.

Чаще можно видеть картины оплодотворения, изображенные на рис. 5—12. Оплодотворение яйцеклетки и центрального ядра происходит почти одновременно (рис. 11—12), иногда же последняя оплодотворяется несколько раньше, чем яйцеклетка. Вообще у исследуемой культуры картины двойного оплодотворения наблюдаются редко, чаще имеет место оплодотворение центрального ядра (рис. 10). Указанный факт является не случайным, в этом, по-видимому, причина осыпания такого большого количества цветков, а также и того явления, когда оплодотворенные яйцеклетки и центральное ядро зародышевого мешка не достигают своего развития и опадают. Нередко можно видеть такие картины, когда в зародышевом мешке уже наблюдаются 8—16 ядер эндосперма, тогда как у микропиллярной части видны лишь следы дегенерировавших элементов яйцевого аппарата. Как было уже отмечено, картины оплодотворения наблюдаются через 24 часа после опыления. Такое продолжительное время между опылением и актом оплодотворения объясняется тем, что спермиогенез у винограда происходит в столбике и тканях завязи. Ко времени деления центрального ядра и образования ядер эндосперма, синергиды разрушаются и ассимилируются развивающимися элементами зародышевого мешка. Интересно отметить, что перед оплодотворением зародышевый мешок винограда заполняет большая вакуоль; небольшое количество плазмы имеется у микропиллярной части (рис. 8). Во время же образования ядер эндосперма зародышевый мешок заполняет густая, сильно красящаяся гематоксилином зернистая плазма, которая тянется от микропиллярной части к халазальной в виде тяжей, соединяющих оба конца зародышевого мешка, в котором располагаются крупные, округлой или овальной формы ядра с несколькими ядрышками (рис. 14—15).

К сожалению, указание Г. В. Ткаченко [9] на то, что первичное ядро эндосперма сначала увеличивается в размере и в нем появляется 4 ядрышка, а в дальнейшем 8, которые вмещаются в границах бывшего вторичного ядра, не подкрепляются на нашем материале сколько-нибудь убедительными картинами. И предположение автора об одновременном образовании 8 ядер эндосперма является спорным и объясняется тем, что автору, по-видимому, не удалось наблюдать более ранних картин образования эндосперма.

Правда, в центральном ядре зародышевого мешка и в ядре яйцеклетки иногда образуется более одного дополнительного мужского ядрышка (рис. 7, 11—12), но тем не менее мы не наблюдали какого-либо необычного типа деления центрального ядра. Винограду свойственен, как и многим другим культурам, нуклеарный тип образования эндосперма.

У винограда так же, как и у других культур, наблюдается оплодотворение в большинстве случаев одним спермием. После излияния содержимого пыльцевых трубок в зародышевый мешок, спермии имеют

продолговатую форму, иногда заостренную с одной стороны (рис. 8). Гематоксилином последние окрашиваются очень интенсивно и невозможно наблюдать какой-либо внутренней структуры.

После оплодотворения на месте растворенного спермия образуется одно или несколько маленьких ядрышек, которые впоследствии сливаются. Деление оплодотворенных женских ядер в зародышевом мешке наступает не сразу, а спустя довольно длительное время после оплодотворения (около 24 часов), клетки нуцеллуса к этому времени сильно разрушаются, сохраняются только их оболочки.

Из вышесказанного можно сделать следующие выводы:

- 1) пыльцевые трубки достигают микропилле и изливают свое содержимое в зародышевый мешок через 24 часа после опыления. Оплодотворение совпадает с засыханием рылец;
- 2) перед оплодотворением зародышевый мешок полностью дифференцирован и полярные ядра слиты;
- 3) развитие оплодотворенных элементов зародышевого мешка идет крайне медленно, деление центрального ядра происходит только через 24 часа после оплодотворения;
- 4) содержимое пыльцевой трубки, изливаясь в зародышевый мешок, часто обливает не только одну или обе синергиды, но и яйцеклетку, в результате чего имеет место оплодотворение только центрального ядра зародышевого мешка, а впоследствии и образование ядер эндосперма;
- 5) картины двойного оплодотворения у исследуемой культуры наблюдаются редко. Даже оплодотворенная яйцеклетка не всегда развивается в зародыш. Это обстоятельство вместе с другими является, по-видимому, причиной осыпания такого большого количества цветков у винограда.

Ереванский государственный университет,  
научно-исследовательская лаборатория  
цитологии

Поступило 12.II 1965 г.

Ե. Ք. ՍԻՄՈՆՅԱՆ, Գ. Ն. ՍԱՄՎԵԼՅԱՆ

ԽԱՂՈՂԻ ՑԻՏՈ-ՍԱՂՄՆԱԲԱՆԱԿԱՆ ՌԻՍՈՒՄԵԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Աշխատանքն սկսվել է 1963 թվականի Երկրագործության ինստիտուտում և շարունակվել Երևանի պետական համալսարանի կենսաբանական ֆակուլտետի բջջաբանության գիտահետազոտական լաբորատորիայում:

Հետազոտությունների համար օգտագործվել են խաղողի Կախեթ, Ոսկեհատ, Արագածի սորտերը:

Փորձական նյութը ֆիքսվել է հինգ տարբեր ֆիքսածներով, ներկվել տարբեր ներկերով, ֆիքսածներից և ներկման եղանակներից օգտագործելի էղան նավաշինի ֆիքսածր և հեմոտոքսիլինով ներկումը ըստ Հայդենհայնի:

Ֆիքսման են ենթարկվել կոկոնները, առանձին առէջքները, ազատ և հարկադիր փոշոտումից հետո կաստրացիայի ենթարկված ծաղիկները:

Մեր հետազոտությունները թույլ տվեցին անելու խաղողի բեղմնավորման պրոցեսին վերաբերող մի շարք հետևություններ.

Փոշեհատիկային խողովակի փոշոտումից 24 ժամ հետո հասնում է միկրոպիլե և իր պարունակությունը լցնում է սաղմնապարկ, բեղմնավորումը համընկնում է սպիի շորացման հետ, որը այդ ժամանակ կորցնում է իր հյութալի տեսքը:

Բեղմնավորությունից առաջ սաղմնային պարկը լրիվ դիֆերենցվում է, իսկ կենտրոնական կորիզները միաձուլվում են:

Սաղմնային պարկի բեղմնավորված էլեմենտների զարգացումն ընթանում է ծայր աստիճանի դանդաղ, կենտրոնական կորիզի կիսումը տեղի է ունենում բեղմնավորումից 24 ժամ հետո:

Փոշեհատիկային խողովակի պարունակությունը թափվելով սաղմնապարկ հաճախ սևացնում է ոչ միայն մեկ կամ երկու սիներգիզները, այլև ձվաբջիջը, որի հետևանքով տեղի է ունենում կենտրոնական կորիզի բեղմնավորում հետագայում՝ էնդոսպերմի կորիզների առաջացում:

Կրկնակի բեղմնավորման պատկեր հետազոտվող կուլտուրայի մոտ հանդիպում է հազվադեպ: Անգամ բեղմնավորված ջվաբջիջը միշտ չէ, որ սաղմ է առաջացնում:

Այս հանգամանքը, մյուսների հետ միասին, խաղողի ծաղիկների մեծ քանակությամբ ծաղկաթափի պատճառ է դառնում:

#### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Баранов П. А. Тр. Ак-Кавакской опытно-оросительной станции, вып. 4, Ташкент, 1927.
2. Бузин Н. П. Биологические основы виноградного растения. АН Узб. ССР, Ташкент, 1952.
3. Иванова-Паройская М. И. Тр. сектора раст. ресурсов, в. 10, Изд. Комитета наук Узб. ССР, Ташкент, 1938.
4. Иванова-Паройская М. И. Изд. Комитета наук Узб. ССР, Ташкент, 1938.
5. Лазаревский М. Тр. по прикл. бот., ген. и селекции, серия VIII, 2, 1934.
6. Лакиза Е. Н. Докл. и сообщ. Ужгор. Госунта, сер. биол. 3, 1959.
7. Мержаниан Л. Изд. Одесской винодельческой станции, ч. I, вып. 1, 1919.
8. Руденко Ф. Е. Научные записки Ужгородского госуд. унив., т. VIII, Биология, 1953.
9. Ткаченко Г. В. Докл. и сообщ. Ужгородск. госунта, серия биол., 1959.
10. Ткаченко Г. В. Доклад и сообщения Ужгородск. госунта, серия биол. 4, 1961.