

**БУЛЕТИНУЛ**  
**АКАДЕМИЕЙ ДЕ ШТИИНЦЕ**  
**А РСС МОЛДОВЕНЕШТЬ**

**ИЗВЕСТИЯ**  
**АКАДЕМИИ НАУК МОЛДАВСКОЙ ССР**

8

1962

ИЗДАТЕЛЬСТВО «ШТИИНЦА»

АКАДЕМИЯ НАУК МОЛДАВСКОЙ ССР

П-158

**БУЛЕТИНУЛ**  
**АКАДЕМИЕЙ ДЕ ШТИИНЦЕ**  
**А РСС МОЛДОВЕНЕШТЬ**

**ИЗВЕСТИЯ**  
**АКАДЕМИИ НАУК МОЛДАВСКОЙ ССР**

№ 8

ИЗДАТЕЛЬСТВО «ШТИИНЦА»  
АКАДЕМИИ НАУК МОЛДАВСКОЙ ССР  
КИШИНЕВ \* 1962

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Академики АН МССР Я. С. Гросул (главный редактор), П. И. Дворников (зам. главного редактора); член-корреспондент АН МССР А. Е. Коварский, кандидат биологических наук С. М. Колесников, кандидат сельскохозяйственных наук Т. С. Чалык

738722  
 Центральная научная  
 БИБЛИОТЕКА  
 Академии наук Кишиневского ССР

А. Е. КОВАРСКИЙ

ИТОГИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ГЕНЕТИКО-СЕЛЕКЦИОННЫХ  
 ИССЛЕДОВАНИЙ ПО КУКУРУЗЕ В ОБЪЕДИНЕННОМ ОТДЕЛЕ  
 ГЕНЕТИКИ МОЛДАВСКОГО ФИЛИАЛА АН СССР  
 И КИШИНЕВСКОГО СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОГО  
 ИНСТИТУТА им. М. В. ФРУНЗЕ

(за период с 1945 по 1960 год)<sup>1</sup>

Важнейшим разделом деятельности Объединенного отдела генетики Кишиневского сельскохозяйственного института и Молдавского филиала АН СССР с 1945 по 1960 г. были исследования по кукурузе.

На первых этапах исследований были собраны и изучены сведения о происхождении и истории внедрения кукурузы в Молдавию. Было выяснено, что уже в XVII столетии, т. е. почти 300 лет тому назад, молдавское население акклиматизировало и внедрило кукурузу как кормовое и пищевое растение. В 1775 г. Александром Гикой были опубликованы так называемые «Пункты, или статьи Вистияринские», в которых была дана подробная инструкция о возделывании, хранении и использовании кукурузы в Бессарабии.

Создание крупного очага по культуре кукурузы в Молдавии (бывшей Бессарабии) сыграло большую роль в проникновении кукурузы в соседние с ней области Украины (Одесскую, Херсонскую, Каменец-Подольскую и др.). В дальнейшем местные стародавние образцы молдавской кукурузы под названием Молдаванка, Бессарабка, Портокаллиу, Чинквантино проникли в разные пункты России и послужили основой для распространения и внедрения кукурузы на Северный Кавказ, в Поволжье и по всей Украине.

Как показали многолетние (1945—1960 гг.) исследования большой коллекции (свыше 700 образцов) местной стародавней кукурузы бывшей Бессарабии, среди этих образцов имеются очень ценные исходные формы, обладающие свойствами засухоустойчивости, холодостойкости, скороспелости, стерильности мужского соцветия (молдавский тип стерильности по М. И. Хаджинову), неполегаемости, повышенного содержания белка, устойчивости к пузырчатой головне и др.

В первый период генетических и селекционных исследований местных образцов в Кишиневском сельскохозяйственном институте (1945—1950 гг.) были выделены, описаны, улучшены и сохранены местные

<sup>1</sup> Излагаемые здесь результаты работы были доложены на Совете по координации в Институте кукурузы в г. Днепропетровске в марте 1960 г.

сорта кукурузы: Молдаванка оранжевая КСХИ, Молдаванка желтая КСХИ, Чинквантин Васильково-Трифлауцы, Чинквантин кишиневский (из Темелеуц), Портокалию, Молдаванка белая и Молдавская рисовая, Полузубовидная из Твардицы.

Все эти сорта несмотря на хорошее качество зерна уступали или были равны по урожаю селекционным сортам зубовидного типа (Днепропетровский и Стерлинг). Созданный в 1949—1950 гг. межсортовой гибрид Кишиневский 2 (Молдаванка оранжевая × Стерлинг) по урожайности превосходил все местные сорта, а также районированные сорта Днепропетровская и Стерлинг и получили (Кишиневский 2) заметное распространение (свыше 10 000 га) на юге Молдавии (Чадыр-Лунгский, Комратский и другие районы) в 1950—1954 гг.

В 1952—1955 гг. были начаты генетико-селекционные исследования по кукурузе с использованием новых принципов отбора и выведения гибридов.

Коллекция самоопыленных линий кукурузы ВИРа, полученная из разных частей земного шара и особенно из США, позволила многим научным учреждениям СССР создать простые и двойные межлинейные гибриды кукурузы, более урожайные, чем межсортовые гибриды, ранее распространенные у нас. В частности, гибриды ВИР 42 и ВИР 25, выведенные на Кубанской опытной станции ВИРа, превосходили другие перспективные сорта кукурузы Молдавии. Встала большая генетико-селекционная задача — используя принципы мичуринской агробиологии и достижения зарубежной генетики и селекции кукурузы, разработать теоретически более эффективную методику селекции кукурузы и на основе этого создать новые перспективные гибриды кукурузы, более урожайные, чем лучшие гибриды кукурузы из США и районированные в республике гибриды ВИР 25 и ВИР 42, а также с улучшенными показателями их качества.

Для решения этой большой задачи были развернуты теоретические исследования в разных направлениях.

Эти теоретические направления, которые мы рассматриваем ниже, затрагивают разные научные области познания природы кукурузного растения как объекта генетико-селекционных исследований.

#### Цитоэмбриологические исследования

За прошлые годы в лаборатории цитоэмбриологии растений Молдавского филиала АН СССР С. М. Колесников со своим коллективом (А. А. Чеботарь, М. Н. Пирев, В. А. Коваленко, В. В. Крылова) разработывал методику цитоэмбриологических исследований применительно к специфике кукурузного растения. В результате этого в технику фиксации препаратов и их изготовления были внесены изменения, позволяющие быстро изготовить большое количество препаратов и улучшить их качество.

В этот период важнейшими вопросами изучения цитоэмбриологии кукурузы и некоторых других растений были следующие:

- 1) изучение влияния температуры и влаги на гамето- и эмбриогенез;
- 2) изучение цитоэмбриологии разных типов опыления (инцухта, разных типов перекрестного опыления, в том числе и с внесением ментора чужеродной пыльцы);
- 3) изучение цитоэмбриологии растений кукурузы с мужской стерильностью соцветия.

За этот период зафиксировано около 8 тысяч объектов с темпоральной (во времени) фиксацией многих из них по отдельным опытам. На основе этих объектов изготовлено до 25 тысяч постоянных препаратов, которые изучаются С. М. Колесниковым и его сотрудниками, а также аспирантами лаборатории генетики.

Проведенными исследованиями было установлено большое влияние изменений температуры и влаги на гамето- и эмбриогенез. Вскрыты и описаны некоторые детали и тонкости цитоэмбриологии стерильных форм кукурузы по мужскому и женскому гаметофиту.

Анализ данных по цитоэмбриологии мужской стерильности и по чужеродному ментору пыльцы при разных условиях опыления подтверждает выдвинутую и обоснованную С. М. Колесниковым гипотезу «фильтров органического питания» и некоторых сторон онто-филогенетической теории гетерозиса. Эти результаты позволяют объединить в одно целое три ведущие идеи современной биологии: повторяемость развития, распад живого и наследование признаков. На огромном фактическом материале по кукурузе с проверкой некоторых сторон на других растительных объектах С. М. Колесников разрабатывает биологию гамето- и эмбриогенеза растений, которая в общих кратких чертах сводится к следующему:

1. Формирование органов размножения и гамет отличается от обычных процессов роста и дифференциации. По новым данным наиболее важной особенностью процессов гамето- и эмбриогенеза следует считать неполный распад тканей, окружающих генеративные органы и клетки (так называемые тапетальные и тапетальнообразные ткани). Именно через эти частично распадающиеся структуры и клетки как через «фильтры» осуществляется питание гамет и зародыша. В процессе становления нового организма наблюдается смена одних «фильтров органического питания» другими. Это чередование «фильтров питания» кратко повторяет эволюцию питания далекого филогенетического прошлого растений.

2. Новейшие данные цито- и биохимии позволяют понять биологическую целесообразность неполного распада тапетальных тканей как процессов, открывающих дорогу повторяемости в развитии организмов. По-видимому, распад тканей и клеток позволяет организмам в процессе повторяемости развития отбросить все структурно и биологически оказавшееся ненужным, устаревшим и одновременно с этим включить в структуру и биологию живого полезное новое, приобретенное организмом в течение предшествующего онтогенеза.

3. Вероятнее всего, включение биологически и структурно полезного, нового происходит по типу дарвиновского пангенезиса, т. е. постепенно и многократно. Роль же геммул в этом случае выполняют особые белковые гранулы, точнее — биогранулы, в изобилии образующиеся при частичном распаде тапетальных тканей.

4. Учитывая все вышесказанное, можно полагать, что усиление процессов неполного распада клеток и тканей будет сопровождаться усилением формообразовательных процессов и должно быть локализовано там, где происходит становление организма. В этой связи следует указать также на усиленный распад тканей в местах образования и функционирования разных органов вегетативного размножения, наличие органов распада в местах срачивания привитых компонентов при получении вегетативных гибридов, распад тканей при образовании каллюсов и регенерантов (при повреждениях растений насекомыми и болезнями, при механических повреждениях), усиление процессов рас-

пада при самоопылении (инцухте) растений и при добавлении пыльцы отдаленных форм как ментора.

5. Изучение процесса наследования признаков показывает, что в процессе развития это наследование осуществляется посредством последовательной смены снабжения материнским организмом гамет, зиготы и зародыша вначале единичными биогранулами, затем целыми комплексами их (хромосомами, при кариокинезе), позже продуктами неполного распада ядерного и клеточного содержимого тапетальных и тапетальнообразных тканей и на заключительных этапах развития зародыша пластическими, выработанными всем организмом в целом веществами, которые доставляются сосудисто-волокнистым пучком. Повидимому, смена форм наследования признаков в процессе становления нового организма является одним из ведущих и вместе с тем самым общим проявлением свойства повторяемости, как своего рода основы, на которой только и возможно осуществление всякого развития.

#### Изучение оплодотворения кукурузы методом радиоактивных изотопов

Исследования по радиобиологии в Кишиневском сельскохозяйственном институте им. М. В. Фрунзе, проводимые В. Н. Лысковым в течение последних 5 лет, затрагивают вопросы изучения некоторых сторон оплодотворения кукурузы.

Работа проводилась на перерасчетной схеме типа Б-2, в свинцовом домике типа ИФХАН-2 с использованием торцовых счетчиков марки МСТ-17 и БФЛТ-25. Фон во время работы был довольно постоянным и колебался в пределах 15—16 импульсов. В работе была использована метка пыльцы по методу, разработанному в Харькове И. М. Поляковым (пыльца метелок): радиоактивным фосфором ( $P^{32}$ ) и радиоактивной серой ( $S^{35}$ ).

Изучалось передвижение радиоактивных веществ от чужеродной и родственной пыльцы, использованной в качестве ментора, в результате чего было установлено передвижение меченых веществ от чужеродной пыльцы (тыквы, мальвы, сорго, подсолнечника и др.) по нитям кукурузы с обнаружением этих веществ в зерне материнских форм при самоопылении.

Установлено, что при меченой полустерильной пыльце кукурузы, выделенной из форм с молдавской стерильностью, последняя, не принимая, казалось бы, прямого участия в оплодотворении (что обнаруживается по отсутствию изменения в окраске белозерных форм), в то же время обнаруживает радиоактивность зерна по радиоактивному фосфору, туда поступившему.

Доказано, что пыльца кукурузы с молдавским типом мужской стерильности, по сравнению со своим фертильным аналогом, в большинстве случаев более активно воспринимает чужую меченую пыльцу.

Кроме этих работ ведутся исследования по изучению поступления радиоактивных веществ от подвоя к привою и, наоборот, при вегетативной гибридизации кукурузы и некоторых других растений.

#### Изучение морфогенеза самоопыленных линий, гибридов и фертильных и стерильных форм кукурузы

Начиная с 1955 г. Е. М. Морозовой изучался морфогенез двойного межлинейного гибрида ВИР 42, гибридов Слава, Светоч и слагающих их линий 38, 40, 43, 44. В дальнейшем изучались и другие гибриды

и их родители. В результате исследований выяснилось, что у гибридов при менее продолжительных фазах онтогенеза формируется больше структурных элементов, присущих данной фазе, т. е. у гибридов наблюдается гетерозис. При этом, как показали исследования Е. Д. Морозовой и Ф. Д. Коган, на ранних этапах морфогенеза (у 35—40-дневных растений) можно судить о гетерозисе гибрида и на этой основе делать предварительное заключение о ценности форм, слагающих гибрид.

При наличии теплиц этот способ открывает широкие перспективы использования такой методики для ускоренных методов селекции кукурузы, что и планируется осуществить уже в ближайшие 2—3 года (1963—1964).

В 1958—1960 гг. изучался морфогенез кукурузы с мужской стерильностью у сорта Молдаванка желтая, гибрида Слава и самоопыленной линии ВИР 44 (стерильных и фертильных аналогов).

На основе фенологических наблюдений и исследований морфогенеза верхушечных и пазушных точек роста установлено, что рост стерильных форм, начиная с первых этапов развития, отстает от фертильных. В период выметывания и цветения эта разница выражена более резко, особенно у линии 44.

У стерильных форм дифференциация как мужских, так и женских соцветий происходит быстрее, чем у фертильных. В результате фиксации пыльников (по Навашину) и окрашивания пыльцы установлено, что фертильная пыльца двухъядерная, а стерильная одноядерная, т. е. у стерильных форм не происходит нормального развития мужского гаметофита.

Все эти факты представляют определенный интерес для более ранней диагностики явления стерильности пыльцы при селекции кукурузы с использованием этого явления при ее гибридизации.

Оплодотворение полустерильной пыльцой, как показали специальные исследования Т. С. Чалыка, с последующим самоопылением фертильных или полустерильных выщепенцев приводит к бурному формообразовательному процессу, что связано с существенными изменениями в ядре и клетке у таких форм. Эти работы в дальнейшем планируются для более широкого их развития на ближайшие годы.

#### Выведение самоопыленных линий кукурузы в зависимости от происхождения исходного семенного материала

За годы исследований, с 1952 по 1960 г., сопоставлялись между собой самоопыленные линии, выведенные под нашим руководством Т. С. Чалыком, М. И. Боровским и В. Г. Учковским из местных молдавских сортов, из сортов и образцов, полученных из разных стран, от гибридов межлинейных и межсортовых, а также от форм, искусственно создаваемых разными приемами селекции.

Эти данные позволили нам прийти к выводу, что получение самоопыленных линий кукурузы от межлинейных гибридов (второй цикл самоопыления) требует меньших сроков для их выравнивания и линии получаются в целом более продуктивные и жизнеспособные. Многие образцы и сорта мировой коллекции кукурузы ВИРа, по-видимому, благодаря тому, что в прошлом целый ряд их поколений в ВИРе подвергался (в разных пунктах репродукции) узкородственному размножению, значительно быстрее выравниваются, а иногда и меньше депрессируют. В то же время ряд сортов кукурузы из других районов, полученных непосредственно из мест возделывания, под влиянием самоопыления резко депрессируют и почти погибают, не перенося его

(ряд образцов из Молдавии, Румынии, Югославии, Чехословакии, Польши, северных областей СССР и из других стран).

Специальными исследованиями было установлено, что самоопыленные линии из Средней Азии отличаются засухоустойчивостью и меньшей депрессией от самоопыления. Оценка этих форм у нас проведена в широком плане.

Комбинационная ценность вновь выводимых линий существенно отличается в зависимости от ряда обстоятельств, из которых весьма выделается отдаленно географическое происхождение образцов и условия их репродукции. Скрещивание между собой линий с отдаленно географическим происхождением их плазмы обеспечивает наиболее высокий гетерозис гибридов.

В настоящее время из 15 тысяч линий отобрано около 2 тысяч наиболее стабильных, выравненных и продуктивных, из которых около 200 имеют более высокую комбинационную ценность. Гибриды их по урожаю в той или иной степени заметно превышают двойные межлинейные гибриды ВИР 25 и ВИР 42. В 1960 г. между многими простыми гибридами наших линий сделаны всевозможные скрещивания для синтеза на их основе двойных линейных гибридов. В настоящее время широко испытывались наши простые межлинейные гибриды, а начиная с 1962 г. будут использованы двойные межлинейные гибриды, целиком синтезированные на основе наших линий, проверенных на комбинационную ценность и в достаточной степени выравненных.

В 1960 г. широко проверялись и показали высокую урожайность наши новые межлинейные гибриды, у которых один простой гибрид складывается из нашей линии и из линии из коллекции ВИРа (из США), другой простой гибрид — из венгерских линий или линий, сочетающих венгерские линии с вировскими (из США).

Отдаленно географическое скрещивание линий в 1960 г. во многих случаях приводило к высокому гетерозису гибридов кукурузы, заметно превосходящих по урожаю районированные в МССР гибриды ВИР 25 и ВИР 42, несмотря на неблагоприятные погодные условия 1960 г. Много ценных линий выведено совместно с Т. С. Чалыком и Ф. Д. Коган в 1956—1960 гг. из гибридов кукурузы, полученных из США и Канады от фирм Пионер, Уорвик и Кинг-Кросс.

Из кремнистых образцов местных молдавских, а также из других районов СССР выведены ценные кремнистые линии, которые благодаря скороспелости, повышенному содержанию белка и холодостойкости используются для скрещивания с зубовидными линиями коллекции ВИРа и выведенными у нас. Кремнистые линии в сочетании с холодостойкими зубовидными в перспективе могут представлять большой интерес для севера СССР, поэтому в ближайшие годы необходимо провести широкую их оценку в отношении холодостойкости.

При изучении специфической комбинационной ценности тех или иных линий кукурузы, выведенных у нас на основе самоопыления за ряд лет, мы пользовались при подборе пар для скрещивания онто-филогенетической теорией гетерозиса, разрабатываемой ряд лет в нашей лаборатории (А. Е. Коварским и С. М. Колесниковым).

Учет прямого влияния среды в процессе онтогенеза при формировании самоопыленных линий кукурузы, а также выявление при инкубации разных типов самоопыленных линий: крахмалистого, зубовидного, гурсидного, восковидного, рисового и других — позволили нам для практических целей синтезировать простые гибриды по типу скрещивания противоречивых и генетически отдаленных форм кукурузы, сочетаю-

щих эти свойства с другими ценными агрономическими признаками (устойчивостью к засухе, к полеганию, холодостойкостью, устойчивостью к болезням и вредителям, ценными химическими свойствами).

Такие простые гибриды оказались высокоурожайными и во многих случаях с гетерозисом заметно более высоким, чем он проявляется у стандартных районированных в МССР гибридов (ВИР 42, ВИР 156, ВИР 25).

Анализ и детальное морфобиологическое описание линий с признаками указанных разновидностей для районированных в МССР гибридов, а также для ряда других хороших гибридов (Венгерский МВ 5, ряд гибридов фирмы Пионер и Кинг-Кросс) указывает на правильность избранного нами пути. Так, в состав гибридов ВИР 25, ВИР 42, ВИР 156, МВ 5 и многих других входят линии зубовидно-крахмалистые, гурсидные, кремнисто-полузубовидные и типично зубовидные. Такое сочетание форм в гибриде при разной длине вегетационного периода, разной форме початков у этих линий и часто при наличии разных тонов окраски семян (с кожурой бледно-желтой, золотисто-оранжевой, розовой и красной окраски) с разным содержанием хлорофилла в листьях дает наивысшую противоречивость, а следовательно, обеспечивает у них и наивысший гетерозис.

#### Работа по генетическому изучению и использованию для целей селекции явления мужской стерильности (по пыльце) кукурузы

Работы по использованию признаков мужской стерильности начаты были нами совместно с В. Г. Учковским (сбор и выявление местных молдавских образцов стерильной по пыльце кукурузы в 1949—1952 гг.) и в дальнейшем развернуты под нашим руководством в основном старшим научным сотрудником Т. С. Чалыком.

Эти исследования ведутся в следующих направлениях:

1. насыщение свойством стерильности и свойством восстановления фертильности разных линий и сортов и синтез на этой основе разнообразных гибридов кукурузы. Движение популяций кукурузы с разным соотношением в них стерильных и фертильных форм.

2. Передача признака стерильности у кукурузы вегетативной гибридизацией (в опытах М. И. Боровского) и некоторыми другими методами.

Т. С. Чалыком и И. Сусак с 1954 г. развернута большая работа по изучению признака цитоплазматической мужской стерильности молдавского типа, а с 1956 г. начаты исследования с тexasским типом цитоплазматической мужской стерильности.

Проводятся исследования по насыщению признаком стерильности ряда самоопыленных линий, семей и сортов; выявлению восстановителей фертильности при скрещивании со стерильными формами и использованию форм с мужской стерильностью и их восстановителей для создания простых и двойных гибридов кукурузы.

#### Работы по насыщению признаком мужской стерильности

Молдавским типом мужской стерильности насыщаются следующие линии: ВИР 2, ВИР 29, ВИР 38, ВИР 40, ВИР 47, ВИР 55; ВИР 64, ВИР 93, ВИР 95, ВИР 112, ВИР 113, ВИР 115, ВИР 116, ВИР 118, ВИР 157 (15 линий 6-го года насыщения); ВИР 4, ВИР 9, ВИР 11, ВИР 13, ВИР 17, ВИР 26, ВИР 27, ВИР 31, ВИР 34, ВИР 75, ВИР 89,

ВИР 90, ВИР 92, ВИР 98, ВИР 100, ВИР 105, ВИР 121, ВИР 134, ВИР 135, ВИР 140, ВИР 148, ВИР 193, ВИР 196, Грушевская 380, Д 10-3-2, Д 10-3-1-1-5-2, Д 48-1, Д 49-1-2-1-1, Пз 22-2-1-S<sub>2</sub>-1-1, Стерлинг 85-1-1, Стерлинг 88-2-1-1 (31 линия-5-го года насыщения); ВИР 7, ВИР 43, ВИР 52, ВИР 180, Венгерская 0118, Пз 56 (6 линий 4-го насыщения). Всего насыщается молдавским типом 54 линии;

сорта: Валтичка, Гелбер Ландманс, White rustler, Глория Янецкого, Костычевская, Портокалну, Кремнистая белая + желтая, Воронежская 76, Стерлинг, Котовчанка, Нордвестерн, Закарпатская, Золотая Прага, Функ 329, Экологический 886. Всего 15 сортов 5-го и 6-го года насыщения; Функ 329, Кичкасская, Чакинская, Костычевская, Лонгфеллов, Мандорфская, Сары Макое, Дублянская 9, Воронежская 80. Всего 9 сортов 4-го года насыщения.

Техасским типом мужской стерильности насыщаются следующие линии на уровне 4-го года насыщения: ВИР 2, ВИР 3, ВИР 11, ВИР 17, ВИР 18, ВИР 22, ВИР 27, ВИР 28, ВИР 29, ВИР 34, ВИР 38, ВИР 40, ВИР 43, ВИР 51, ВИР 73, ВИР 75, ВИР 82, ВИР 85, ВИР 94, ВИР 98, ВИР 100, ВИР 121, Молдаванка желтая 12-1-1-1-1, Молдаванка желтая 12-1-1-1-1-1, Молдаванка желтая 4-3, Молдаванка оранжевая 369-S<sub>1</sub>-2-2-1, Молдаванка оранжевая 224-1-1-S<sub>2</sub>-1, Львовская-1-2-2-3-1, Портокалну-1-S<sub>1</sub>-3-1-2-1, (Портокалну 10-1×ВИР 42)-1-2-2-1, (ВИР 40×43)×(Селекте рана×Д)-2-1, (ВИР 44×47)-1-3-1, ВИР 42-10-3-2-1, ВИР 42-78-4-2-1, (Пз 22×ВИР 44)×(ВИР 29×109)-7-1, Д 10-1-1-4-1-S<sub>2</sub>-1-2, Д 10-2-1-1-4-S<sub>1</sub>-S<sub>2</sub>-2-2, Д 10-3-1-1-1-2-2-1, Д 11-1-1, Грушевская 380, МГ 4-1-1. Всего 41 линия, а также сорта Воронежская 76 и Гелбер Ландманс.

#### Работы по восстановлению фертильности

Для молдавского типа стерильности обнаружены следующие восстановители, частично или же полностью восстанавливающие фертильность среди сортов, самоопыленных линий и семей.

Сорта: Bloody Butcher, Функ 329, Маис курахау из Чили, Местная кремнистая Андиганская, Сары Макое;

линии: ВИР 11, ВИР 26, ВИР 27, подлинная ВИР 44-473, ВИР 47, ВИР 75, ВИР 82, ВИР 121, ВИР 135, Молдаванка оранжевая 9с-10-4-1, Молдаванка оранжевая 224-1-1-S<sub>2</sub>-1, ВИР 20, КБЗ 126 (КНИИСХ), Гибрид 500 (КНИИСХ), Ст-2-1-1-2-1 (КНИИСХ). В последние годы (1959—1960) проверялась их комбинационная ценность, а также учитывался процент восстановленных растений после скрещивания с линией ВИР 44мс.

Для нас представляют интерес следующие формы: сорта Маис курахау из Чили, Bloody Butcher; линии ВИР 20, ВИР 26, Молдаванка оранжевая 9с-10-4-1, ВИР 47, Гибрид 500, которые при скрещивании дают гибриды, превышающие стандарт по урожайности и восстанавливающиеся на 30—100%.

По техасскому типу стерильности были обнаружены восстановители: ВИР 115, ВИР 44, ВИР 109×115, (ВИР 44×38)×(ВИР 92×95)-1-2-1, (ВИР 44×38)×(ВИР 92×95)-2-1, Гибрид 589 (КНИИСХ), ВИР 28, МГ-14-7, ВИР 26, ВИР 82, Адамово будинск×Д-1-1.

Проверена комбинационная ценность и представляют интерес как восстановители: Гибрид 356 (КНИИСХ), ВИР 115, ВИР 44, ВИР 44×100, ВИР 109×115, ВИР 23×115, ВИР 11×44.

Одновременно с работой по насыщению обрабатывается часть подлинных на восстановление. В пределах одной и той же исходной линии отбирают подлинную, закрепляющую стерильность, и подлинную, восстанавливающую фертильность. В дальнейшем одновременно с проверкой восстановительной способности линии самоопыляются.

С 1958 г. развернута исследовательская работа по насыщению линий ВИР 28, 29, 40, 43 и некоторых других свойством восстановления.

#### Использование форм с мужской стерильностью и их восстановителей для создания гибридов

В предварительном сортоиспытании изучалось 20 двойных гибридов, из которых большинство также создано на основе простого гибрида Слава мс, Идеал мс, Светоч мс. В качестве опылителей был использован ряд простых межлинейных гибридов и сортов, часть из них обладала признаком восстановления.

В контрольном питомнике испытывалось 30 сортолинейных и двойных гибридов кукурузы, созданных главным образом на основе стерильного по пыльце простого гибрида Слава.

Из этих гибридов выделились по урожайности в сравнении со стандартом ВИР 42 следующие комбинации: (ВИР 44мс×38)×(ВИР 98×73), (ВИР 44мс×38)×(ВИР 98×121), (ВИР 44мс×38)×(ВИР 100×73), (ВИР 44мс×38)×(ВИР 82×Гелбер Ландманс), (ВИР 44мс×38)×(ВИР 82×40), (ВИР 44мс×38)×(ВИР 98×100), (ВИР 44мс×38)×(ВИР 121×Д-10-1-1-2-1), (ВИР 44мс×38)×(ВИР 73×Маис курахау из Чили), (Молдаванка желтая мс×Д-10)×(ВИР 44), (ВИР 44мс×38)×(ВИР 82×38) и др.

Эти гибриды превысили на 5—20% по урожайности стандарт ВИР 42 и у части из них в отцовском простом гибриде имеется линия, способная восстанавливать фертильность.

В результате тщательной многолетней работы Т. С. Чалыка переведены на стерильную основу районированные в МССР гибриды ВИР 42мс, Кишиневский 109мс и новый перспективный гибрид Кишиневский 150тс.

Гибрид ВИР 42мс, переведенный у нас на стерильную основу, позволит выращивать его семена с 1962 г. на всей площади МССР.

В последние годы в контрольном питомнике испытывалось до 180 разных новых простых гибридов со стерильной материнской формой и восстановителем отцовской формой с целью определения комбинационной ценности и восстановительной способности. Многие из них дали отличные показатели.

#### Разные теоретические работы, связанные со стерильностью (по пыльце)

Т. С. Чалык экспериментально обосновал положение о самодвижении форм со стерильной по пыльце метелкой за счет восстановления фертильности при насыщении близкородственными формами (выщепенцами в пределах линии, семьи или того исходного сорта, из которого выведена эта семья). Это обстоятельство позволило выдвинуть следующие положения, важные для разработки вопроса синтеза гибридов на основе стерильных (по пыльце) форм:

1. В пределах одного и того же исходного материала, где обнаружены стерильные формы, надо выявлять и закреплять восстановители фертильности.

2. Закрепление мужской стерильности, обнаруженной в том или ином образце, надо проводить за счет привлечения генетически неродственных форм кукурузы.

Старшим научным сотрудником М. И. Боровским проводятся важные работы по передаче признака стерильности методом вегетативной гибридизации. При этом М. И. Боровскому экспериментами, проводимыми в течение ряда лет, удалось доказать передачу признака молдавского типа стерильности от подвоя к привою.

А. В. Воронин также до некоторой степени углубил проводимые у нас исследования по самодвижению популяции кукурузы с молдавским типом стерильности. На основании специальных опытов он проверил от  $F_1$  до  $F_4$  гибридные популяции кукурузы, синтезированные на основе частично самовосстанавливающихся стерильных по пыльце материнских форм местной молдавской кукурузы: Молдаванки оранжевой, Молдаванки желтой после скрещивания их с линиями.

В результате этого он показал весьма незначительное, а иногда и полное отсутствие падения урожая у таких гибридов от  $F_1$  до  $F_4$ . В результате синтеза таких же комбинаций, где в качестве матери были взяты фертильные аналоги тех же сортов, наблюдалось заметное снижение урожая от  $F_1$  до  $F_4$ .

Полученные данные в перспективе могут иметь определенное значение для практики при использовании высокоурожайных гибридных популяций кукурузы при уборке их на силос, где выравненность растений не играет столь существенной роли, как при уборке на сухое зерно.

Специальными опытами в 1958—1960 гг. А. В. Воронин показал, что пыльца выщепившихся фертильных и полустерильных растений из исходных материнских растений, стерильных по пыльце, очень плохо избирается при опылении смесью пыльцы, где перемешивается пыльца из нормально фертильных по пыльце растений.

Т. С. Чалык установил, что растения с мужской стерильностью обладают повышенной избирательностью (до 80%) к пыльце линий, способных восстанавливать их фертильность.

Т. С. Чалыком и А. В. Ворониным специально изучался формообразовательный процесс и продуктивность гибридов в поколениях при разных способах опыления с участием полустерильных форм, и в результате проведенных исследований открывается перспектива использования полустерильной пыльцы для усиления формообразования в поколениях гибридов.

Т. С. Чалык специальными работами 1958—1960 гг. показал, что в результате самоопыления растений с полустерильной пылью в потомстве возникают по габитусу растений новые формы кукурузы полиплоидного типа.

#### Изучение мировой коллекции кукурузы и привлечение ее для отдаленно географической гибридизации

Опыты по отдаленно географической гибридизации в основном проводятся старшим научным сотрудником В. Г. Учковским. Для привлечения нового исходного сортового материала кукурузы для целей селекции и гибридизации ежегодно высеваются коллекции образцов кукурузы из разных стран. В последние годы было высеяно 560 образцов, а за прошлые годы проверялось и изучалось около 1400 образцов.

Лучшие из образцов кукурузы скрещивали с сортами, линиями и с простыми гибридами для проверки их комбинационной ценности. Такой метод оценки коллекции не только с прямым учетом отдельных

признаков и свойств образцов, но и с последующим скрещиванием их с сортами, линиями или простыми гибридами дает ценный исходный материал для самоопыления и последующего более эффективного метода семейного и линейного отбора. При подборе географически отдаленных форм с учетом их положительных свойств был выявлен ряд высокоценных образцов из коллекций ВИРа, а также из разных пунктов СССР. Обращают на себя внимание образцы кукурузы из Чехословакии, Венгрии, Польши, Италии, Румынии, США, Аргентины, Чили, Канады и других стран. Из СССР большого внимания заслуживают скороспелые кремнистые более холодостойкие образцы из северо-восточных областей РСФСР, а также засухоустойчивые среднеранние и среднепоздние образцы из Средней Азии.

В результате отдаленно географического скрещивания были отобраны более продуктивные семьи и сорта кукурузы для получения сорто-линейных и семейно-линейных гибридов. Из разных сочетаний практическую ценность представляют созданные на этой основе перспективные гибриды кукурузы Кишиневский 109 и Кишиневский 150тс, переведенные на стерильную основу. Из этих двух гибридов Кишиневский 109 с заметным успехом прошел государственное сортоиспытание в МССР, УССР и ряде областей РСФСР. При этом комбинация 109тс (обратная) переведена Т. С. Чалыком на стерильную основу путем насыщения семьи матери (Гелбер Ландманс) свойством техасской стерильности и скрещивания ее с подобранной линией ВИР 44 (восстановителем фертильности). Эта комбинация вовсе не требует обрывания метелки в ее семеноводстве, так как линия ВИР 44 полностью восстанавливает фертильность стерильных по пыльце растений с техасским типом стерильности.

#### Разработка новых генетических методов создания исходного материала для самоопыления кукурузы

Новые генетические методы получили у нас определенное освещение главным образом за счет разработки аспирантских тем, а также специально организованных исследований. В результате намечались два весьма перспективных, но еще недостаточно изученных селекционных приема:

- а) метод вегетативной гибридизации и
- б) метод межсортового и чужеродного внесения ментора пыльцы при самоопылении кукурузы.

Оба генетические приема изучались у нас под углом зрения использования их для улучшения метода выведения более ценных самоопыленных линий кукурузы.

#### Метод вегетативной гибридизации кукурузы и выведения на этой основе семей и самоопыленных линий для последующей половой гибридизации

На первом этапе исследований, в 1949—1953 гг., была разработана методика вегетативной гибридизации и установлены факты наследственных изменений и выделения стабильных семей для последующей гибридизации. В дальнейшем более углубленные исследования М. И. Боровского позволили начиная с 1954 г. и по настоящее время изучить потомства вегетативных гибридов при разных условиях их выведения, а также использовать их для последующей половой гибридизации.



За этот период М. И. Боровским сделано в общей сложности около 2000 прививок следующих комбинаций:

Зародыш	Эндосперм
Днепропетровская	+ Молдаванка оранжевая
Молдаванка оранжевая	+ Днепропетровская
ВИР 25	+ Кишиневская белая кремнистая
ВИР 42	+ Адамово Будинска
ВИР 42	+ Адамово Будинска
ВИР 42	+ Стерлинг
Стерлинг	+ Пионер 379 (стерильный)
ВИР 26×27	+ Молдаванка оранжевая (стерильная)
ВИР 29	+ К 109 (краснозерная форма)

Прививки проводились методом пересадки зародышей одних форм на эндосперм других форм.

В результате изучения характера поведения привитых растений М. И. Боровским было установлено следующее:

1. В год прививки, как правило, эндосперм-подвой заметного влияния на морфологические признаки зародыша-привоя не оказывает.

2. Начиная со второго года и в последующие годы в потомстве вегетативных гибридов проявляются признаки, характерные для эндосперма-подвоя (консистенция зерна, окраска зерна, окраска стержня, форма початка, окраска листьев, форма метелки и т. д.), число измененных растений в отдельных семьях достигает 30—35%.

3. При использовании в качестве привоев зародышей сортов или гибридов процент направленно измененных растений в последующих после прививки потомствах значительно выше, чем в случае прививки зародышей самоопыленных линий.

4. В потомстве комбинации прививки зародыш линия ВИР 29+ эндосперм К 109 (краснозерная форма) получены семьи с измененной окраской в сторону подвоя.

5. При прививке зародышей форм с низким содержанием белка (ВИР 26×27) на эндоспермы форм с повышенным содержанием белка (Молдаванка оранжевая) в потомстве привитых растений содержание белка повышается на 1,5—2% в сравнении с непривитыми.

6. При прививке зародышей фертильных форм на эндоспермы стерильных по пыльце форм в потомстве, начиная со второго поколения, появляются стерильные растения (от 10 до 40%).

7. При узкородственном размножении семей, отобранных из вегетативных гибридов, оказывается возможным в течение 2—3 лет получить морфологически весьма выравненные семьи, которые по этому признаку не уступают самоопыленным линиям.

8. Морфологически выравненные вегетативные семьи по продуктивности уступают исходным сортам, но в преобладающем большинстве случаев урожайнее лучших самоопыленных линий.

9. Выравненные по морфологическим признакам семьи, будучи скрещены между собой и с самоопыленными линиями, в ряде случаев дают высокоурожайные гибриды кукурузы.

В 1956 г. в контрольном питомнике из 80 таких гибридов 34 оказались урожайнее стандарта ВИР 25.

В малом сортоиспытании из 38 гибридов 12 достоверно превысили стандарт ВИР 25.

В 1957 г. из 55 межсемежных и семейно-линейных гибридов, изучавшихся в контрольном и малом сортоиспытании, 43 превысили по урожаю стандарт ВИР 25.

В 1958 г. в малом сортоиспытании из 26 гибридов 12 по продуктивности превысили ВИР 42 (стандарт).

10. Семьи вегетативных гибридов могут служить исходным материалом для выведения из них ценных самоопыленных линий за короткие сроки (2—3 года).

В 1958 г. в результате испытания гибридов от анализирующего скрещивания самоопыленных линий с ВИР 44 установлено, что из испытывавшихся 340 гибридов, полученных от скрещивания линий, выведенных из сорта Днепропетровская, ВИР 25 и ВИР 42 с анализатором ВИР 44, 61 гибрид (или 18%) оказался урожайнее стандарта ВИР 42. В то же время из изучавшихся 76 гибридов, полученных от скрещивания линий, выведенных из семей вегетативных гибридов в результате прививки зародышей сорта Днепропетровская, ВИР 25 и ВИР 42 на эндоспермы других форм, 26 гибридов (или 35%) оказались урожайнее ВИР 42.

Все приведенные нами данные позволяют рассматривать прием вегетативной гибридизации кукурузы как перспективный путь создания генетически ценного исходного материала для последующей селекции кукурузы.

#### *Метод чужеродного и межсортного ментора пыльцы, как перспективный прием выведения самоопыленных линий кукурузы*

Мичуринский прием «ментора пыльцы» стал изучаться у нас в больших опытах начиная с 1949 г. В дальнейшем, с 1953 г., опыты заметно расширились. За период с 1953 по 1960 г. был разработан ряд вопросов менторального воздействия чужеродной и межсортной пыльцы при самоопылении кукурузы.

По чужеродному ментору пыльцы в результате комплексных опытов Е. М. Гуляевой и К. И. Степанова можно сделать такие выводы:

1. В своей теоретической основе внесение чужеродной пыльцы при самоопылении кукурузы рассматривается как прямое влияние физиологически активных соединений, выделяемых пыльцесмесью (за счет распада веществ пыльцы), на процесс оплодотворения кукурузы, показанный С. М. Колесниковым цитозембриологически и В. Н. Лысниковым методом меченых атомов.

2. За ряд лет исследований доказана различная эффективность влияния чужеродного ментора пыльцы при самоопылении кукурузы в зависимости от количественных соотношений пыльцесмеси, подбора видов ментора и погодных условий. Наилучший эффект вскрывается при неблагоприятных (засушливых) условиях при внесении проверенных у нас чужеродных менторов пыльцы: сорго, ржи, африканского проса, а также подсолнечника, тыквы, гибискуса, полыни.

3. Исходный материал кукурузы, подвергаемый менторальному воздействию чужеродной пыльцы, также по-разному отзывается на этот прием. В наибольшей степени он эффективен на тех образцах кукурузы, которые от самоопыления резко депрессируют. Это прежде всего сорта с широкими ареалами распространения в прошлом (напри-

мер, Днепропетровская, Стерлинг, Молдаванка оранжевая и др.). В меньшей степени он эффективен на выведенных уже и отработанных длительным самоопылением существующих линиях, а также на межлинейных гибридах. Общеизвестно, что такие формы кукурузы меньше депрессируют от самоопыления, чем сорта.

Однако при подборе соответствующих менторов пыльцы и условий повторного самоопыления и на этих формах кукурузы получается определенное количество растений с высокой эффективностью менторального воздействия.

4. Важнейшим моментом влияния чужеродной пыльцы при самоопылении ряда сортов кукурузы является появление специфических новообразований после одного года самоопыления в зависимости от вида ментора. Эти новообразования весьма часто носят характер направленных мутаций с сохранением появившихся признаков в последующих повторных инцухт-поколениях, но уже без повторного внесения чужеродного ментора пыльцы.

5. Сравнение ряда менторальных линий при массовом их выведении в пределах одного и того же сорта Днепропетровская в сопоставлении с обычными, выведенными за то же число лет, доказывает их явное преимущество. Менторальные линии в целом более продуктивны, обладают преимущественно более высокой комбинационной ценностью и заметно быстрее выравниваются (за 2—3 года). Это же достоверно показано и на сорте Молдаванка оранжевая.

6. Выведение менторальных самоопыленных линий из двойных межлинейных гибридов, хотя и не всегда вскрывает повышенную их продуктивность и специфику влияния ментора пыльцы, однако дает большой выход высокоценных менторальных линий с весьма высокими комбинационными свойствами и явно быстрее их выравнивает.

7. Из существующих отработанных самоопыленных линий (ВИР 7, ВИР 28, ВИР 29, ВИР 38, ВИР 51А, ВИР 157, С 5) путем внесения ментора чужеродной пыльцы при повторном самоопылении удалось создать определенное количество подлиний, морфологически и физиологически отличных от исходных форм. Комбинационная ценность их часто выше исходных.

8. Изученные уже разнообразные простые гибриды, синтезированные на основе новых менторальных линий, и подставочные гибриды (например, в тех опытах, где одна из линий ВИР 42 заменена на новую менторальную линию), подтвердили высокую их ценность. Ряд гибридов заметно (до 30% и выше) превышает стандартные у нас лучшие гибриды ВИР 42 и ВИР 25.

По межсортному ментору пыльцы в опытах, которые проводились М. И. Боровским, можно сделать такие выводы:

1. Внесение межсортного ментора пыльцы при самоопылении кукурузы легче всего проследить на таких сортах, которые при ментировании от внесения пыльцы другого сорта дают по окраске или консистенции ксенное зерно.

2. Потомство такого менторального самоопыленного початка можно легко поделить на менторальные семена типа материнского растения и гибридные семена.

3. При высеве гибридные семена дают мощные гетерозисные формы, а от самоопыленных менторальных семян получают в той или иной степени депрессированные растения. Эта депрессия в сравнении с гибридом бывает для некоторых форм очень сильная.

4. Однако, как показали прямые опыты, повторное внесение того же межсортного ментора пыльцы при самоопылении менторальных линий в последующих поколениях уже значительно повышает продуктивность таких менторальных линий.

5. Преимущество многих из указанных менторальных линий заключается в сочетании у них признаков двух родителей (материнского растения и сорта-ментора) при сравнительно быстром закреплении наследственных свойств в последующих поколениях. Такие линии обладают повышенной урожайностью и нередко отличаются более высокими комбинационными свойствами в сравнении с обычными.

6. В этом же направлении М. И. Боровским начаты работы по улучшению существующих уже линий (ВИР 29, ВИР 44, линии из Guster, из среднеазиатских сортов и др.) путем повторного их самоопыления в присутствии пыльцы других сортов и линий. Потомство от таких менторальных початков дает легко различимые гибридные растения и линии, в той или иной степени измененные влиянием ментора пыльцы.

7. Выведенные у нас в массовом масштабе такие линии были проверены в последующем на продуктивность и комбинационную ценность и в настоящее время включены для синтеза на их основе простых и двойных гибридов.

#### Повышение белковости кукурузы

Вопрос о ценности молдавских сортов кукурузы с повышенным содержанием белка неоднократно поднимался как в отечественной, так и румынской печати. Результаты прошлых работ показали, что наиболее высокобелковыми сортами у нас в Молдавии являются сорта Портокаллиу и Молдаванка оранжевая, у которых содержание сырого белка (протеина) достигает 12—14%. В 1956—1960 гг. Б. П. Пукаловым проводились специальные исследования по повышению белковости местных сортов кукурузы путем линейного и семейного отбора. В результате многочисленных отборов удалось заметно повысить белковость этих форм: при семейном отборе у Молдаванки оранжевой с 12 до 15%, а у Портокаллиу с 13 до 16%. При линейном отборе у Портокаллиу у отдельных линий содержание белка составляло в среднем 17%, а иногда и выше 18%. Таким образом, открывается реальный путь повышения белковости кукурузы в условиях Молдавии.

Б. П. Пукаловым показано, что родственное размножение отобранных форм заметно снижает их продуктивность как при семейном, так и особенно при линейном отборе. Поэтому все выведенные им высокобелковые формы после отбора проверялись на комбинационную ценность при гибридизации. Было установлено, что в преобладающем большинстве случаев при скрещивании молдавских высокобелковых кремнистых форм кукурузы с зубовидными линиями ВИРа (ВИР 44, ВИР 47, а также с высокобелковой линией ВИР 73, содержащей свыше 15% белка) получают гибриды с разным сочетанием в них признаков продуктивности и содержания белка.

За последние годы были получены гибриды (семья Молдаванка оранжевая 81×ВИР 44), которые по общему сбору белка превышали ВИР 42 на 25% при одинаковой урожайности. При скрещивании семьи Молдаванки оранжевой 9-18-3 с ВИР 44 был получен гибрид, превышающий ВИР 42 по абсолютному сбору белка в зерне в пересчете

на 1 га на 30%, т. е. свыше 1 ц/га. Многие высокобелковые семьи Портокаллиу в 1959 г. дали высокоурожайные гибриды с линией ВИР 47, превышающие по урожайности гибрид ВИР 42 на 2—3 ц, а по содержанию белка в зерне на 2%.

В настоящее время решается задача сочетания высокобелковых линий кукурузы между собой и с разными линиями нашей селекции для синтеза на их основе двойных межлинейных гибридов. Важным моментом, установленным в этих опытах, является корреляция в ряде случаев между высоким содержанием белка в зерне и в силосной массе. При этом отмечается более высокая засухоустойчивость семей и линий с повышенным содержанием белка в зерне.

Очередной задачей дальнейших исследований в этом направлении является установление качественного состава белков в наиболее перспективных линиях, семьях и гибридах, создаваемых на их основе.

Одновременно заслуживают большого внимания начатые у нас исследования по отдаленной гибридизации теосинте с кукурузой разных разновидностей (опыты Т. С. Чалыка, М. И. Боровского и Ю. П. Шумана) в целях получения повышенного содержания белка у гибридов. Первое поколение этих отдаленных межродовых гибридов, вполне плодовых, содержало до 17—19% белка в зерне. (Анализы И. П. Гринберга).

Гибриды между теосинте и кукурузой отличаются также в ряде поколений весьма высокой многопочатковостью. Намечается возможность преодоления их позднеспелости, мелкопочатковости и ломкости початка путем повторных самоопылений и насыщающихся скрещиваний. Все эти исследования должны получить развитие в ближайшие годы. На этой основе также могут быть созданы самоопыленные линии и гибриды кукурузы.

#### Повышение холодостойкости

Вопрос о повышении холодостойкости кукурузы, особенно в фазе прорастания семян в почве и в фазе всходов (до 2—3 пар первых листьев), заслуживает пристального внимания генетиков и селекционеров. Большие площади посевов кукурузы, убираемой на силос в северных областях СССР (в которые завозят семена с юга) ставят перед южными селекционными учреждениями задачу выводить для севера более холодостойкие гибриды и сорта. Учитывая эту задачу, с 1956 по 1960 г. Ф. Д. Коган и Е. Т. Божков проводили исследования по повышению холодостойкости кукурузы методом отбора с выведением самоопыленных линий. За 5 лет исследований (1956—1960) было проведено при ранних сроках посева 1300 сортов и гибридов.

Для последующей работы было оставлено 136 образцов, в дальнейшем к ним была присоединена еще часть местных холодостойких сортов, семей и линий кукурузы, так что в сумме для повторных отборов на фоне ранних сроков посева было оставлено 200 исходных образцов кукурузы. Посев проводился в мартовские сроки при температуре почвы за годы опытов от  $-4,0$  до  $+9,4^{\circ}$ . В качестве стандарта просеивался более холодостойкий в наших условиях гибрид ВИР 25 и Стерлинг. Путем повторного самоопыления и сестринского скрещивания отобранных более холодостойких линий и семейств удалось за 4 года отбора заметно повысить их холодостойкость. Если ВИР 25 и Стерлинг в мартовские сроки посева сохраняли не более 10—50% растений от числа посеянных семян, то лучшие линии отбора и гибриды, синтезированные на их основе, сохраняли 85—95% растений от числа посеянных семян.

Обращает особое внимание ряд холодостойких линий, выведенных в большом количестве из местных скороспелых молдавских краснозерных и коричневозерных форм, а также из гибридов, в которых принимали участие чехословацкие образцы, некоторые горнокитайские, а также образцы кукурузы из северных областей РСФСР.

В последние годы (1959—1960) были проведены комплексные работы по проверке наших холодостойких линий и гибридов в условиях северной зоны СССР. Весьма обнадеживающие результаты получены из Кирово (Смирнов), Ижевска (Трусаков), Москвы (Белаш), Новосибирска (Пильникова). Ряд синтезированных у нас простых гибридов в условиях севера оказались наиболее урожайными в переводе на сухое вещество, отличаясь там скороспелостью и холодовыносливостью. Это открывает на ближайшие годы большие перспективы в отношении продвижения этих форм в северные зоны кукурузосеяния СССР.

#### Дальнейшие пути развития генетико-селекционных исследований по кукурузе

Исходя из полученных и литературных данных по вопросам биологии, генетики и селекции кукурузы, как объекта селекции, мы ставим на ближайшие 10—15 лет такие задачи:

1. Раскрыть более глубоко природу гетерозиса кукурузы и возможные пути его сохранения в поколениях.
2. Не только привлекать для синтеза гибридов кукурузы исходный материал различного географического происхождения, но и создать на месте на основе мичуринских принципов селекции (вегетативной гибридизации, менторального влияния пыльцы, влияния физиологически активных веществ) новые формы для использования их в гибридизации.
3. Более глубоко изучить закономерности синтеза высокоурожайных гибридов кукурузы без обрывания метелок на всех этапах семеноводства на основе мужской стерильности.
4. Вскрыть взаимодействие цитоплазмы и ядра в становлении разных форм наследственности кукурузы при использовании полустерильной пыльцы в процессе разных способов оплодотворения кукурузы.
5. Вскрыть генетические и экологические причины снижения продуктивности гибридов кукурузы по мере длительной репродукции их родительских пар в одной и той же местности.
6. Углубить генетические исследования по биохимизму кукурузы как объекта селекции разного биохимического направления.
7. Расширить генетические и селекционные исследования по холодостойкости кукурузы для более успешного продвижения гибридов в северные зоны СССР.
8. Создать гибриды кукурузы, у которых к моменту созревания початков стебли и листья сохраняют хлорофилл и пригодны для силосования.
9. Создать карликовые гибриды и исходные линии кукурузы с урожайностью не ниже нормальных гибридов для уменьшения извлечения из почвы питательных веществ и влаги в период их произрастания. Это открывает возможность посева по такой растущей кукурузе озимой пшеницы в нормальные сроки и резко сокращает затраты на транспортировку стеблей.
10. Создать высокоурожайные гибриды кукурузы (скороспелые, многопочатковые и высокобелковые), пригодные для сбора урожая зерна в период его созревания путем прямого комбайнирования.

11. Начать по широкому плану работы по отдаленной (межродовой) гибридизации кукурузы и вскрыть закономерности формообразования у этих гибридов для целей селекции, исходя из цитозембриологических и генетических данных.

Поставленные для разрешения важнейшие проблемные генетико-селекционные задачи по кукурузе в Молдавии требуют привлечения не только генетиков и селекционеров, но и цитозембриологов, биохимиков, физиологов, биофизиков, фитопатологов и иммунологов. Без широкого комплексирования и целеустремленности в руководстве поставленные задачи не могут быть решены. Для этого требуется усиление производственной базы для отдела генетики и прежде всего строительство мощных теплиц, холодильных и сушильных установок, организация специального крупного семеноводческого хозяйства по кукурузе и строительство разнообразных помещений для хранения, переработки и разборки громоздкого генетико-селекционного материала. Вместе с тем необходимо подчеркнуть, что наши исследования по генетике и селекции кукурузы должны быть тесно связаны с практикой колхозов и совхозов. Только в единстве теории и практики мыслимы дальнейшие действительные успехи. Объединенного отдела генетики Кишиневского сельскохозяйственного института и Академии наук МССР в области познания кукурузы как генетико-селекционного объекта исследования.

В заключение необходимо подчеркнуть, что Молдавия была и остается важнейшим центром по распространению новых перспективных сортов и гибридов кукурузы и приемов ее возделывания на Украине и в РСФСР. И эта историческая роль Молдавии в ее помощи другим зонам и республикам СССР должна быть сохранена.

А. Е. КОВАРСКИЙ

**ТОТАЛУРИЛЕ ШИ ПЕРСПЕКТИВЕЛЕ ЧЕРЧЕТЭРИЛОР  
ЖЕНЕТИКО-АМЕЛИОРАТИВЕ А ПЭПУШОЮЛУЙ ЫН СЕКТОРУЛ  
УНИТ ДЕ ЖЕНЕТИКЭ А ФИЛИАЛЕИ МОЛДОВЕНЕШТЬ  
А АКАДЕМИЕЙ ДЕ ШТИИНЦЕ А УРСС ШИ АЛ ИНСТИТУТУЛУИ  
АГРИКОЛ «М. В. ФРУНЗЕ» ДИН КИШИНЭУ**

(ын периода анилор 1945—1960)

**Резумат**

Дупэ о привире жeneralэ а историкулуй, се експун резултателе черчетэрилор ефектуате де секторул де женетикэ ын доменииле:

- 1) цитозембриологией пэпушоюлуй;
- 2) студиулуй прочесулуй де фекундаре ку ажуторул изотопилор радиоактив;
- 3) студиулуй морфоженезей линнилор аутополенизате, а хибризи-лор ши а формелор фертиле ши стериле де пэпушой;
- 4) креэрий линнилор аутополенизате де пэпушой авынд ын ведере провениенца материалулуй инициал;
- 5) черчетэрий ши фолосирый феноменулуй стерилитэций маскуле (де полен) ла пэпушой;
- 6) студиулуй колекцией мондиале де пэпушой ши фолосирый ей пентру хибридизаря формелор ын депэртате дин пункт де ведере гео-график;
- 7) студиулуй методелор де хибридизаре вежетативэ а пэпушоюлуй ши креэрий пе база ачаста де линий аутополенизате пентру хибри-заря сексуалэ ын сине;
- 8) черчетэрий методелор де ынтродучере а менторулуй (едукатору-луй) поленик стрэин (де алт сорт, сау де алт жен) ка а уней кэй пер-спективе пентру формаря линнилор аутополенизате де пэпушой;
- 9) ридикэрий концинутулуй албуминелор ла пэпушой;
- 10) ридикэрий резистенцей ла фриг ши креэрий ноилор форме де пэпушой тимпуру.

Ын ынкее се десемняэ кэиле де дезволтаре а черчетэрилор же-нетико-амелиоративе а пэпушоюлуй ын Молдова ын виенторул апро-пийат.

Т. С. ЧАЛЫК

### ФОРМООБРАЗОВАТЕЛЬНЫЙ ПРОЦЕСС ПРИ САМООПЫЛЕНИИ ГИБРИДОВ КУКУРУЗЫ С УЧАСТИЕМ ПОЛУСТЕРИЛЬНЫХ (ПО ПЫЛЬЦЕ) РОДИТЕЛЬСКИХ ФОРМ

Изучая формообразовательный процесс при самоопылении кукурузы в зависимости от исходного материала, взятого для самоопыления, мы обнаружили особый, специфический формообразовательный процесс в результате самоопыления гибридов, полученных от скрещивания фертильных и цитоплазматических стерильных по пыльце форм молдавского типа.

Необходимо отметить, что И. Кельрейтер [1] еще в 1762 г. подметил формообразовательный процесс в результате возвратных скрещиваний полустерильных бастардов *Nicotiana rustica* × *N. paniculata* с одной из родительских форм. «В потомстве от такого типа скрещивания, — пишет он, — образуются новые формы с полной бесплодностью; необычно узкие и острые листья и коробочки способствуют образованию уродов, значительно отличающихся как от материнской, так и от отцовской формы».

М. Родс [6] писал о невозможности передачи признака стерильности через пыльцу полустерильных растений кукурузы. Однако в наших исследованиях была обнаружена возможность передачи признака мужской стерильности молдавского типа через пыльцу полустерильных форм фертильным растениям, а также некоторые связи и переходы цитоплазматической в генетическую стерильность.

#### Исходный материал и методика опыта

Среди растений полностью стерильных, у которых пыльники вовсе не выходят из колосков, встречаются полустерильные растения, способные в течение 2—3 дней выбрасывать небольшое количество пыльцы, способной к оплодотворению. У некоторых семей, выделенных из местных сортов, среди которых встречаются растения с мужской стерильностью, преобладают полустерильные растения.

Исходным материалом в опыте послужили полустерильные семьи Молдаванка желтая 4, Молдаванка оранжевая 32 и Молдаванка оранжевая 21, выделенные нами в результате анализирующих скрещиваний из местных молдавских сортов как имеющие высокую комбинационную ценность и высокое качество зерна, а также растения двойных межлинейных гибридов кукурузы первого поколения ВИР 42, ВИР 33 и ВИР 286. Отобранные полустерильные семьи кукурузы скрещивались с растениями этих двойных гибридов. Часть скрещиваний проводилась вручную при помощи изоляторов из пергаментной бумаги,

а часть комбинаций выращивалась на отдельных участках гибридизации.

Полустерильные формы по пыльце использовались как в качестве материнской, так и в качестве отцовской формы. В последнем случае собирали смесь пыльцы от 5—10 полустерильных растений. В отдельных случаях проводились парные скрещивания между двумя растениями разных родителей.

Гибридные растения первого поколения между полустерильными и фертильными формами подвергались самоопылению.

В первые годы самоопыления новые формы не появлялись. Высевалось всего по 6 лунок каждой линии, тщательного изучения растений не проводилось.

После 2—3-летнего повторного самоопыления было отобрано около 40 лучших линий для определения их общей комбинационной ценности. Эти линии скрещивались с общим тестером линий ВИР 44, часть семян каждой из которых оставлялась в лаборатории. В результате испытания полученных гибридов было отобрано 10 линий с высокой комбинационной ценностью. Гибриды их превышали по урожайности стандарт ВИР 42 на 5—12%.

В 1959 г. эти линии и часть их подлиний высевались в расширенном селекционном питомнике по 30—50 растений каждой, в зависимости от количества семян, и изучался формообразовательный процесс по признакам растения и початков. Кроме того, эти растения использовались для размножения «в себе» и для получения ряда простых гибридов.

В 1960—1961 гг. эти линии, а также линии, уже продвинувшиеся на один год самоопыления, высевались по той же методике в расширенном селекционном питомнике самоопыленных линий.

#### Полученные результаты

Отдельные растения у некоторых из изученных линий приобрели признаки, свойственные для полиплоидных форм кукурузы, а именно: более продолжительный вегетационный период по сравнению с аналогичными линиями, выведенными из фертильных форм, более темно-зеленую окраску листьев, большую засухоустойчивость, более толстые грубые кожистые листья. Метелка стерильная, полустерильная или фертильная. На растении, как правило, образуется больше листьев, чем обычно. На нижних междоузлиях стебля развивается по 2—3 ряда дополнительных воздушных корней, иногда наблюдается брахическое строение растения, некоторые растения высокорослые типа «гигант» и т. д.

Ниже приводится краткое описание растений некоторых из изученных линий:

1. В 1959 г. среди растений линии (ВИР 286 × Молдаванка желтая 4)-1-1-1-1 выделили одно растение мутант с курчавыми листьями, стебель которого выше початка раздвоился и образовал два стебля, кончающихся фертильными метелками. Растение самоопылялось, однако в последующие годы эти признаки не появлялись в потомстве. Линия склонна поражаться пузырчатой головней. Из 61 растения 14 (22,8%) были поражены этой болезнью.

Растения этой линии средние выравненные, кустящиеся, початки удлиненные. Характерно широкое гнездо на стержне початка и крупное зерно. Озерненность початка от слабой до средней.

2. Растения линии (Молдаванка желтая 4×ВИР 286)-1-2-1 темно-зеленой окраски, невыравненные. Среди них три растения типа «гигант» были более высокие, мощные, поздние и образовали очень крупные метелки (рис. 1). Одна из них цвела на 12—15 дней позже нормальных растений этой линии, а другие два растения были стерильные по пыльце и початков не закладывали. Остальные растения этой линии образовали своеобразные плоские, как бы сдвоенные, плохо озерненные початки (рис. 2), хотя цвели при свободном опылении в окружении других линий. Полученное зерно было явно щуплое, желто-оранжевой окраски, эндосперм слабо развит, со слабо развитым заострением на верхушке зерна.

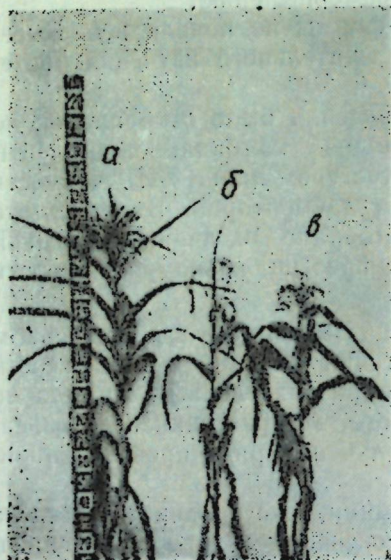


Рис. 1. Измененные растения кукурузы типа «гигант» линии (Молдаванка 4×ВИР 286)-1-2-1 (а); стерильное растение по пыльце (б); нормальное фертильное (в).

4. Растения линии (ВИР 42×Молдаванка желтая 4)-1-1-1 невыравненные. Из 35 растений 11 были полиплоидного типа: очень поздние, засухоустойчивые, темно-зеленые, более мощные, с большим количеством листьев на стебле, большинство из них со стерильной метелкой, однако хорошо завязавшие зерна на початке при опылении фертильной пыльцой. Другие растения этой линии оказались очень ранними, типа Молдаванки желтой, с кремнистым зерном с мужской стерильностью, часть из них фертильные по пыльце.

5. У линии Молдаванка оранжевая 21 с ее подлинными, полученными в результате самоопыления полустерильной семьи Молдаванка оранжевая 21, были очень выравненные растения в пределах линии, однако между собой некоторые подлинники отличались по высоте растения.

У двух подлинников с низким ростом сформировалась крупная фертильная метелка, так называемый мужской тип, образующая много пыльцы. У других линий растения были более высокого роста с частичной мужской стерильностью, по всем веточкам метелки разбросаны одиночные, широкие фертильные пыльники; остальные же пыльники оказались стерильными и оставались закрытыми в колосках. Листья более грубые, толстые, темно-зеленой окраски, засухоустойчивые, у основания растений было 3—4 ряда воздушно-опорных корней.

В последующие годы было установлено, что линия Молдаванка оранжевая 21 очень хорошо восстанавливает молдавский тип мужской стерильности, несмотря на то, что сама она полустерильная по пыльце.

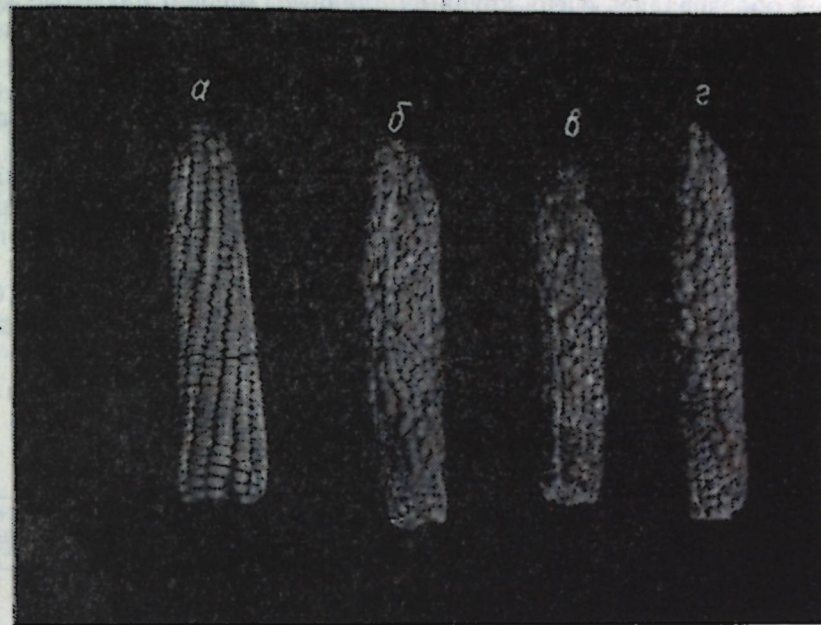


Рис. 2. Контроль (а); измененные початки (б, в и г) кукурузы линии (Молдаванка желтая 4×ВИР 286)-1-2-1

У подлинника Молдаванка оранжевая 21-S<sub>1</sub>-3-81 из 36 растений шесть (16,6%) были с женской и мужской стерильностью. Вместо початка, закрытого в обертках, развивался комок скрученной бесформенной зеленой массы, на верхушке которого можно было различать редуцированные мужские колоски (рис. 3). У этих растений образовалась очень редуцированная полностью стерильная метелка. Среди растений подлинника Молдаванка оранжевая 21-S<sub>1</sub>-3-1316 было одно растение, у которого выше початка развились два стебля, кончающиеся фертильными метелками.

Початки линии Молдаванка оранжевая 21 во время очистки от обверток имели восковидное желтое зерно, однако на свету оно приобрело темно-оранжевую, почти красную, окраску, указывающую на высокое содержание каротина.



Рис. 3. Нормальный початок кукурузы линии Молдаванка оранжевая 21-S<sub>1</sub>-3-81 (а); в обертке бесформенная масса вместо початка (б)

6. В 1961 г. среди 46 растений линии Молдаванка желтая 4×ВИР 286-1-1-2-1 семь растений полностью полегли.

На метелках растений у линии (Молдаванка желтая 4×ВИР 286)-1-2-S<sub>1</sub>-4 образовались очень крупные, длинные, хорошо развитые колосковые чешуи типа «теопод». Среди 7 фертильных растений этой линии одна была стерильная по пыльце.

7. При свободном опылении в окружении многих фертильных форм растения линии [(ВИР 28×29)×Молдаванка оранжевая 32]-2-2 плохо завязала зерна на початках.

8. Растения линии (ВИР 42×Молдаванка желтая 4)-1-1-1-1 свободно опыленные-1 образовали по 3—6 ярусов дополнительных воздушных корней. Зерна на початках этих растений были мелкие, частично поражались белью.

9. Растения линии (ВИР 42×Молдаванка желтая 4)-1-1-1-1-S<sub>1</sub> были слаборазвитые, невысокого роста, образовали большое количество узких, среднелинньих листьев, расположенных в двух плоскостях.

Таблица 1

Подсчет растений по стерильности среди самоопыленных линий кукурузы, выведенных с участием полустерильных по пыльце форм в 1959 г.

Линия	Количество растений	Количество растений с метелкой				% растений с метелкой				Женостерильные растения	
		стерильных	стерильных с выбрасыванием пыльников	полустерильных	фертильных	стерильных	стерильных с выбрасыванием пыльников	полустерильных	фертильных	число	%
(ВИР 286 × Молдаванка желтая 4)-1-1-1-1 . . . . .	60	28	—	—	32	40,6	—	—	59,4	—	—
(ВИР 286 × Молдаванка желтая 4)-1-1-1 . . . . .	20	3	—	—	17	15,0	—	—	85,0	—	—
(ВИР 33 × Молдаванка оранжевая 32)-1-1-1-2 . . . . .	27	5	20	1	1	18,6	74,0	3,7	3,7	—	—
(ВИР 33 × Молдаванка оранжевая 32)-1-1-1-2а . . . . .	25	4	13	3	5	16,0	52,0	12,0	20,0	—	—
ВИР 42 × Молдаванка желтая 4)-1-1-1 . . . . .	35	6	—	—	29	17,2	—	—	82,8	—	—
(ВИР 42 × Молдаванка желтая 4)-4-1 . . . . .	26	1	—	—	25	3,9	—	—	96,1	—	—
(Молдаванка желтая 4 × ВИР 286)-1-2-1 . . . . .	19	10	—	—	9	52,6	—	—	47,4	—	—
Молдаванка оранжевая 21-S <sub>1</sub> -381 . . . . .	36	19	—	5	12	52,7	—	14,0	33,3	6	16,6
Молдаванка оранжевая 21-S <sub>1</sub> -3-131 . . . . .	58	53	—	5	—	91,3	—	8,7	—	—	—
Молдаванка оранжевая 21-S <sub>1</sub> -3-131а . . . . .	29	24	—	—	5	82,8	—	—	17,2	—	—
Молдаванка оранжевая 21-S <sub>1</sub> -3-131б . . . . .	25	25	—	—	—	100	—	—	—	—	—

В табл. 1 приводится подсчет стерильных, стерильных с выбрасыванием, полустерильных и фертильных по пыльце растений некоторых из этих линий в 1959 г. К стерильной группе относят растения, у которых пыльники вовсе не выходят из колосков и не разбрасывают пыльцу; стерильные с выбрасыванием сухих, тонких, щуплых, коричневой окраски пыльников также не разбрасывают пыльцу. Пыльники не открывали отверстия, через которые они разбрасывают пыльцу. Полустерильные растения в течение 2—3 дней разбрасывают жизнеспособную пыльцу. Они обычно задерживают цветение и цветут одновременно или даже позже появления рылец на початках. Фертильные растения нормально цветут и выбрасывают фертильную пыльцу.

Таблица 2

Подсчет растений по стерильности метелки у подлинной кукурузы в 1961 г.

Подлинная	Количество растений, %			
	стерильных	стерильных с выбрасыванием метелки	полустерильных	фертильных
(ВИР 286 × Молдаванка желтая 4)-1-1-1 . . . . .	15,4	—	—	84,6
(ВИР 42 × Молдаванка желтая 4)-1-1-1-1 . . . . .	80,0	—	—	20,0
(ВИР 42 × Молдаванка желтая 4)-1-1-1-2 . . . . .	10,0	—	—	90,0
(ВИР 42 × Молдаванка желтая 4)-1-1-1-1-S <sub>1</sub> . . . . .	60,0	—	—	40,0
(ВИР 42 × Молдаванка желтая 4)-1-1-1-1-1 . . . . .	23,1	—	—	76,9
свободно опыленные-1 . . . . .	20,0	—	—	80,0
2 . . . . .	14,3	—	—	85,7
3 . . . . .				

В табл. 2 приводится подсчет растений по стерильности у некоторых линий в 1961 г. Линия (ВИР 286×Молдаванка желтая 4)-1-1-1 в 1959 г. образовала 15% стерильных растений по пыльце и 85% фертильных (табл. 1), т. е. дала такие же показатели, как и в 1961 г., когда фертильные растения составляли 84,6% а стерильные — 15,4%. Другие подлинны в 1961 г. сохраняли разное соотношение стерильных и фертильных растений.

Как известно, цитоплазматическая мужская стерильность кукурузы обусловлена цитоплазмой и передается потомству только по материнской линии. Однако, как видно из наших данных, использование полустерильных по пыльце форм Молдавская желтая 4-я семья, Молдавская оранжевая 32-я семья в качестве отцовской формы при скрещивании их с совершенно фертильными формами получают гибриды, которые при самоопылении в потомстве дают растения с мужской стерильностью.

Из этих данных видно, что мужская стерильность может передаваться потомству через пыльцу полустерильных форм.

В 1959 г. растения линии (Молдаванка желтая 4×ВИР 286)-1-2-1 скрещивались с линией ВИР 42-39-2-2. В 1960 г. растения полученного

простого межлинейного гибрида самоопылялись и было получено 5 новых подлинний первого года самоопыления. В 1961 г. в их потомстве 32 растения оказались нормальными (78,1%), а 9 — измененными типа «гигант» (29,9%), стерильные и фертильные по пыльце (табл. 3).

Таблица 3

Сравнение количества растений с мужской стерильностью среди нормальных и измененных растений разных подлинний. 1961 г.

№. деланки	Подлинния	Количество нормальных растений			Количество растений «гигант»		
		всего	стерильных	фертильных	всего	стерильных	фертильных
204	(Молдаванка желтая 4 × ВИР 286-1-2-1) × × ВИР 42-39-2-2)-1 . . . . .	6	2	4	3	1	2
205	. . . . . -2 . . . . .	6	1	5	—	—	—
206	. . . . . -3 . . . . .	8	1	7	2	1	1
207	. . . . . -4 . . . . .	9	1	8	—	—	—
208	. . . . . -5 . . . . .	3	2	1	4	2	2
	Всего растений . . . . .	32	7	25	9	4	5
	% . . . . .	78,1	21,9	78,1	21,9	44,5	55,5

Интересно отметить, что процент стерильных растений среди нормальных (21,9) совпадает с процентом измененных растений типа «гигант» (21,9). Это показывает на их общее происхождение и на то, что они в рецессиве обуславливаются, по-видимому, одинаковыми факторами. Иное соотношение процента стерильных и фертильных растений наблюдается у полиплоидных форм типа «гигант» по сравнению с процентом стерильных и фертильных форм у нормальных растений.

В 1961 г. удалось самоопылить и получить семена от растений, внешне похожих на полиплоидные формы, а также получить семена от парного их скрещивания.

Можно было предположить, что полученные стерильные растения имеют другой тип и характер стерильности, чем цитоплазматическая мужская стерильность. Это хорошо видно на линии Молдаванка оранжевая 21 (табл. 1), где стерильность проявляется несколько иначе, чем у типичных растений с цитоплазматической мужской стерильностью. Может быть, появившиеся стерильные растения являются результатом неодинакового, нечетного набора числа хромосом (анеуплоиды). Однако у некоторых растений среди линии (ВИР 42 × Молдаванка желтая 4)-1-1-1 наблюдается типичный признак цитоплазматической стерильности. Можно также предполагать, что полустерильные исходные семьи являются качественно отличными от типичных цитоплазматических стерильных растений.

Известно, что разные типы стерильности у растений связаны между собой и могут действовать совместно, как, например, у подлиннии

Молдаванка оранжевая 21-S<sub>1</sub>-3-81, где мы наблюдали мужскую и женскую стерильность.

В 1959 г. стерильные растения линии (ВИР 286 × Молдаванка желтая 4)-1-1-1-1 скрещивались с линией ВИР 82, являющейся одним из самых лучших восстановителей фертильности молдавского типа. В 1960 г. растения этого гибрида были фертильные и часть из них подвергалась самоопылению. В 1961 г. в потомстве этой линии обнаружили снова 30,8% растений с мужской стерильностью и 69,2% фертильных растений.

И раньше в процессе работы по насыщению разных линий признаком мужской стерильности нами было отмечено несколько случаев специфического новообразования. Так, в 1955 г. среди растений межсортового гибрида кукурузы Воронежская 76 × Молдаванка оранжевая (полустерильная) развилось несколько растений типа «гигант». По-видимому, это является также следствием взаимодействия сорта Молдаванка оранжевая с полустерильной пыльцой с фертильным сортом Воронежская 76.

В 1958 г. среди стерильной по пыльце подлиннии ВИР 44, полученной в результате четырехкратных насыщающих скрещиваний, нашли приблизительно 1%, по-видимому, гаплоидных растений (значительно меньшего роста, тонких, слаборазвитых, стерильных на пыльце, мелколистных).

В 1959 г. в питомнике, где размножалось свыше 30 пар стерильных и фертильных подлинний ВИР 44, среди стерильной подлиннии ВИР 44-628мс, а также ее фертильного аналога ВИР 44-601, обнаружили около 1% растений карликового типа — папа.

В 1961 г. среди насыщающихся линий ВИР 47 признаком стерильности молдавского типа после 6 лет насыщающих скрещиваний только среди стерильной формы появились растения, у которых стебель выше початка раздвоился и образовал два стебля с двумя стерильными метелками (рис. 4).

Формообразовательный процесс легче изучать во время цветения, а также после цветения. До цветения различия между линиями слабо заметны.

Характерно, что формообразовательный процесс среди линий был обнаружен после третьего года самоопыления и только у некоторых линий на втором году самоопыления. Получение новых линий типа полиплоидов у кукурузы могут иметь большое практическое значение.

Известно, что в результате применения существующих методов получения полиплоидных растений (путем применения колхицина и других химических веществ, теплового удара, вегетативной декапитации) получают химерные полиплоидные растения, где полиплоидные участки чередуются с диплоидными.

В результате самоопыления полустерильных растений и их гибридов глубокие изменения и образования новых форм происходят в са-

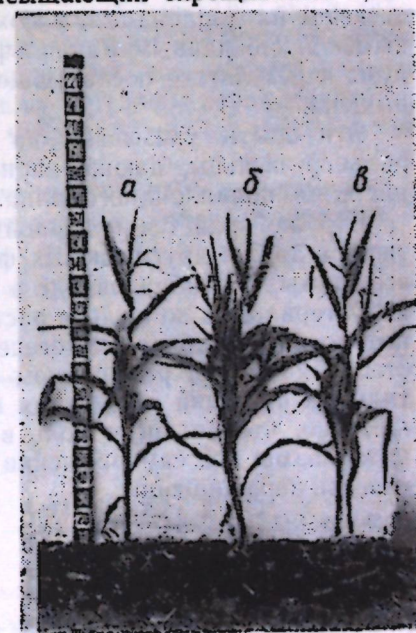


Рис. 4. Растения линии кукурузы ВИР 47: а — исходная форма, б и в — у растений выше початка образуется два стебля с нормальными метелками



мые ранние этапы возникновения растения и, по-видимому, новые линии не имеют химерного строения. Процент выхода измененных линий более высокий, чем при других методах. Так, в подлиннии [Молдаванка желтая 4×ВИР 286)-1-2-1×ВИР-42-39-2-2)]-5 растения полиплоидного типа составляли около 50%. Некоторые новые линии, полученные при самоопылении гибридов с участием полустерильных форм, скрещивались для создания простых и двойных гибридов.

В 1959 г. испытывался гибрид, полученный в результате скрещивания линии Молдаванка оранжевая 21 с линией ВИР 116. В этом гибриде сильно доминировали свойства линии Молдаванка оранжевая 21 — засухоустойчивость, форма и длина початка, кремнистая консистенция зерна. Гибрид в контрольном питомнике превысил по урожаю стандарт ВИР 42 на 30%. Отрицательным признаком является высокая мужская стерильность некоторых подлинний, что затрудняет их размножение. Однако степень стерильности по пыльце различных подлинний варьирует, и методом индивидуального отбора возможно отобрать более фертильные подлиннии.

Новые полученные растения полиплоидного типа, кроме теоретического значения, нам кажется, являются перспективными для получения гибридов, которые меньше снижали бы степень гетерозиса в течение нескольких поколений, поскольку у их гибридов иначе идет процесс расщепления во втором и последующих поколениях. Ю. П. Мирюта [3] считает, что у тетраплоидных форм конъюгация хромосом осуществляется избирательно, конъюгируя «сестринские», или «идентичные», хромосомы с одинаковыми аллеломорфами.

Ф. Шванитц [4], К. Тарковский [7], Ю. П. Мирюта [2] считают, что эффект гетерозиса у полиплоидных форм кукурузы сказывается сильнее, чем на диплоидных, и сохраняется на протяжении нескольких поколений. По данным Рандольфа [5], плодовитость тетраплоидов кукурузы в результате последующей селекции может быть значительно повышена.

Эти опыты указывают на большую разнокачественность полустерильной пыльцы, дающей при скрещивании с фертильными формами растения полиплоидного типа.

Что же является причиной возникновения растений полиплоидного типа, а также других новых форм в потомстве самоопыленных линий, выводимых из гибридов, где в качестве родительской формы участвуют полустерильные по пыльце растения? На это точный ответ должна дать цитология или, точнее, цитогенетика. Можно предполагать, что такие растения являются результатом взаимодействия гамет нормальных фертильных растений с гаметами полустерильных по пыльце форм. Не исключено, что большую роль в этом играют и взаимодействия ядра и цитоплазмы при самоопылении гибридов, где родительские формы генетически неравноценны.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Кельрейтер И. Учение о поле и гибридизации растений. М.—Л., Огиз — Сельхозгиз, 1940.
2. Мирюта Ю. П. Полиплоидия как средство закрепления и повышения гетерозиса. Доклад на совещании по полиплоидии у растений. Краткая рецензия в Известиях АН СССР, серия биологическая, 1959, № 1.
3. Мирюта Ю. П. Об избирательности конъюгации хромосом. Межвузовская конференция по экспериментальной генетике. Тезисы докладов, ч. 1, Л., 1961.

4. Шванитц Ф. Исследования полиплоидных растений. В кн.: Полиплоидия. М., ИЛ, 1956.
5. Randolph L. F. Cytogenetics of tetraploid maize. «J. agr. res.», vol. 50, 1935, pp. 591—605.
6. Rhoades M. The cytoplasmic inheritance of male sterility in *Zea mays*. «Genet.», vol. 27, 1933, pp. 71—93.
7. Tarkowski Czesław. Poliploidy *Zea mays* L. Postepy nauk Rolniczych, p. IV, N. 2, 1957.

Т. С. ЧАЛЫК

### ПРОЧЕСУЛ ДЕ ФОРМАРЕ А ПЛАНТЕЛОР НОЙ ЫН УРМА АУТОФЕКУНДЭРИЙ ХИБРИЗИЛОР ДЕ ПЭПУШОЙ, КЭПЭТАЦЬ ПРИН ЫНКРУЧИШАРЯ ФОРМЕЛОР СЕМИСТЕРИЛЕ КУ ЧЕЛЕ ФЕРТИЛЕ

Резумат

Ын ачастэ лукраре се аратэ путинца-трансмитерий ередитаре а стерилитэций маскулине ла пэпушой прин поленул стрынс дела плантеле маскулине семистериле. Пынэ акума се штия де путинца трансмитерий ередитаре а ачестуй семн женерацилор урмэтоаре нумай ку ажуто-рул читоплазмей челулелор феменине.

Прин аутофекундаря хибризилор де пэпушой кэпэтаць дин ынкручишаря формелор семистериле ку форме фертиле се примеск форме ной асемэнэтоаре ку плантеле де тип полиплоид ши ануме: ау о периоадэ де вежетаре май лунгэ, фрунзеле ау о кулоаре верде ынкисэ ши сынт май гроасе, резистенте ла сечетэ; планте питиче ши форме ыналте де типул «гигант».

Ачесте форме пот фи ынтребуинцате пентру примиря хибризилор де пэпушой, ла каре хетерозисул се пэстрязэ ын кытева женераций.

В. Н. ЛЫСИКОВ

### ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ МЕНТОРА ПЫЛЬЦЫ С ПОМОЩЬЮ РАДИОАКТИВНЫХ ИЗОТОПОВ ПРИ САМООПЫЛЕНИИ КУКУРУЗЫ

Опытная станция по селекции и генетике полевых культур Кишиневского сельскохозяйственного института им. М. В. Фрунзе начиная с 1953 г. ведет весьма большие работы по изучению менторального влияния пыльцы при самоопылении кукурузы. Исследованиями профессора А. Е. Коварского [3] и руководимого им коллектива вскрыты закономерности менторального воздействия чужеродной пыльцы. Углубление этих работ, расширение методики исследования и привлечение все новых и новых материалов привело к выводу Е. М. Гуляеву [1], К. И. Степанова [5] и других о необходимости изучения менторального влияния при самоопылении кукурузы не только чужеродной пыльцы, но и пыльцы родственной, т. е. других сортов кукурузы. Специально поставленные с этой целью опыты генетического порядка с материалом, резко отличающимся по своим биоморфологическим признакам, полностью подтвердили менторальное влияние как чужеродной, так и кукурузной (чужой) пыльцы.

К настоящему времени целый ряд вскрытых закономерностей и особенностей менторального влияния пыльцы при самоопылении кукурузы получил не только теоретическое освещение. Сейчас осваиваются практические приемы применения их в селекции и семеноводстве кукурузы. Однако несмотря на большое количество специально поставленных генетических опытов многие стороны этого вопроса, особенно связанные с необходимостью изучения своего ментора, т. е. ментора пыльцы других сортов кукурузы, еще не совсем ясны.

Лаборатории радиобиологии КСХИ было предложено, используя методику меченых атомов, попытаться установить проникновение веществ чужеродной и чужой, но родственной пыльцы кукурузы в ее зерно при самоопылении кукурузных растений. При выборе материалов для постановки экспериментов ставилась задача обязательно учитывать возможности сочетания обычного генетического анализа с особенностями биофизического метода меченых атомов. Поэтому растения, используемые для самоопыления, старались брать с зерном светлой окраски, а растения, пыльца которых намечалась для использования в качестве ментора, обязательно с более темнопигментированным зерном.

Поскольку насыщению радиоактивными изотопами подвергалась пыльца растений с темноокрашенным зерном, которое к тому же часто доминирует по этим признакам, следовало ожидать, что радиоактивность должна быть только в зернах с темной окраской. В зернах с

этого же початка, но светлоокрашенных, т. е., казалось бы, не получивших  $P^{32}$  с пылью темноокрашенных растений, не должно быть радиоактивности.

Именно исходя из этих предпосылок на специальном полевом участке были высеяны рядами следующие сорта кукурузы: для использования в качестве основной материнской формы — Чакинская, Кичкасская, Масличная белая, Молдаванка белая, Сахарная белая и другие, а для использования в качестве ментора, т. е. для метки изотопом, — Воронежская 76, Сахарная желтая, Чинквантин, Черная красавица и некоторые другие. Только в отдельных случаях специально метились изотопом светлоокрашенные формы, но тогда в качестве материнских форм брались темноокрашенные. Эти случаи дальше специально разбираются.

Здесь же, на этом же полевом участке, выращивались и растения других ботанических видов, пыльца которых использовалась для метки радиоактивным веществом. Для этого брались следующие растения: сорго веничное, подсолнечник, тыква и мальва цветочная.

Работа проводилась по методике, разработанной на Украине И. М. Поляковым [2, 4] с применением изотопа  $P^{32}$ . Пыльца метилась путем насыщения соцветий растений за несколько дней до их цветения в растворе радиоактивной ортофосфорной кислоты удельной активностью 1,0 мкюри/л. Соцветия настаивались на этом растворе в течение 3—4 дней. Перед опылением активность пыльцы (100 мг навески) проверялась на гейгеровском счетчике. Опыление было ограниченным и производилось под пергаментными изоляторами. Для определения радиоактивности зерно отбирали на 25—28-й день после оплодотворения. Затем его сжигали в муфельной печи и под счетчик брали навеску в 100 мг золы. В табл. 1—6 приводятся данные без фона, который был довольно постоянным и колебался в пределах 10—12 имп/мин. Счет везде трехкратный. Счетчик торцовый типа МСТ-17, радиометр марки Б-2. Экранирование велось свинцовым домиком типа ИФХАН-2. Всего проделано свыше 800 анализов.

Нашими методическими опытами установлено, что для того чтобы получить большую активность пыльцы, необходимо или увеличить концентрацию раствора, или дольше настаивать соцветия. Однако нельзя не признать и того, что усиление метки пыльцы часто зависит от индивидуальной способности данного растения поглощать радиоактивные изотопы. Так, наблюдался случай, когда пыльца одной метелки сорго в равных условиях с другими дала пыльцу исключительной активности — 16 тыс. имп/мин.

Первоначально взятая концентрация, рекомендованная в литературе [4] (0,5 мкюри на 1,5 л), не обеспечивала достаточно высокой радиоактивности пыльцы и была увеличена в три раза. Несколько позже было установлено, что вполне возможно (без большого риска погубить растения) еще в несколько раз увеличить концентрацию растворов насыщения. Еще более эффективным способом насыщения пыльцы является выращивание растений в вегетационных сосудах, куда вносятся значительно большие количества радиоактивного фосфора (от 2 до 10 мкюри на сосуд).

Случаев полного незавязывания семян у нас было очень немного, буквально единицы. А из подвергнутых детальному изучению 111 початков, у 62, или 55,9%, была хорошая завязываемость, у 21 початка, или 18,9%, — средняя завязываемость и только у 28 початков, или 25,2%, — плохая озерненность. Приведенные цифры говорят о вполне

удовлетворительном, если не о весьма хорошем, оплодотворении, так как у кукурузы при самоопылении, как правило, бывают значительно более худшие показатели.

Повышение радиоактивности пыльцы, хотя в целом и ведет к некоторому возрастанию радиоактивности в зерне, все же не является обязательным и единственным фактором высокой радиоактивности зерна. Так, даже при очень высокой активности пыльцы (12 000 *имп/мин*) в некоторых початках обнаруживается сравнительно небольшая радиоактивность, и наоборот. По-видимому, индивидуальные особенности каждого конкретного растения имеют очень большое значение и как-то влияют на проникновение веществ, а с ними и радиоактивного фосфора из пыльцы в семя кукурузы.

Несмотря на то, что при высоких активностях пыльцы, возможно и хорошее и плохое завязывание зерна, а плохое завязывание зерна возможно и при низких активностях пыльцы, все же нельзя не указать на то, что средняя активность в группе с хорошим завязыванием находится в пределах 3769 *имп/мин*, а в группе с плохим завязыванием почти на 2000 ниже и равна 5471 *имп/мин*.

По-видимому, в наших условиях оптимальная активность пыльцы, которая обеспечивает хорошее завязывание зерна, находится в пределах 3500 *имп/мин*. Нельзя не отметить и того, что в опыте у 8—12% початков радиоактивность осталась на уровне фоновой.

По чужеродному ментору все основные данные приводятся в табл. 1. Наибольшее количество удачных опылений произведено с пыльцой сорго веничного. Именно по этому варианту получены и наивысшие средние показатели активности зерна кукурузы — 45 *имп/мин*. Самая низкая активность наблюдалась у зерна по ментору мальвы, а именно 12 *имп/мин*.

По сортам, независимо от вида ментора-доопылителя, максимальная активность получена по кукурузе сорта Сахарная белая и Масличная белая. Самая низкая активность отмечена по сорту Воронежская 76.

Таблица 1

Влияние ментора меченой чужеродной пыльцы при самоопылении кукурузы

Сорт кукурузы	Чужеродный ментор пыльцы							
	сорго		подсолнечника		тыквы		мальвы	
	повторность	радиоактивность, <i>имп/мин</i>	повторность	радиоактивность, <i>имп/мин</i>	повторность	радиоактивность, <i>имп/мин</i>	повторность	радиоактивность, <i>имп/мин</i>
Сахарная белая	3	101	—	—	2	38	—	—
Молдаванка белая	1	40	1	5	—	—	1	12
Масличная белая	5	33	3	53	2	33	2	16
Воронежская 76	1	4	1	22	—	—	1	4
Чакинская белая	—	—	1	80	1	80	—	—
Среднее	10	45	6	40	5	28	4	11

Как видно из этой таблицы, самая большая активность при менторе сорго веничное наблюдалась у сорта кукурузы Сахарная белая, на втором месте оказался сорт Молдаванка белая и на третьем, мало уступающая второму, — сорт Масличная белая. Ниже всего, фактически почти нулевой, была активность по сорту Воронежская 76.

По ментору подсолнечника самую высокую активность получил сорт Чакинская белая, несколько меньшую — сорт Масличная белая. Аналогичную дифференциацию по сортам можно видеть и по остальным менторам.

Полученный экспериментальный материал по изучению менторального влияния родственной пыльцы при самоопылении кукурузы сведен в табл. 2, 3, 4, 5 и 6.

Таблица 2

Изучение явления менторального влияния радиоактивной пыльцы при самоопылении кукурузы

Материнский сорт	Сорт ментор-доопылитель, меченный по радиоактивному фосфору	Повторность	Радиоактивность, <i>имп/мин</i>	
			зерно светлое от меченой пыльцы	зерно темное от меченой пыльцы
Чакинская . . . . .	Воронежская 76	3	11	12
Кичкасская . . . . .	" "	9	19	24
Масличная белая . . .	Сахарная желтая	3	61	29
Сахарная белая . . . .	Чинквантин	5	47	32
Казанская 7 . . . . .	Черная красавица	2	105	106
Сахарная желтая . . .	" "	4	70	65
" белая . . . . .	" "	2	113	Нет зерен
Кичкасская . . . . .	" "	1	5	25
Масличная белая . . .	" "	10	23	38
Воронежская 76 . . . .	" "	1	6	4
Стерлинг . . . . .	" "	2	83	115

Как видно из табл. 2, доопыление большого количества самоопыленных сортов кукурузы меченой пыльцой других сортов ведет к тому, что радиоактивность обнаруживается как в зерне с темной (черно-сизой и желтой) окраской, полученном от меченой пыльцы, так и в зерне со светлой окраской, полученном от немеченой пыльцы. Интересно, что у некоторых сортов радиоактивность одинакова в обеих группах зерна, в некоторых (и их большинство) она ниже в группе зерна, имеющего светлую окраску, и значительно реже можно наблюдать обратную зависимость.

Результаты, приведенные в табл. 3, показывают влияние ментора разных сортов на один и тот же сорт кукурузы — Молдаванка белая. Здесь можно отметить также два прямо противоположных случая. Если такие сорта, как Черная красавица и Воронежская 76, очень мало, при-

мерно вдвое меньше, передают радиоактивность светлomu зерну, то Сахарная желтая кукуруза как раз наоборот — передает светлоокрашенному зерну именно максимальную радиоактивность.

Таблица 3

Менторальное влияние родственной пыльцы при самоопылении кукурузы сорта Молдаванка белая и сорта Кичкаскакая

Сорт-доопылитель, пыльца которого помечена радиоактивным изотопом	Повторность	Радиоактивность, имп/мин	
		зерно светлое от немеченой пыльцы	зерно темное от меченой пыльцы
<i>Сорт Молдаванка белая</i>			
Черная красавица . . . . .	3	14	22
Воронежская 76 . . . . .	2	21	46
Сахарная желтая . . . . .	3	32	16
<i>Сорт Кичкаскакая</i>			
Черная красавица . . . . .	5	6	15
Воронежская 76 . . . . .	9	19	24
Казанская 7 . . . . .	4	32	24

У другого сорта — Кичкаскакая белозерная наблюдалась аналогичная картина менторального влияния родственной пыльцы других сортов кукурузы (табл. 3). Интересно отметить, что по этому сорту было изучено влияние ментора родственной пыльцы не только при ограниченном самоопылении, как это делалось везде, но и при свободном опылении. При этом доопыление материнского сорта меченой пыльцой в десятикратной повторности также привело к проникновению радиоактивного фосфора как в темные зерна, полученные от меченой пыльцы, так и в белоцветные, полученные от немеченой пыльцы.

В табл. 4 сведены данные, полученные при изучении менторального влияния родственной пыльцы при ограниченном самоопылении желтозерного сорта — Сахарная желтая. В этом случае в качестве ментора использовались сорта кукурузы с белым зерном и таким образом в початках желтое зерно получено от пыльцы, не помеченной радиоактивным фосфором, а белоцветные зерна — от меченой пыльцы. Однако, как это видно из таблицы, оба типа зерна радиоактивны.

Таблица 4

Менторальное влияние родственной пыльцы при ограниченном самоопылении кукурузы Сахарная желтая

Сорт-доопылитель, пыльца которого помечена по радиоактивному фосфору	Повторность	Радиоактивность, имп/мин	
		зерно светлое от меченой пыльцы	зерно темное от немеченой пыльцы
Молдаванка белая . . . . .	2	20	65
Масличная белая . . . . .	2	Нет светлых зерен	5
Стерлинг и Рисовая белая (смесь пыльцы) . . . . .	3	.	88

Одновременно изучалось влияние ментора при самоопылении кукурузы своей (данного растения), меченой по  $P^{32}$  пыльцой и доопылении ее немеченой пыльцой других сортов (табл. 5).

Таблица 5

Влияние ментора при опылении своей меченой пыльцой

Материнская форма (пыльца ее мечена)	Сорт-доопылитель (пыльца его не мечена)	Повторность	Радиоактивность, имп/мин	
			зерно светлое от меченой пыльцы	зерно темное от немеченой пыльцы
Масличная белая . . . . .	Сахарная желтая . . . . .	2	26	25
" . . . . .	Черная красавица . . . . .	1	40	70
Рисовая белая . . . . .	" . . . . .	4	10	26
Сахарная белая . . . . .	" . . . . .	5	21	45
Стерлинг . . . . .	" . . . . .	5	11	11

Здесь также установлен факт проникновения радиоактивного фосфора как в зерно, полученное от меченой пыльцы, так и в зерна, полученные от немеченой пыльцы. В этом случае было бы неправильным не отметить, что материалы эти также говорят о явлении двуотцовства кукурузы, вскрытом А. Е. Коварским на молдавском материале.

Кроме вышеприведенных вариантов, у нас был поставлен опыт, чтобы установить, влияет ли внесенная в качестве своего ментора пыльца кукурузы, обладающая мужской, или, как принято говорить, цитоплазматической наследственностью. Это было интересно, поскольку в преобладающем большинстве случаев пыльца стерильных форм носит ярко выраженный абортный характер и обычно не прорастает на рыльце.

Таблица 6

Влияние ментора пыльцы сорта Молдавская оранжевая стерильная, меченой по  $P^{32}$ , на семена разных сортов кукурузы

Материнский сорт	Повторность	Радиоактивность, имп/мин	
		зерно белое от немеченой пыльцы	зерно желтое от меченой пыльцы
Масличная белая . . . . .	2	Фон	20
Сахарная белая . . . . .	4	19	Нет желтых зерен
Молдаванка белая . . . . .	1	22	" . . . . .

По совету проф. А. Е. Коварского для метки пыльцы был взят имеющийся у нас в большом количестве материал местной Молдавской оранжевой кукурузы со стерильной пыльцой.

Нельзя не отметить, что вначале насыщение более 50 метелок стерильной кукурузы было абсолютно безуспешным, поскольку мы просто не могли получить от нее пыльцы. И только в трех случаях нам удалось

получить меченую радиоактивным фосфором пыльцу стерильной кукурузы. Именно этой пылью были произведены опыления, результаты которых приведены в табл. 6.

Как видно из этой таблицы, в двух случаях на кукурузе сорта Масличная белая было получено зерно как белой, так и желтой окраски. При этом радиоактивны были только желтые зерна. Это говорит о том, что в данном случае полученная нами пыльца, по-видимому, была не полностью стерильной и дала обычные гибридные семена, радиоактивные по фосфору.

В пяти случаях на сортах кукурузы Сахарная белая и Молдаванка белая были получены несколько иные результаты. Так, в этих случаях на початках вовсе не было обнаружено желтоокрашенных зерен, т. е. все зерна были белой окраски. Это подтверждает то, что взятая в этом случае в качестве ментора меченая пыльца была действительно стерильной. В то же время интересно, что в белоцветных зернах этих початков кукурузы обнаружен радиоактивный фосфор. Казалось бы, здесь не должны поступать в зерно радиоактивные вещества из стерильной пыльцы, но именно здесь это как раз имело место.

По-видимому, стерильная кукурузная пыльца — не мертвая пыльца, и хотя это предположение требует повторного изучения, уточнения и детализации, однако оно уже позволяет говорить о значительном более сложных процессах менторального влияния при самоопылении кукурузы.

#### ВЫВОДЫ

1. Применение метода меченых атомов для метки пыльцы кукурузы представляет исключительный интерес, так как позволяет глубже проникнуть в некоторые еще не ясные процессы оплодотворения сельскохозяйственных растений. Особенно перспективно соединение генетического и изотопного методов анализа. Например, по цвету зерна или по какому-либо другому признаку можно легко установить, какая пыльца принимала участие в оплодотворении объекта, а затем проверить его радиоактивность.

2. Радиоактивный фосфор из меченой пыльцы как чужеродного, так и родственного ментора при самоопылении кукурузы поступает в зерно растения и довольно легко может быть там обнаружен. Различные меченые менторы по-разному передают вещества, а с ними и радиоактивный фосфор одному и тому же сорту. И в то же время разные сорта по-разному воспринимают вещества, а с ними и радиоактивный фосфор, полученный от одного и того же меченого пыльцевого ментора.

3. Изучение пыльцевого ментора в целом ряде случаев проливает свет на явление двуотцовства у кукурузы.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Гуляева Е. М. Влияние чужеродной пыльцы-ментора на процесс самооплодотворения кукурузы. Тезисы докладов Объединенной сессии Отделения биологических наук АН СССР, Молдавского филиала АН СССР и Отделения земледелия ВАСХНИЛ. Кишинев, 1957.
2. Здрилько А. Ф., Поляков И. М. Исследования чужеродного доопыления при помощи пыльцы, маркированной S-35 и P-32. «Бюллетень Укр. НИИ растениеводства, селекции и генетики», 1957, № 1.

3. Коварский А. Е. Новое в биологии опыления и оплодотворения кукурузы и перспективы ее селекции и гибридизации. «Земледелие и животноводство Молдавии», 1957, № 12.
4. Поляков И. М., Здрилько А. Ф. Пути поступления S<sup>35</sup> и P<sup>32</sup> маркированной пыльцы в завязи. «Бюллетень Укр. НИИ растениеводства, селекции и генетики», 1957, № 1.
5. Степанов К. И. Изучение комбинационной ценности ментированных самоопыленных линий кукурузы. Труды Юбилейной Дарвиновской конференции. Кишинев, «Штиинца», 1960.

В. Н. ЛЫСИКОВ

### СТУДИЕРЯ ИНФЛУЕНЦЕЙ ПОЛЕНУЛУИ-МЕНТОР КУ АЖУТОРУЛ АТОМИЛОР МАРКАЦЬ ЛА АУТОФЕКУНДАРЕЯ ПЭПУШОЮЛУИ

Резумат

Апликаря методей атомилор маркаць ку целул де а ынсемна поленул стрэин сау проприу, каре я парте ла фекундарея пэпушоюлуй, репрезintă ун маре интерес дин пункт де ведере а студиулуй прочесулуй де фекундаре ла планте.

Метода атомилор маркаць не дэ посибилитате де а стабили пречис калитатя ши кантитатя поленулуй, каре а луат парте ын прочесул де фекундаре а семинцей дате. Дин ачест пункт де ведере о маре перспективэ ын черчетаря дэ май департе а прочеселор де формаре а роадей культурилор де кымп репрезintă апликаря амбелор методе — чя жене-тикэ ши метода атомилор маркаць.

Апликаря методей атомилор маркаць не дэ ши еа путинца сэ лэму-рим феноменул пэринцилор дубль, каре апаре ка резултат ал поленизэ-рий ынкручишате ла пэпушой.

М. В. ЧЕРНОЯРОВ

## О ЗЕЛЕНОСТИ НАДЗЕМНОЙ ЛИСТОСТЕБЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ РАСТЕНИЯ

Настоящая работа преследует три цели:

Во-первых, привлечь внимание ботаников к целому ряду фактов, с одной стороны, как будто и хорошо нам известных или, вернее, привычных, с другой стороны, как это ни странно, не осознанных современной наукой. Речь идет о широчайшем распространении зелени всех образований надземной листостебельной системы растений как в вегетативной, так и в генеративной ее части.

Во-вторых, поскольку новые факты, приводимые в работе, добыты наблюдением исключительно на живом материале, она имеет целью настойчивую пропаганду последней методики.

Третьей целью является обращение к практическим растениеводам с призывом возможно глубже продумать все изложенное, дабы начать проверять его на практике.

### Стебли травянистых растений

Стебли травянистых растений, за исключением сапрофитов (т. е. незеленых растений, питающихся органическими веществами почвы) и части паразитов, оказываются всегда зелеными, и это кажется столь привычным явлением, что даже не привлекает к себе нашего внимания. Объяснением столь широко распространенного явления служит представление о том, что зеленый стебель играет некоторую роль в фотосинтезе, но настолько незначительную по сравнению с листьями, что этот фотосинтез привыкли расценивать, как какой-то второстепенный, добавочный, не имеющий особого значения для самого растения. К тому же такое представление полностью согласуется и с воззрением на стебель как на орган в первую очередь проводящий.

Таким образом, полного ответа на вопрос о том, почему стебель всегда зеленый, мы не получаем. Если же специально обратить внимание на цитолого-анатомические подробности строения, развития и, в особенности, отношения хлорофиллоносных тканей стебля к прочим его тканям, то нельзя будет не признать крайней сложности и своеобразия этих отношений. Анатомы, как и физиологи, прошли мимо этих фактов, лишь вскользь отмечая их, как чисто второстепенные, не заслуживающие особого внимания подробности, не осознавшие их значения.

### Стебли древесных и кустарниковых

Несравненно более интересные отношения хлорофиллоносных тканей стебля к прочим его тканям встречаем мы у древесных и кустарниковых. Как всем хорошо известно, молодые стебли этих растений всегда зеленые, и это такое же привычное явление, как и зеленые стебли травянистых растений. Вместо научного исследования этого факта ботаники ограничились сведением его к «травянистому состоянию», к яко-

бы не вызывающим вопросов зеленым стеблям травянистых растений. С первого взгляда может показаться, что представление о «травянистом состоянии», предшествующем последующему «деревянному», имеет известное под собой основание, поскольку в дальнейшем молодые стебли большинства древесных и кустарниковых значительно изменяют свой вид. Как известно, зеленая окраска молодых стеблей уже вскоре после их развития из почек в начале или середине лета, видимо, исчезает, обычно заменяясь различными оттенками серого, коричневого, бурого, желтого, красного и т. д., характерными для молодой древесной коры. В действительности же исчезновение зеленой окраски оказывается чистой иллюзией, так как хлорофиллоносная ткань сохраняется всегда под наружными слоями (или слоем) отмирающих клеток, маскирующих ее, в чем легко убедиться, осторожно соскабливая наружные слои мертвых клеток и освобождая находящуюся под ними зеленую ткань. Это обстоятельство и послужило первым толчком к дальнейшим наблюдениям в том же направлении.

Оказалось, что все деревья и кустарники обладают этой особенностью, т. е. постоянно сохраняют зеленую ткань молодых стеблей под слоями отмирающих клеток. Естественно было выяснить, как долго сохраняется зеленая ткань стебля. Первые же наблюдения, проведенные в небольшом саду, показали, что ветви самых различных возрастов стойко сохраняют зеленую окраску. Более того, оказалось, что эта зеленая ткань у некоторых пород обнаруживается и в основных стволах, или штамбах, фруктовых деревьев. Будучи крайне заинтригованным этими фактами, я перенес свои наблюдения в ботанический сад при Киевском университете, где стал просматривать подряд все деревья и кустарники, в нем растущие. Ни одного исключения я при этом не встретил. Все яснее вырисовывавшаяся всеобщность явления захватывала меня все глубже, тем более, что я не находил научного его осознания в ботанической литературе.

Естественно, что сохранение зеленых тканей в ветвях самого различного возраста и в стволе наталкивало на вопрос о том, в каком же состоянии находятся эти ткани зимой? Для решения этого вопроса наблюдения были проведены в Киевском ботаническом саду, а затем в саду Украинского института плодоводства в Китаеве и на прилегающих к нему участках Голосеевского леса. Результат этих обследований был таков: все деревья и кустарники без исключения сохраняют хлорофиллоносную ткань в стеблях всех возрастов на протяжении всей зимы.

Не могу не упомянуть о том сильном впечатлении, которое производила эта ткань при микроскопическом наблюдении зимой. Хлоропласты ее выглядели ярко-зелеными и совершенно нормальными. С трудом верилось, что рассматриваемый объект столь яркого прижизненного вида взят непосредственно из природы в самый разгар зимы в жестокий морозный день.

Следовательно, если в лиственном лесу зимой нам кажется, что деревья после опадания листвы совершенно лишены зеленых тканей, то это чистейшая иллюзия, так как под слоями отмерших клеток в коре имеется непрерывный как бы зеленый футляр хлорофиллоносной паренхимы, одевающий все надземные части растения независимо от их возраста. Этот зеленый футляр скрыт от наших глаз, но не от света, который, конечно, проникает сквозь мертвые слои клеток, когда они не достигают еще чрезмерной толщины, как, например, в коре старых стволов.

Поэтому, хотя мы обычно связываем зеленость древесных и кустарниковых пород с периодом вегетации листвы и воспринимаем дерево, утратившее листвы, как незеленое, постоянно сохраняемые хлорофиллоносные слои в стебле и в зимний период делают древесные растения по сути вечнозелеными.

В связи с этим приобретает особенный интерес сопоставление вышеприведенных фактов с нашими современными представлениями о зимнем покое древесных и кустарниковых растений. Как известно, представления о зимнем покое, согласно С. Викторову [3], претерпели значительную эволюцию. От прежних представлений о полном или глубоком зимнем покое, т. е. полном прекращении жизнедеятельности, в результате последующих многочисленных исследований, пришли к признанию того, что «... большинство процессов, слагающих жизнь дерева, не прекращается, хотя некоторые из них могут замедляться или временно прекращаться» [3, стр. 518]. Так, например, твердо установлено, что зимой совершается рост зачатков органов, заключенных в зимующих почках, и рост корней; происходит, хотя и пониженное, испарение, а в силу этого и передвижение воды в стволах и ветвях; наблюдается, хотя и пониженное, дыхание и т. д. Сюда же входят и сложные превращения веществ в теле дерева, которым особенно много было уделено внимания и среди которых на первом месте стоят превращения крахмала; его исчезновение зимой, регенерация ранней весной перед распусканием почек, исчезновение во время последнего и т. д.

Одним словом, жизнедеятельность дерева не прекращается во время так называемого зимнего покоя, хотя и оказывается значительно пониженной. Отрицается только фотосинтез, как это ясно видно из слов того же С. Виктора: «В течение периода покоя большинство процессов, слагающих жизнь дерева, не прекращается, хотя некоторые из них могут замедляться или временно прекращаться. Исключение представляет процесс ассимиляции у листовых пород (разрядка наша.— М. Ч.), а также, возможно, деятельность камбия» [3, стр. 518]. Основанием к этому является, очевидно, ошибочное мнение о том, что в дереве в безлистном состоянии отсутствуют хлорофиллоносные ткани.

Следовательно, нет оснований отказывать древесным и кустарниковым растениям в фотосинтезе в безлистном состоянии. Еще раз подчеркиваю, что древесные растения в полной мере и по существу являются вечнозелеными.

Именно жизнедеятельности хлорофиллоносной ткани стебля древесных и кустарниковых обязано хорошо известное для некоторых пород характерное изменение цвета кроны в конце зимы еще задолго до весеннего распускания почек. По всей вероятности, и осеннее явление «созревания древесины», хорошо известное практикам-плодоводам и неясное еще физиологам, находится в связи с жизнедеятельностью той же ткани.

Отсюда еще очевиднее становится необходимость изучения полной жизнедеятельности деревьев в безлистном состоянии, при котором имеются как раз наилучшие условия для освещения всей кроны в мельчайших ее разветвлениях. Если мы вспомним о листовой мозаике, как приспособлении к наилучшему освещению листьев растения с минимальным взаимным затенением, то должны будем признать период безлистного состояния наиболее благоприятным для максимального освещения нелистой зеленой системы древесного растения на естественном укороченном дне (в зимнее время).

Уже сейчас, как мне кажется, можно наметить существенные изменения в воззрениях относительно некоторых, хорошо известных нам явлений. Так, например, более сильное развитие годичных слоев древесины с южной стороны ствола, как известно, объясняется лучшим освещением кроны дерева с южной стороны. Однако такое же неравномерное развитие стебля наблюдается на самых тонких веточках и даже в последних или концевых их междоузлиях, т. е. именно там, где выше находится всего лишь один лист или два при супротивном расположении. И здесь сильнее развита всегда лучше освещенная сторона, причем различие это легко замечается непосредственно на глаз без каких-либо тонких измерений. Сердцевина в этих случаях расположена эксцентрично. Мне кажется, что уже и сейчас есть полное основание считать этот неравномерный рост результатом непосредственного неравномерного освещения самого стебля, а следовательно, и его хлорофиллоносной ткани.

Вторым результатом непосредственного освещения стебля является изменение запасных пластических веществ и, в первую очередь, крахмала, наблюдаемое в деревьях в безлистном состоянии, т. е. зимой и ранней весной. Как известно, крахмал, накопленный за летний период, зимой исчезает, весной же регенерируется снова. Фишеру (1891 г.) принадлежит наиболее полная картина превращений запасных веществ зимой в деревьях и кустарниках. Привожу эту схему, пользуясь той же работой С. Виктора [3].

1. Осенний крахмальный максимум: от листопада до конца октября или начала ноября.
2. Растворение крахмала осенью: с конца октября до конца ноября.
3. Зимний крахмальный минимум: декабрь — январь — февраль.
4. Регенерация крахмала ранней весной: с начала марта до начала апреля.
5. Крахмальный ранневесенний максимум: апрель.
6. Ранневесеннее растворение крахмала: начало мая.
7. Крахмальный минимум весной: с середины мая до конца его.
8. Накопление крахмала в течение лета: с конца до листопада.

Эти явления трактовались и в настоящее время трактуются как чисто биохимические превращения пластических веществ. В свете же вышеизложенных фактов — сохранения внелиственной зелени на протяжении всего зимнего периода — становится несравненно более вероятной их чисто биологическая сущность. В действительности происходит не превращение крахмала, а настоящее питание им живых элементов дерева в безлистном состоянии. Это явление охватывает 2-й и 3-й этапы вышеприведенной схемы. 4-й и 5-й этапы соответствуют не регенерации крахмала, а новообразованию его в результате фотосинтетической деятельности хлорофиллоносных тканей стебля, оказывающихся в особенно благоприятных для этого условиях, благодаря отсутствию листвы. 6-й и 7-й этапы соответствуют потреблению крахмала в связи с распусканием почек. Такое толкование является более простым и естественным, а главное, биологическим. Привожу его, ибо глубоко уверен, что экспериментальная проверка, к слову сказать, крайне простая и легко осуществимая<sup>1</sup>, полностью подтвердит его.

Оставляя многие интересные подробности изучения занимающих нас хлорофиллоносных тканей стебля для будущей специальной рабо-

<sup>1</sup> Для этого деревца в кадочных культурах в соответствующий момент надо поместить в полную темноту — и крахмал в них не образуется.

ты, я все же хочу и в настоящей остановиться на некоторых фактических данных, относящихся лишь к одному особенно благодарному объекту — бузине. По демонстративности и эффектности картин состояния хлорофиллоносных клеток стебля зимой, а также по технической

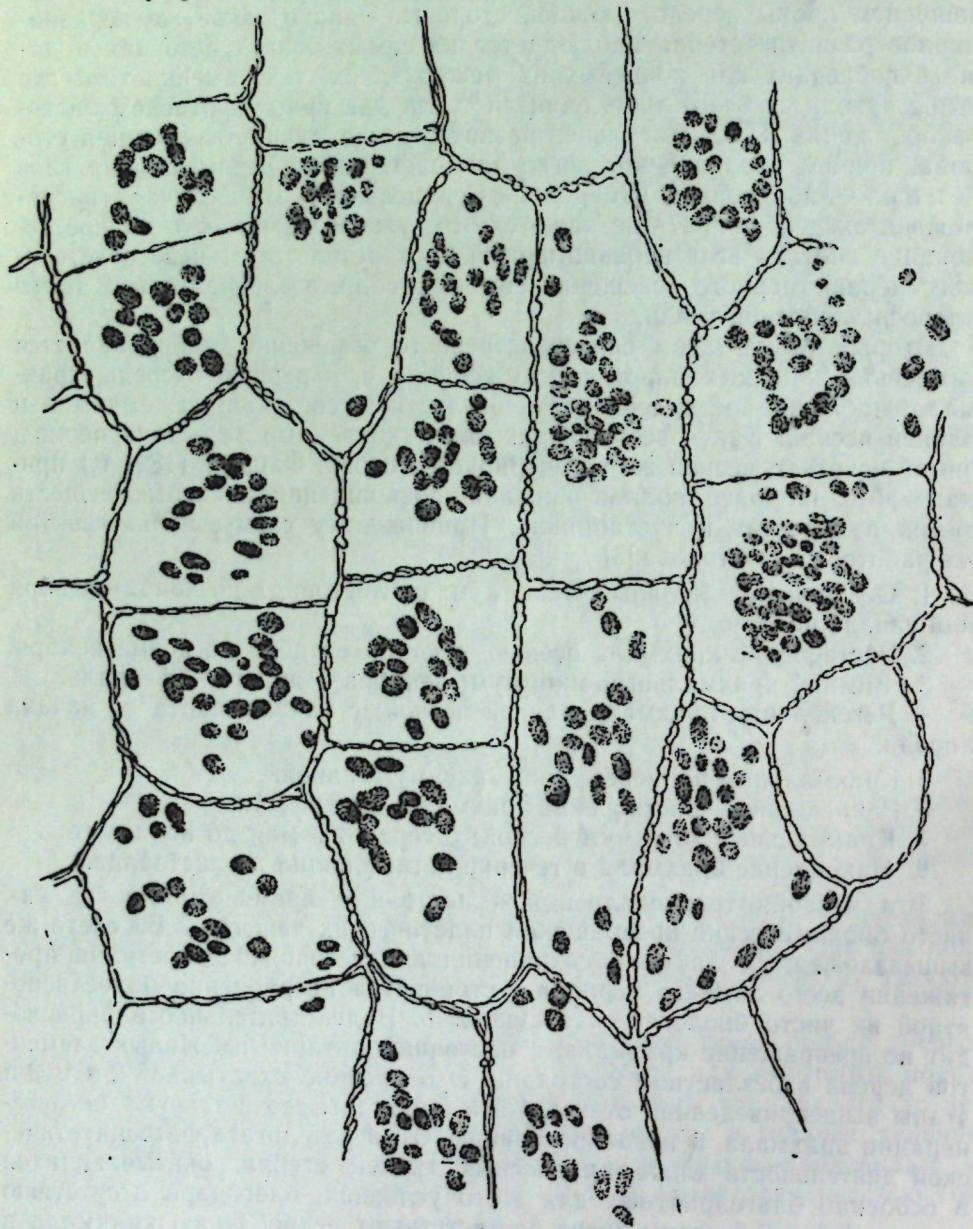


Рис. 1. *Sambucus nigra* L. Хлорофиллоносные клетки коры стебля в зимнее время, 8.III 1944 г. (с живого). 90×8 комп. ок. Цейса (уменьшено на 1/4)

легкости получения препаратов из живого материала этот объект заслуживает сделаться классическим в практических занятиях по анатомии растений<sup>2</sup>. При рассмотрении такого препарата бросается в глаза ярко выступающие оболочки клеток с характерными утолщениями

<sup>2</sup> Привожу некоторые методические указания. Свежесобранные (в любое время зимой) годовые ветки бузины ставятся срезанными концами в воду, дабы предохранить их от высыхания. Такой материал может сохраняться долгое время. Для при-

и простыми порами, свидетельствующими об интенсивном обмене этих клеток (рис. 1 и 2). Присматриваясь внимательно к оболочкам, можно подметить некоторое различие в их толщине, что указывает на неодновременность их образования, иначе — на известную временную последовательность карокинезов в разных клетках, а отсюда возможно вос-

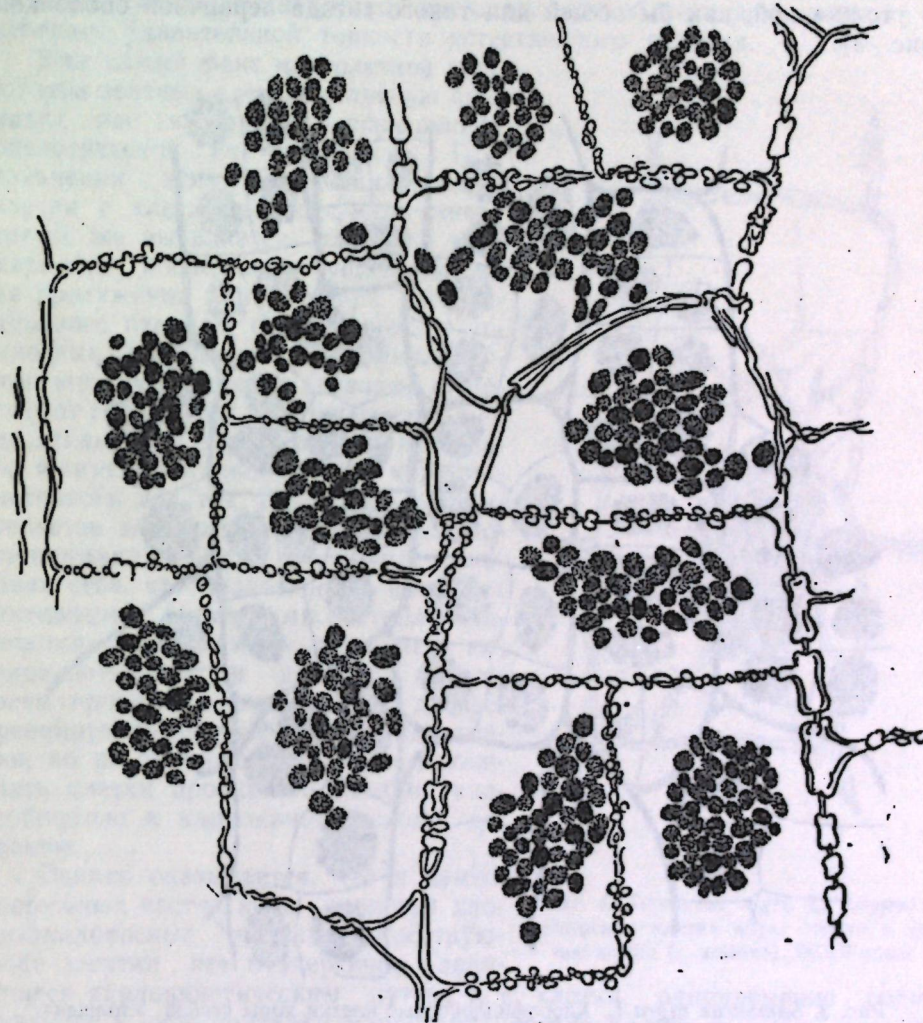


Рис. 2. *Sambucus nigra* L. Хлорофиллоносные клетки коры стебля в зимнее время, 20.III 1944 г. (с живого). 90×8 комп. ок. (уменьшено на 1/4)

становить генеалогию последних. На рис. 1 особенно интересны две средние клетки, вытянутые в длину, бывшие когда-то сестринскими. Левая из них разделилась уже два раза, что ясно видно по поперечным оболочкам, тогда как правая разделилась за это время только один раз.

готовления препарата нужно скальпелем надрезать кору двумя поперечными кольцевыми надрезами на расстоянии 3—4 см друг от друга, затем, соединив эти надрезы продольным, снимать или сдирать эту часть коры, надавливая на нее тупым концом скальпеля от продольного надреза. Хлорофиллоносная ткань, расположенная непосредственно под пробкой, расслаивается при этом на небольшие участки-пленочки, среди которых нетрудно выбрать самые тонкие, состоящие из одного слоя клеток. Их можно выбирать тонким пинцетом или иглой и переносить в каплю воды на предметное стекло. Таким образом, приготовление идеального анатомического препарата из одного слоя клеток обходится без применения бритвы.



Такие же подробности еще яснее выступают на рис. 2 и, наконец, достигают наиболее яркого выявления на рис. 3. Часто можно видеть совершенно отчетливо контуры прежних (материнских, прабабушкинских и т. д.) клеток, давших начало целым группам, которые представляют своеобразные и характерные «гнезда» клеток, окруженные сильно утолщенной, как бы общей для такого гнезда первичной оболочкой (рис. 3).

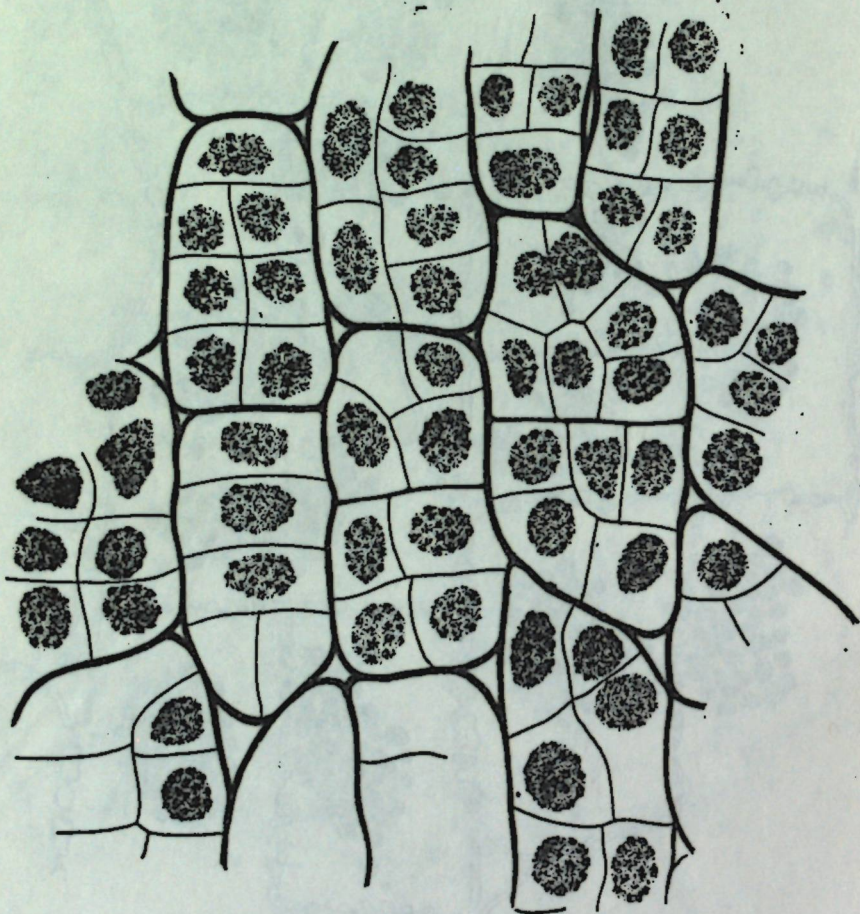


Рис. 3. *Sambucus nigra* L. Хлорофиллоносные клетки коры стебля. Утолщение оболочек «гнезд» клеток, соответствующих прежним отдельным клеткам (с живого). 90Xрисов. ок. Лейтца (уменьшено на  $\frac{1}{4}$ )

Хлоропласты в зимнее время расположены вокруг ядра, окружая его сплошь со всех сторон, и имеют нормальный прижизненный вид (рис. 1—3). Между прочим, это расположение хлоропластов вокруг ядер делает то, что на поперечных срезах стебля бузины хлорофиллоносные клетки имеют вид дегенерирующих. Но в том-то и дело, что, чтобы правильно оценить их прижизненное состояние, необходимо рассматривать эти клетки в радиальном направлении, т. е. как бы на тангентальном срезе.

Иногда можно явственно разглядеть чрезвычайно тонкую и нежную сеть цитоплазмы между центральным скоплением хлоропластов вокруг ядра и очень тонким стенкоположным ее слоем (рис. 4). Сеть эта имеет вид, очень характерный для струйчатого движения, которого, однако,

зимой подметить не удалось. С наступлением весны хлоропласты расходятся по всей клетке, и движение цитоплазмы становится заметным. Между прочим, летом в этих клетках замечается очень своеобразное движение цитоплазмы в тонком стенкоположном ее слое в форме причудливо извивающихся тонких струй, расходящихся от группы хлоропластов. Рис. 5 дает некоторое представление об этом движении, но не передает удивительной тонкости естественного явления.

Уже самый факт многолетней жизни этих зеленых клеток, вплотную подводит нас к вопросу о повышенной биологической их активности. При сравнении этих хлорофиллоносных клеток с клетками мезофилла листа тотчас же выявляется характер эфемерности последних, существующих на протяжении лишь одного вегетационного периода, измеряющегося немногими месяцами. Хлорофиллоносные же клетки стебля (ствола) существуют годами, а у некоторых пород — десятками лет. При этом они не только живут, но и многократно кариокинетически делятся. Последнее обстоятельство заслуживает исключительно внимания. До сих пор мы представляли себе, что биологически наиболее активными элементами в стебле являются клетки камбия, делящиеся кариокинетически и дающие начало всем прочим клеткам стебля, дифференцирующимся уже в различные ткани, но не обладающим, если исключить клетки пробкового камбия, способностью к кариокинетическому делению.

Однако оказывается, что в самых наружных частях коры имеются хлорофиллоносные клетки, существующие десятки лет и энергично делящиеся кариокинетическим путем, т. е. клетки, одновременно совмещающие в себе признаки меристематических клеток и клеток постоянной ткани. Этот факт заслуживает глубокого и пристального внимания.

В понятиях автотрофности и гетеротрофности отражены жизнедеятельность листа и корня. Стеблю же по сути всегда отводилась второстепенная роль «транзитного туннеля» между двумя жизнедеятельными полосами растения — корнем и листом. Отсюда пронстекает и некоторая недооценка роли стебля и суженный круг агротехнических воздействий на него. Зеленость стебля противоречит этим воззрениям и практике. Стебель столь же автотрофен, как и лист, и его жизнедеятельность не менее важна для растения в целом, чем жизнедеятельность листа и корня. На основании этого можно уже и сейчас наметить искание новых путей формирования молодого штамба фруктовых деревьев, путей, которые привели бы к значительно меньшему применению ножа и ампутаций, как известно, никогда не проходящих бесследно для дерева.

У некоторых пород (тополей, ясеня, граба, некоторых сортов куль-

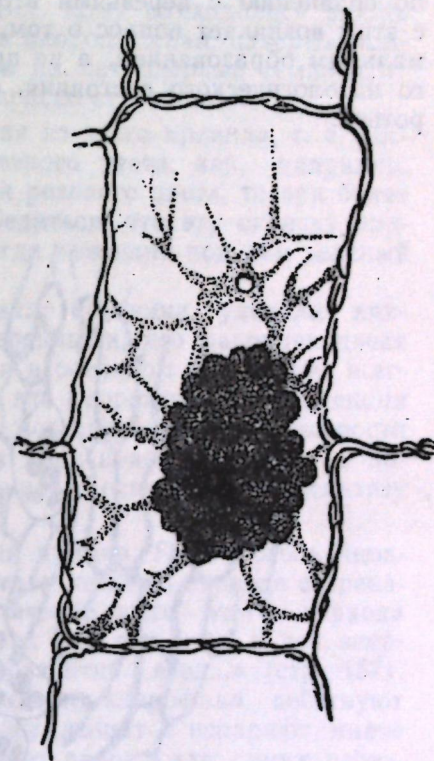


Рис. 4. *Sambucus nigra* L. Хлорофиллоносная клетка коры стебля в зимнее время (с живого). 90X8 комп. ок.

турных яблонь и др.) хлорофиллоносная ткань ствола оказывается покрытой до самой корневой шейки тонкими слоями или одним слоем отмерших клеток перидермы, через которую она отчасти даже просвечивает. Понятно, что это обстоятельство создает особенно благоприятные условия для освещения, а следовательно, и жизнедеятельности ткани по сравнению со случаями, когда она прикрыта у других пород толстой и грубой коркой, мешающей проникновению света. Деревья первой группы являются, как будто, более мощными в своем развитии по сравнению с деревьями второй группы с грубой коркой. В связи с этим возникает вопрос о том, насколько грубая корка является нормальным образованием, а не представляет собой результата некоторого патологического состояния, с которым, быть может, возможно бороться.

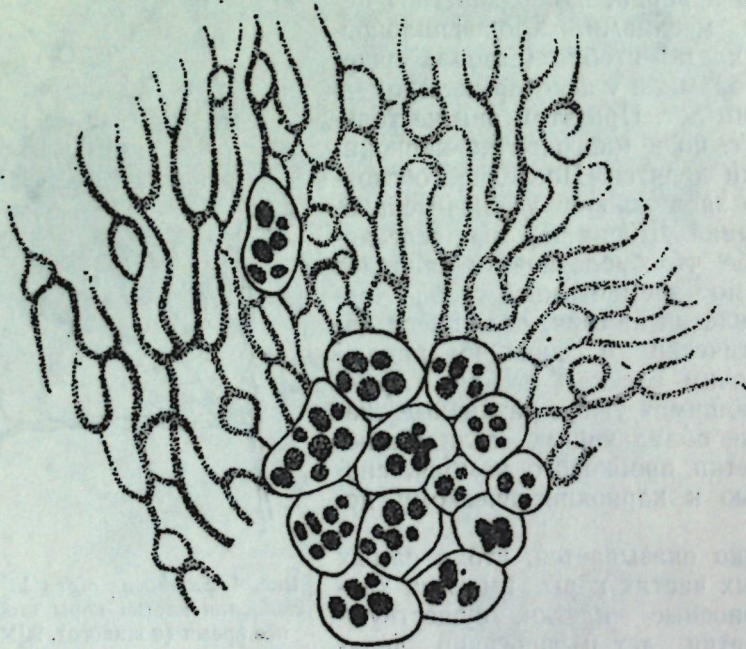


Рис. 5. *Sambucus nigra* L. Группа хлоропластов в стенкоположном слое цитоплазмы клетки паренхимы коры стебля в летнее время (с живого). Апохром. 90×8 комп. ок.

Не с хлорофиллоносной ли тканью стебля стоит в связи и практика зимнего укутывания в наших широтах южных сортов с целью предохранения их от вымерзания? Действительно, против чего мы их больше защищаем? Против низкой температуры или против света?

Едва ли подлежит сомнению, что именно зеленость стебля хвойных деревьев играет существеннейшую роль в новом, недавно предложенном и в высшей степени полезном способе получения стволов сосны без сучьев.

Зеленость стеблей древесных и кустарниковых растений ставит перед нами ряд интереснейших и актуальных проблем первостепеннейшего значения как в теоретическом, так и в практическом отношении.

### Развивающиеся плоды

Все плоды в незрелом состоянии имеют зеленую окраску, и это столь общее явление, что получило отражение в разговорной речи, в которой слово «зеленый» является синонимом «незрелого». У множества растений интенсивность зеленой окраски незрелых плодов ничем не отличается от интенсивности окраски листьев, а у некоторых даже превосходит ее. Напомню всем известный плод нашего обыкновенного огурца, зеленость которого не уступает таковой листьев, и некоторые сорта тыкв и арбузов с темно-зелеными плодами. Все, кому приходилось видеть различные породы citrusовых деревьев в плодоношении, наверно, помнят то впечатление, которое производили на них впервые темно-зеленые плоды, ничем не отличающиеся по окраске от листьев.

Если и встречаются иногда исключения из этого правила, т. е. растения с развивающимися плодами незеленого цвета, как, например, плоды тыкв желтого, палевого, серого или розового цвета, то при более внимательном исследовании нетрудно убедиться, что эту окраску придает им внешний слой, маскирующий всегда лежащий под ним зеленый слой.

Можно удивляться тому, насколько мало ботаники уделяли внимания этим фактам, будучи глубоко уверенными, что накапливающиеся в плодах запасные пластические вещества в основном происходят всегда из листьев. Несомненно, что именно эта теоретическая концепция главным образом и отводила внимание исследователей от зелени развивающихся плодов и заставляла их расценивать фотосинтез последних как нечто второстепенное, добавочное к основному фотосинтезу листьев.

Для иллюстрации приведу только один пример. Г. И. Гоголь-Яновский [4] в своем учебнике по виноградарству пишет о периоде созревания ягод винограда: «Зеленая ягода. В течение всего этого периода рост побегов значительно замедляется, так как все силы и вся энергия виноградной лозы направляется на развитие ягод...» (стр. 157). «В начале этого периода ягоды, содержащие хлорофилл, действуют как все зеленые органы, т. е. ассимилируют, дышат и испаряют, иначе говоря, частично выполняют созидательную работу для самих себя». И далее: «В потерявших теперь способность ассимилировать ягодах вся работа идет за счет деятельности корней, листьев и под влиянием идущих внутри ягод окислительных и иных процессов» (стр. 158—159).

Однако, наряду с только что приведенными общими представлениями, имеются необычайно яркие и многочисленные факты, доказывающие непосредственное влияние света на рост зеленых плодов. У тех же тыквенных, у которых плоды достигают подчас поистине гигантских размеров, можно ясно видеть влияние неравномерного освещения на форму плода. Огромный размер плода приводит к значительному затенению стороны, обращенной к земле. Эта сторона часто заметно этнолируется и на поперечном разрезе плода обнаруживается значительно более слабое развитие мякоти. Наоборот, обращенная к солнцу сторона поражает своим несоразмерным развитием. Для получения симметрично сформированных плодов таких тыкв необходимо время от времени их поворачивать, чтобы обеспечить равномерное освещение со всех сторон. В противном случае, у некоторых сортов тыкв плоды приобретают форму расплывшегося каравай хлеба.

Такие же явления зависимости роста или, вернее, развития от непосредственного освещения, только менее ярко выраженные, можно под-

метить на яблоках, грушах, персиках, абрикосах и других более мелких плодах.

В заключение упомяну еще об одном факте, поразившем меня, когда я впервые натолкнулся на него. Старые плоды огурца, оставляемые на семена, имеют серую или серо-коричневую окраску с очень типичным мелким сетчатым рисунком на поверхности, делающим их очень отличными по виду от молодых плодов. Под этим слоем мертвых клеток обнаруживается темно-зеленая паренхима, удивительно жизнедеятельная по виду и с запахом свежего молодого огурца. И это на плодах, пролежавших на грядках на солнце больше месяца после окончательной гибели ботвы. Если осторожно снять наружный слой, как бы панцирь из мертвых клеток, то остается голый темно-зеленый старый большой огурец, совершенно непривычный по виду. Мне думается, что наблюдениями не трудно было бы показать рост такого огурца после отделения его от материнского организма. Влияние же длительного освещения на развитие семян хорошо известно практикам огородникам, всегда выдерживающим семенные плоды огурца елико возможно долгое время на солнце.

#### Развивающиеся семена и зародыши

У покрытосеменных растений развитие семян происходит, как известно, в завязи, т. е. недоступно непосредственному нашему взору. Необходимо разорвать или разрезать зеленый еще плод для того, чтобы увидеть развивающиеся в нем семена. Но если задаться вопросом: а какие они в это время по виду, то чаще всего, даже не искушенный глубоко в ботанических познаниях, но от природы наблюдательный человек ответит, что они бесцветные или белые<sup>3</sup>. И этот ответ совпадает с общепринятым научным объяснением в ботанике: они потому бесцветны, что развиваются за счет органических питательных веществ, образующихся в листьях, т. е. питаются гетеротрофно. И несмотря на то, что в ботанике есть бессознательное стремление широко обобщить это положение, его никак нельзя возвести в общее правило, так как существуют растения, и их немало, у которых развивающиеся семена оказываются зелеными. Напомним всем известный «зеленый горошек», представляющий собой не что иное, как незрелые семена обыкновенного гороха. То же можно сказать относительно развивающихся семян множества сортов фасоли, а еще шире, быть может, всех представителей семейства мотыльковых. Напомню еще зеленые семена развивающихся плодов помидора и черного паслена. Исследование в этом отношении множества представителей семейства крестоцветных не дало до сих пор ни одного исключения. По-видимому, то же самое имеет место и у зонтичных.

При желании число примеров можно было бы значительно увеличить [9, 10, 11, 12], но не это является моей основной задачей. Я хочу лишь направить внимание читателя на эти факты.

Зеленость развивающихся семян в основном зависит от двух причин: от зелености самой развивающейся в семя семяпочки или же от зелености развивающегося в зародышевом мешке и просвечивающего зародыша. В некоторых случаях имеет место и то и другое явление.

<sup>3</sup> Вспомним незрелые семена еще зеленой головки мака, дурмана, белые семена огурца, незрелого яблока, груши и т. д.

Оба случая представляют большой интерес, но, несомненно, что особенно интересным является второй случай, на котором я и остановлюсь более подробно.

Зеленость семяпочки, как сложного образования, связана то с зеленостью клеток эпидермиса покрова, то с зеленостью более глубоких слоев клеток, то с зеленостью клеток самого развивающегося эндосперма. В этом отношении имеется интереснейший материал, заслуживающий отдельного исследования, которое надеюсь закончить в дальнейшем. У некоторых зонтичных эволюция хлорофиллоносных клеток эпидермиса покрова семяпочки дает интереснейшие цитологические подробности, по-видимому, до сих пор неизвестные. То же необходимо сказать и о клетках эндосперма многих крестоцветных, у которых присутствие зеленого живого вещества в этой части развивающегося семени полностью ускользнуло от внимания исследователей.

Вообще надо сказать, что наблюдения на живом материале должны будут значительно пополнить наши сведения об индивидуальном развитии хлорофиллоносных клеток новыми подробностями и привести к существенному изменению основной схемы эволюции клеток. Все это составит содержание дальнейших работ. Сейчас же возвращусь к зародышу.

Азбучной истиной сделалось положение о том, что развивающийся зародыш покрытосеменных питается за счет органических веществ, обильно откладывающихся в эндосперме. Отсюда и происходит представление о бесцветности развивающегося зародыша в связи с его гетеротрофным питанием, представление, получившее своеобразное подкрепление со стороны методики современного микроскопического исследования.

Зеленость развивающихся зародышей, по-видимому, очень распространена. Мною зарегистрировано уже около 30 семейств, у представителей которых зародыши во время развития зеленые. Поэтому, можно уже говорить о некоторых общих закономерностях [5, 7]. Так, например, зародыши оказываются зелеными на очень ранней стадии развития, но точно установить, когда же происходит их позеленение, мне еще не удалось из-за отсутствия чисто технических возможностей.

С течением времени интенсивность зеленой окраски развивающегося зародыша заметно увеличивается. Интересно отметить, что все части развивающегося зародыша оказываются зелеными. Зелены не только семядоли, зелены зародышевый стебель и даже зародышевый корешок, т. е. зачаток именно того органа, который у подавляющего большинства растений во взрослом состоянии никогда не бывает зеленым. Этот факт заслуживает самого серьезного внимания.

Изучение клеток таких зародышей дает много интересных подробностей цитологического порядка, общих с другими случаями, о которых речь впереди.

Появляется зеленое живое вещество вначале в виде бесструктурной сплошной массы, не оформленной в хлоропласты. При этом постоянно наблюдается очень характерное его отношение к ядру. Зеленое живое вещество располагается вокруг ядра, плотно прилегая к его поверхности. Рис. 6 дает ясное представление об этих отношениях. Оформленные хлоропласты появляются или, вернее, развиваются позже.

Все клетки зародыша оказываются одинаковыми в смысле наличия в них зеленого живого вещества: так, например, клетки эпидермиса, которые обычно не содержат хлоропластов, у зародыша не отличаются от расположенных под ними клеток будущей основной ткани.

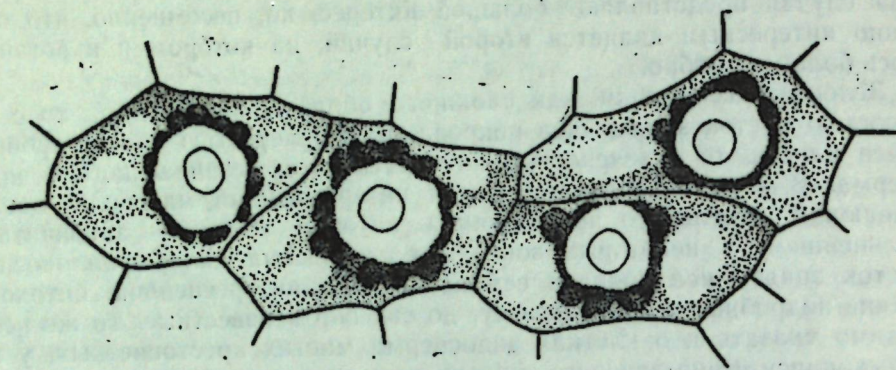


Рис. 6. *Alliaria officinalis* Ander. Клетки эпидермиса семядоли молодого зародыша (с живого). Апохром. 90×8 комп. ок. (уменьшено на 1/5)

Другой интересной подробностью, на которую я хочу обратить внимание читателя, является присутствие огромной вакуоли, делающей эти клетки своеобразно пустыми. Часто значительное по размерам ядро со всех сторон окружено вакуолью, как это можно видеть на рис. 7.

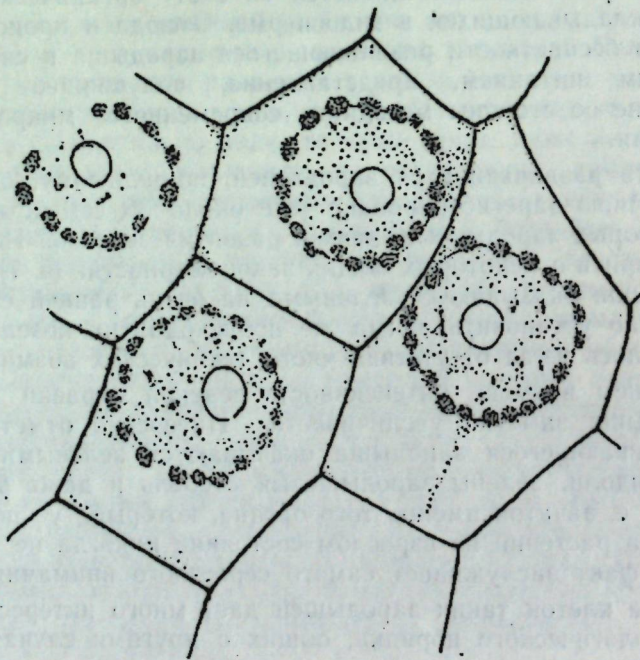


Рис. 7. *Hesperis matronalis* L. Клетки эпидермиса семядоли молодого зародыша (с живого). 1/12×6 комп. ок.

Мы привыкли связывать эмбриональные клетки с представлением о сплошной выполненности их цитоплазмой без вакуолей и дальнейшей их эволюции в сторону прогрессивного уменьшения последней, т. е. цитоплазмы и увеличения вакуоли. Эта схема, лежащая в основе наших представлений о видимых подробностях при дифференцировке эмбриональных клеток в клетки постоянных или взрослых тканей, требует существенного корректива. Эмбриональные клетки часто могут быть

удивительно бедными цитоплазмой и в то же время чрезвычайно, как это мы увидим в дальнейшем, богатыми зеленым живым веществом.

Перед созреванием семени зеленая окраска зародыша начинает понемногу ослабевать и ко времени его полной зрелости исчезает окончательно. Только у немногих растений (клены, фисташки и др.) зеленая окраска зародыша сохраняется и после созревания семени.

Таким образом, у подавляющего большинства растений с зелеными во время развития зародышами позеленение проростка при прорастании на свету является по существу уже вторичным позеленением. Глядя на этиолированный проросток любого мотылькового или крестоцветного, как-то трудно верится, что он уже был однажды зеленым и зеленым во всех своих клетках — во время своего эмбрионального развития.

Как ни странно, но эти факты, несмотря на их широкое распространение, почти полностью ускользнули от внимания ботаников, и в частности эмбриологов.

Чем же можно объяснить, что изумительные по красоте, изумрудно зеленые при наблюдении в живом состоянии зародыши множества растений могли остаться почти полностью незамеченными, а значение этого удивительного факта — не осознанным?

Объяснение этому найти не трудно. Во-первых, оно заключается в прочно установившейся практике (несомненно, весьма пагубной) не смотреть исследуемый объект в живом состоянии до фиксирования. При фиксации же и последующем заключении в парафин для резания на микротоме обычно применяются такие хорошо растворяющие хлорофилл вещества, как спирт, ксилол и хлороформ. Поэтому ботаник постоянно имеет дело только с фиксированным материалом, всегда искусственно обесцвеченным. Правда, его потом красят<sup>4</sup>.

Во-вторых, представление о питании зародыша готовыми органическими веществами, представление, прочно укореняющееся в нас с первых же шагов элементарного научного обучения, освобождает мысль от каких-либо исканий в этой области.

Зеленость развивающихся зародышей настоятельно требует от нас самого серьезного пересмотра представления об их гетеротрофном питании. Если все клетки зародыша зеленые, то возникает сомнение в его гетеротрофном питании, тем более, что убеждение в последнем установилось на основании уверенности, что он не зеленый. Внешний вид клеток, как и все развитие зеленого живого вещества, настолько характерен, что представление об автотрофном питании кажется вполне естественным и не вызывающим сомнений. Однако возникает вопрос, за счет какой углекислоты происходит это автотрофное питание? Зародыш развивается в условиях, исключаящих доступ углекислого газа извне. Он запрятан в зародышевом мешке, эпидермис покрова семяпочки устьиц не имеет; часто между семяпочкой и стенкой завязи полости нет. Стенка завязи почти всегда зеленая, т. е. имеет хорошо раз-

<sup>4</sup> Интересно привести работу З. П. Бочанцевой [6] по эмбриологии черного саксаула. На рис. 19, 20 и 21 этой работы в клетках зародыша изображены с предельной четкостью довольно крупные образования, расположенные по оболочке клеток и именуемые в описании одного рисунка (19-го) «пластидами»: «Зародыш нитевидный. Наполнен пластидами». В тексте и в выводах о них ничего не говорится.

Если бы З. П. Бочанцева посмотрела этот материал в живом состоянии, то, по всей вероятности, была бы поражена видом этих зародышей саксаула, ибо убедилась бы, что пресловутые пластиды являются не чем иным, как изумрудно зелеными хлоропластами.

Стоило бы посмотреть эти изумительные по красоте зародыши еще раз.

нитую хлорофиллоносную гкань, поглощающую на свету углекислоту окружающей среды. Таким образом, возможность доступа углекислого газа окружающей атмосферы к развивающемуся зародышу совершенно исключена в силу причин как анатомического, так и биологического порядка.

Поэтому представляется более чем вероятным, что фотосинтез зеленого зародыша может происходить только за счет углекислоты, возникающей в процессе дыхания клеток окружающих его бесцветных тканей [7].

Продумывая эти соображения глубже, нельзя не прийти еще к одному, не менее замечательному выводу, а именно, что зеленость развивающегося зародыша должна играть роль и в процессе его дыхания. Ибо все, что говорилось о невозможности проникновения углекислого газа окружающей атмосферы к развивающемуся зародышу, должно быть повторено и относительно кислорода, который также не может проникать к зародышу извне.

Следовательно, мы можем с полным основанием сказать, что жизнедеятельность зародыша, развивающегося в столь специфических биологических условиях, теснейшим образом связана с его зеленостью.

#### Развивающиеся цветки (бутоны)

У множества растений развивающиеся цветки или бутоны оказываются зелеными. Факт этот точно так же общезвестен, однако он не получил должного отражения и осознания в современной науке.

Зеленость развивающегося цветка оказалась как бы заслоненной яркой окраской его околоцветника во время цветения и частной функцией привлечения насекомых, приписываемой этой окраске.

В ботаниках обычно резко противопоставляются ярко и разнообразно окрашенные цветки энтомофильных, т. е. опыляемых насекомыми, растений, лишенным этой окраски цветкам анемофильных растений, т. е. опыляемых ветром. При этом добавляется, что цветки последних обладают мало заметной среди обычной листвы зеленой окраской. Однако совершенно упускается из виду, что подавляющее число энтомофильных цветков во время своего развития оказываются зелеными так же, как и цветки анемофильных растений. Таким образом, цветки на ранних стадиях развития у множества растений оказываются постоянно зелеными. Особенно это характерно по отношению к внешним частям цветка. Обычно в молодом бутоне снаружи мы видим зеленые чашелистики, остающиеся таковыми и во время цветения. Поэтому-то нам и кажется, что под этими защитными органами, являющимися лишь слабо метаморфизированными зелеными листьями, развиваются более нежные образования, значительно сильнее отличающиеся от обыкновенных листьев и «небывающие уже зелеными» — лепестки со специальной функцией привлечения насекомых. Однако достаточно разрезать молодой бутон, чтобы убедиться, что развивающиеся лепестки зеленые и не имеют той окраски, которой они будут обладать во время цветения. Еще ярче эти отношения выступают в цветках с простым венчиковидным околоцветником. Вначале он всегда зеленый и только перед цветением приобретает свою характерную окраску.

Итак, в этом отношении лепестки не отличаются от чашелистиков: вначале они всегда зеленые и только в дальнейшем утрачивают эту окраску и становятся у многих растений белоснежными или приобретают самые различные окраски, столь характерные для лепестков.

Еще более интересные отношения представляют внутренние, собственно говоря, генеративные части цветка. Из них на первое место в отношении зелени должно поставить завязь, которая оказывается зеленой и тогда, когда все прочие части цветка ко времени его распускания утрачивают свою прежнюю зеленую окраску. Завязь сохраняет ее во время цветения и усиливает во время последующего превращения в развивающийся плод. Она оказывается дольше всего зеленой по сравнению с прочими частями цветка, но в конце развития и она чаще всего утрачивает зеленую окраску.

Но что особенно необходимо подчеркнуть здесь, так это зеленость развивающихся пыльников, и прежде всего потому, что она полностью ускользнула от внимания исследователей. Это тем более удивительно, что пыльник является чрезвычайно частым объектом исследования, начиная с самых ранних стадий его развития. Пыльником пользуются при изучении, во-первых, редукционного деления и, во-вторых, ранних стадий развития мужского гаметофита. В этом, однако, и заключается причина столь странного, на первый взгляд, обстоятельства, что зеленость пыльника осталась незамеченной: видеть ее, конечно, видели при фиксировании, но не осознавали. Дело в том, что все внимание обычно направляется на редукционное деление или на развитие пыльцы, стенка же пыльника воспринимается при этом как стенка какого-то «вместилища» для разыгрывающихся в нем явлений, а потому ее и не замечают. Поскольку же зеленость пыльника связана с этой стенкой, она и ускользала от внимания исследователей.

Хлорофиллоносные клетки стенки пыльника представляют столь замечательный объект для изучения индивидуального развития зеленых, или автотрофных клеток, что будет не лишним остановиться на некоторых методических указаниях.

Особенно благодарными для исследования объектами являются злаки, на которых главным образом и проведены мои наблюдения. Пользовался я как культурными, так и дикими видами. В особенности же отмечу среди последних представителей с самыми мелкими колосками (например, рода *Poa*). Ввиду того, что наблюдения необходимо производить на цельных, неповрежденных пыльниках, мелкий размер последних является особенно ценным. Препарировать колоски следует очень осторожно, чтобы совершенно не мять нежные на этой стадии развития пыльники. Рассматривать их удобнее всего в слабых водных растворах сахара (2—4%) или в парафиновом масле. Пользоваться при этом можно даже иммерсионной системой. При микроскопическом исследовании таких пыльников нетрудно убедиться, что стенка их состоит из трех слоев клеток. Средний слой и представляет собой хлорофиллоносные клетки. Они отличаются плоской формой и покрыты сверху лишь одним слоем клеток эпидермиса. Это и создает особенно благоприятные условия для видимости многих тонких подробностей, неизвестных для других клеток.

На этих клетках можно легко проследить всю картину развития зеленого живого вещества, начиная с самых ранних моментов его появления и кончая его исчезновением. Оставляя задачу подробного цитологического описания для другой работы, я все же и здесь хочу дать хотя бы в общих чертах представление о сути этого процесса.

Зеленое живое вещество впервые появляется всегда вокруг ядра. Вначале оно имеет вид в значительной мере неоформленной зеленой массы, плотно прилегающей к поверхности ядра, почему контур послед-

него и не заметен в это время (рис. 8). Ни о каких индивидуализированных хлоропластах на этой стадии развития не может быть и речи. С течением времени масса зеленого живого вещества заметно увеличивается, причем оно оформляется в индивидуализированные хлоропласты. Одновременно исчезает и упомянутое выше его отношение к ядру: хлоропласты не проявляют теперь притяжения к ядру, контур

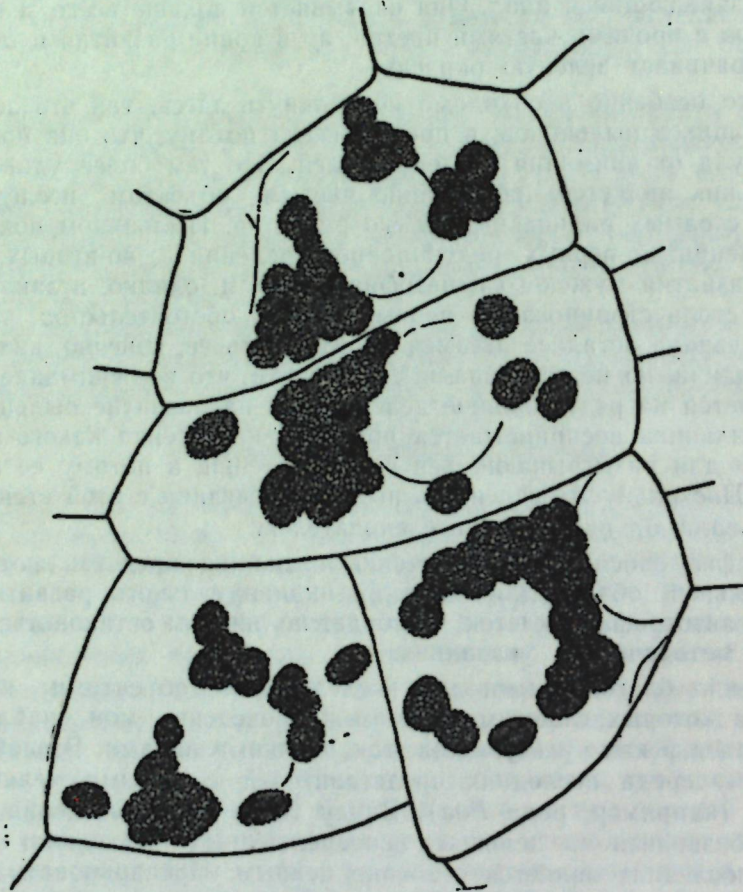


Рис. 8. *Dactylis glomerata* L. Хлорофиллоносные клетки стенки молодого пыльника (с живого). Апохром. 90×8 комп. ок.

которого становится хорошо заметным. Постепенно количество хлоропластов увеличивается, и через некоторое время вся клетка оказывается заполненной ими. Незеленым в клетке остается только пространство, занятое ядром. Цитоплазмы в клетке в это время немного, а именно, в виде тонких прослоек между хлоропластами (рис. 9).

Затем начинается прогрессивное уменьшение массы зеленого живого вещества. Хлоропласты располагаются по оболочкам (рис. 10). В некоторых случаях, как мне кажется, можно говорить и о притяжении между оболочкой и хлоропластами, которые как бы распластываются на оболочке. Далее идет все прогрессирующее уменьшение зеленого живого вещества, оканчивающееся полным или почти полным его исчезновением. Таков в самых общих чертах ход развития хлорофиллоносных клеток стенки пыльника.

Изложенный только что процесс усложняется для наблюдения одним обстоятельством, о котором кратко упомяну. Чрезвычайно харак-

терным для этих клеток является наличие огромных вакуолей. Часто можно видеть, что ядро находится как бы в вакуоле, будучи одетым лишь самым тонким слоем цитоплазмы. Хлоропласты, расположенные вокруг ядра и по оболочке, выдаются в вакуолю, будучи также одетыми тонким слоем цитоплазмы.

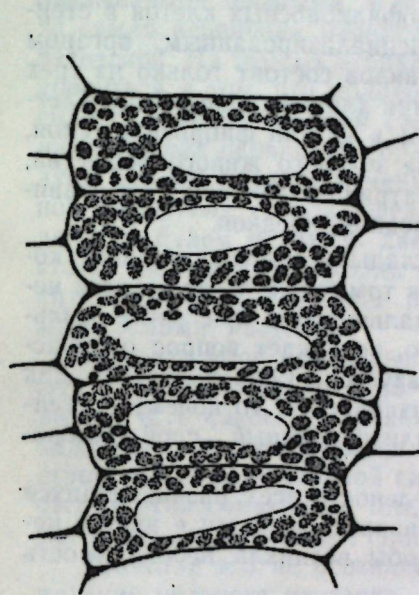


Рис. 9. *Agropyrum* sp. Хлорофиллоносные клетки стенки молодого пыльника (с живого).  $\frac{1}{12}$ Хрисов. ок. Лейтца

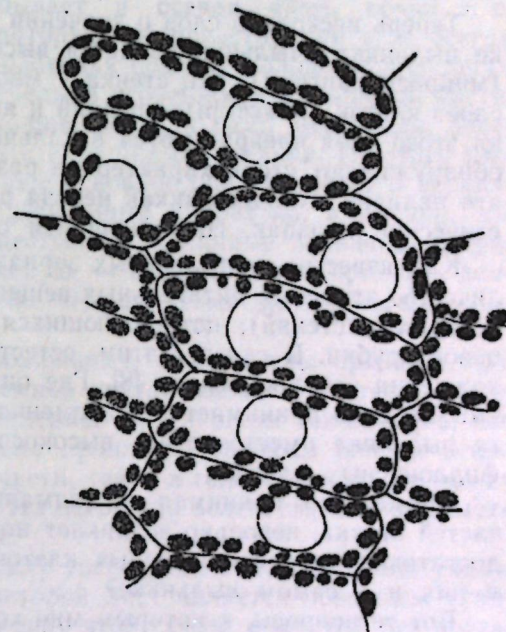


Рис. 10. *Allium* sp. Хлорофиллоносные клетки стенки молодого пыльника (с живого). Апохром. 90×Хрисов. ок. Лейтца

К довершению своеобразия этих клеток необходимо упомянуть о колоссальном размере ядер, как это можно видеть на рис. 11. Ядра эти производят вначале впечатление каких-то огромных своеобразных пузырей, только не пустых, а с необычайно тонкой и нежной сеточкой

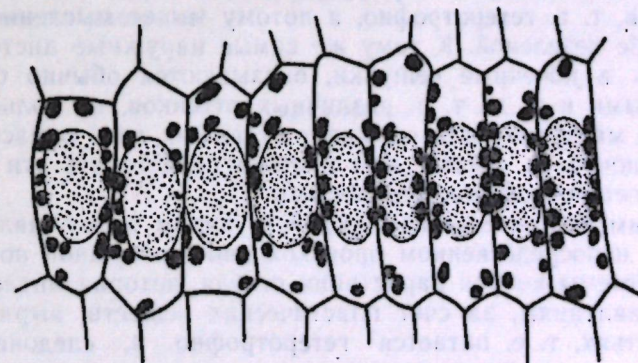


Рис. 11. *Agropyrum* sp. Хлорофиллоносные клетки стенки молодого пыльника (с живого). Апохром. 90×Хрисов. ок. Лейтца

внутри. Совершенно естественно, что при фиксации эти клетки претерпевают такое глубокое изменение, что от них почти ничего кроме оболочки не остается. Вот почему они и неизвестны на фиксированных препаратах.

Клетки эти столь своеобразны, что заслуживают подробного специального исследования.

Теперь несколько слов о значении хлорофиллоносных клеток в стенке пыльника. Пыльник является высокоспециализированным органом (микроспорангием). Его стенка у многих видов состоит только из трех слоев клеток, из которых средний и является хлорофиллоносным. Клетки этого слоя превращаются в дальнейшем в клетки фиброзного слоя, обнаруживают столь характерное развитие зеленого живого вещества, что наличие его здесь никак нельзя рассматривать как какой-то атактический признак, сохранившийся от древних предков.

Как известно, в пыльцевых зернах откладывается значительное количество запасных питательных веществ (в том числе и крахмала у некоторых растений), потребляющихся в дальнейшем при росте пыльцевой трубки. В связи с этим, естественно, возникает вопрос о происхождении этого крахмала [8]. Где он образуется? Если в листьях, как это уверенно принимается современной физиологией, то почему в стенке пыльника имеется столь высокоспециализированный слой хлорофиллоносных клеток?

Кроме того, принимая во внимание зеленость всех развивающихся частей цветка, невольно возникает новый вопрос: неужели в цветке недостаточно хлорофиллоносных клеток, чтобы возникла необходимость в них и в самом пыльнике?

Вот те вопросы, к которым мне хотелось бы привлечь внимание читателя.

#### Развивающиеся почки

Наконец, мы должны остановиться еще на одних образованиях, зеленость которых также не осознана современной наукой. Речь идет о пазушных почках в первую очередь древесных и кустарниковых растений. В пазухе листа всегда развивается почка, что является одной из основных закономерностей общего характера. Почка эта обычно развивается весьма рано в пазухе молодого еще листа. По существующим представлениям она должна развиваться за счет запасных органических веществ, т. е. гетеротрофно, а потому мы ее мысленно и представляем себе незеленой. К тому же самые наружные листочки почки, превращаясь в почечные чешуйки, оказываются обычно серыми, бурыми, желтыми и т. д., т. е. различных оттенков, но только не зелеными, а это маскирует или скрывает от наших глаз окраску внутренних частей почки. А потому нам и легко представить эти внутренние части, как гетеротрофные, незелеными.

Еще одним обстоятельством, содействующим этому, является представление о непосредственном происхождении пазушной почки из первичной меристемы конуса нарастания стебля, которая питается, по нашим представлениям, за счет пластических веществ, выработанных в зеленых листьях, т. е. питается гетеротрофно и, следовательно, не должна быть зеленой.

Разрешить все эти сомнения не трудно. Для этого необходимо посмотреть, во-первых, какой вид имеют пазушные почки, начиная с самых ранних моментов их заложения, а во-вторых, посмотреть, какой

вид имеют внутренние части вполне развитой пазушной почки в различные моменты ее существования — осенью, зимой и весной. Пазушные почки с самых первых моментов их развития оказываются все время зелеными. Если же разрежем вполне развитую пазушную почку, то под наружными незелеными чешуями мы найдем более или менее ярко-зеленые внутренние части — молодые листочки. Не только они оказываются зелеными, зеленой бывает и осевая часть почки, т. е. та самая первичная меристема, которую мы представляем себе всегда незеленой. На первых этапах прорастания почки в молодой побег легко убедиться в том, что молодой стебель, в особенности в концевой части, сплошь зеленый во всей своей толще: зеленая сама меристема, зеленая будущая первичная кора, как и будущая сердцевина. Из этого следует, что мы должны изменить наше основное представление о первичной меристеме стебля, введя существенный корректив, а именно: мы должны будем признать две существенно различные первичные меристемы: незеленую — корня и зеленую — стебля, иначе, признать значительно более глубоким различие между этими двумя первичными меристемами растения.

Подводя итог всему вышесказанному, мы должны признать, что зеленость всех образований надземной листостебельной системы растения не есть какое-то случайное явление. Уж слишком закономерно вся надземная листостебельная система пронизана зеленым живым веществом как в вегетативной своей части, так и в генеративной. Не может быть и тени сомнения в том, что эта всеобщая зеленость должна иметь глубокое биологическое значение.

Значение это не осознано в силу господства «классической» схемы питания зеленого растения, по которой лист является основным (универсальным) органом питания. В силу этой схемы, принятой без достаточных оснований, сделалось ходячей истиной, что запасные питательные вещества, откладывающиеся в тех или иных образованиях надземной листостебельной системы (в стеблях, плодах, семенах, зародышах и т. д.), образовались обязательно в листьях и оттуда лишь переместились (в растворимой форме) в места отложения.

Все эти старые и новые факты настойчиво требуют от нас самого серьезного и глубоко критического пересмотра наших основных представлений о питании зеленого растения.

Уже и сейчас можно наметить в самых общих чертах, что фотосинтез перестает быть частной физиологической функцией питания, приуроченной к зеленому листу, а перерастает в существеннейший момент развития всего растения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Про підсумки роботи сесії ВАСГНІЛ і про завдання дальшого розвитку мичуринської агробіології на Україні (стенографічний звіт). Київ, 1948.
2. Про тех, хто дивгаєт вперед и кто тормозит мичуринскую науку. «Правда України», 13.1 1949.
3. Викторов С. «Успехи современной биологии», т. XIV, вып. 3, 1941.
4. Гоголь-Яновский Г. И. Руководство по виноградарству. Сельхозгиз, 1932.
5. Александров В. Г. Анатомия растений. Изд. 3-е. Сельхозгиз, 1954.
6. Бочанцева З. П. «Ботанический журнал СССР», т. XXIV, вып. 1, 1944.
7. Чернояров М. В. О зелености развивающихся зародышей. «Известия АН Арм. ССР», т. V, № 7, 1952.
8. Чернояров М. В. О хлорофиллоносных клетках развивающихся пыльников цветковых растений. «Известия АН Арм. ССР», т. V, № 6, 1952.
9. Талиев В. И. Определитель высших растений Европейской части СССР. Огиз—Сельхозгиз, 1941.
10. Поддубная-Арнольди В. А. Исследование зародышей у покрытосеменных растений in vivo. «Бюллетень Главного ботанического сада», № 14, 1952.
11. Иоффе М. Д. О наличии хлорофилла в эндосперме крестоцветных. «Доклады АН СССР», т. 82, № 3, 1952.
12. Иоффе М. Д. Развитие зародыша и эндосперма у пшеницы, конских бобов и редиса. «Труды Ботанического института им. В. Л. Комарова АН СССР», вып. 4, 1957.

М. В. ЧЕРНОЯРОВ

## ДЕСПРЕ СИСТЕМУЛ ВЕРДЕ ЫН ФРУНЗЕЛЕ ШИ ТУЛПИНИЛЕ ПЛАНТЕЛОР

### Резумат

Лукраря де фацэ е консакратэ лэмуририй ынсемнэтэций клоропластиделор, каре сынт рэспындите пе ларг суб коажа плантелор лемноасе ши ын органеле женеративе але плантелор ербоасе.

Черчетынд ун нумэр маре де планте че репрезичтэ май мулт де 30 де фамилий, ауторул аратэ, кэ ын декурсул ерний суб коажа тулпиний лемноасе се пэстрязэ ун страт моночелулар актив плин де кло-ропластиде, каре ынфэптуетск фотосинтеза; ын тимпул ерний ла ачесте планте реженерация амидонулуй ын примеле лунь але примэверий, дела ынчепутул луний мартие ши пынэ ла сфыршитул луний априлие, ну есте реженерация проприу зисэ а амидонулуй деакум синтетизат, чи димпотривэ ел се формязэ дин ноу даторитэ цесутулуй клоропластик ал тулпиний.

О деосебитэ атенцие се дэ челузелор пуртэтоаре де кло-ропластиде, каре се гэсеск ын органеле де репродукчере ка: мугурь, флорь, сачь ембрионарь, ын фруктеле круде ш. а. Ауторул акордэ о маре ынсемнэтате биоложикэ презенцей ши функцией клоропластиделор ын органеле плантелор черчетате, релевынд ролул аутосинтезей амидонулуй ын креаря ши формаря системулуй репродуктив ал плантелор. Ын легэтурэ ку челе де май сус реесе, кэ прочесул де фотосинтезэ требуе ынцелес ка ун компонент принчипал ын креаря ши дезволтаря плантелор. Реесе де асеменя, кэ фотосинтеза, проприу зис, ну ындеплинеште нумай функция физиоложикэ де хрэнире, чи есте ун момент есенциал ын дезволтаря плантелор верзь.

С. М. КОЛЕСНИКОВ, В. В. КРЫЛОВА

## НЕКОТОРЫЕ ИТОГИ ДАЛЬНЕЙШЕГО ОСВОЕНИЯ МЕТОДИКИ ЦИТОЭМБРИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ РАСТЕНИЙ

### Введение

Потребность в значительном повышении урожайности ведущих зерновых и технических культур побуждает биологов различных специальностей резко расширять и углублять теоретические исследования, направляя их на изучение ведущих закономерностей роста и развития растений. В этой связи особенно важное значение приобретает знание интимных сторон процессов оплодотворения и формирования зерна, чем и занимаются такие самостоятельные отрасли биологии, как эмбриология и цитология растений.

В цитоэмбриологии растений используется своя особая довольно самобытная методика исследования, начало которой было положено еще первыми микроскопистами. Впоследствии детали цитоэмбриологической техники уточнялись и совершенствовались: были предложены новые методы фиксации объектов и окраски препаратов, а усовершенствование оптических данных микроскопа открыло новые возможности в самом процессе изучения объектов и препаратов. Описания отдельных деталей по приготовлению, способам окраски и расшифровке препаратов, собранные воедино, обычно представляют собой многотомные монографии. Из них следует назвать фундаментальные руководства Р. Краузе [50], Д. Иогансена [54], Б. Ромейса [40], Г. И. Роскина [41], М. С. Навашина [27], Н. А. Наумова [30], Э. Пирса [36], Д. Глика [11], С. Мак-Клунга [52] и других [12, 38, 44, 46, 48].

Однако поиски новых методов исследования и новых технических приемов по приготовлению цитоэмбриологических препаратов не прекращаются, особенно в наше время. Последнее обстоятельство объясняется новым плодотворным вторжением химии и физики во все разделы биологии. Применение новой методики исследования или хотя бы нового действительно оригинального технического приема обычно помогает видеть и расшифровать то, что раньше было невидимым и неизвестным. Это положение хорошо понимал И. П. Павлов. Он писал: «...Наука движется толчками в зависимости от успехов, делаемых методикой»<sup>1</sup>.

В цитоэмбриологии издавна применяются два пути исследования: на препаратах, приготовленных из быстро убитых, фиксированных объектов (исследования in vitro), и исследования объектов в живом, не измененном состоянии (in vivo). На заре развития биологии, прижизненные исследования объектов были главными методами исследова-

<sup>1</sup> Лекции по работе главных пищеварительных желез. Изд. 3-е. М., 1924, стр. 196.



ния. Значительно позже, в связи с известными достижениями физики (оптики) и особенно химии искусственных, в частности анилиновых красителей, бурное развитие получили самые разнообразные методы исследования через фиксацию и окраску подопытного материала. Исследования методами прижизненных наблюдений постепенно сокращались и впоследствии почти полностью были заброшены. Этому в значительной мере способствовали также специфические свойства живой клетки, особенно ее оптическая прозрачность. Однако биологам всех времен всегда было очевидно неоспоримое преимущество исследований на живых организмах, по сравнению с методами исследования на фиксированных объектах.

Интересно то, что новые возможности, открываемые последними достижениями оптической физики и химии, значительно расширяют границы исследований не только на умерщвленных препаратах (электронная микроскопия, гистохимия), но, что особенно отрадно, биологи вооружаются методами, позволяющими исследовать объекты, не нарушая или почти не нарушая их жизненных функций. Здесь можно назвать методы ультрафиолетовой [5, 6, 20], люминесцентной и интерференционной микроскопии [3, 10, 25], использования спектрофотометров [1, 4], фазово-контрастных приспособлений [4], замораживания—высушивания [38], микрокиносъемки [49], новых приемов освещения [31] и другие [14, 23, 24, 32, 45].

Следует указать, далее, что высказанные в последние годы принципиально новые положения в цитозембриологии растений и животных, как правило, сделаны биологами, умело сочетающими методы исследования на живом с изучением тех же объектов на постоянных, умерщвленных препаратах. Исследования на живом в широких масштабах проводятся О. Б. Лепешинской и ее школой [22], К. Ю. Кострюковой [17, 18, 19], П. С. Ревуцкой [39], В. А. Поддубной-Арнольди [33, 34, 35] и др. Из зарубежных исследователей следует назвать А. Байера [2], В. Мырзу [51], Б. Менкеса [53] и др.

Поэтому нам всегда казалась ненужной та излишняя поспешность, с которой сторонники применения метода на живом материале, выгораживая свой метод, второпях, с порога отбрасывали все методы изучения фиксированных, убитых объектов. В действительности же результаты их работы говорили не о чем ином, как о благотворности разумного сочетания метода изучения постоянных препаратов с проверкой, насколько это возможно, полученных выводов на живых объектах.

Но нам совершенно непонятно последнее выступление М. С. Навашина и Е. Н. Герасимовой-Навашиной [28] с открытым провозглашением неких «принципиальных», а не технических только, ограничений методов исследования живого, и странными утверждениями, как они пишут, «...об абсолютной бесплодности этого метода и в прошлом, и в будущем». Свое недоверие относительно метода исследования на живых объектах авторы подкрепляют сомнительной ценности рассуждениями о наивности общепринятых положений «изучать процессы в их движении» (?), о далеком от «абсолютной правильности» желании наивных исследователей «наблюдать сам процесс» и т. д. По-видимому, их выступления следует считать типичным выражением той крайности взглядов в ряде разделов современной биологии, которая безусловно мешает ее нормальному прогрессу.

Важно еще раз подчеркнуть, что абсолютное большинство биологов осознает, что истина лежит в разумном сочетании разных методов

исследования, а некоторое предпочтение одному методу по сравнению с другими в разное время диктуется не столько субъективными качествами исследователей, а скорее спецификой объекта и целей исследований, а также конкретными возможностями той или иной лаборатории.

В наших исследованиях изучались главным образом на кукурузе и бобовых растениях процессы, связанные с формированием органов генеративной сферы, процессы оплодотворения и следующего вслед за этим образования семян. При этом основным методом изучения является умерщвление (фиксация) материала и приготовление из него постоянных препаратов. В небольшом размере делаются ежегодные попытки изучения некоторых деталей развития пыльцы и семянчиков на живых растениях. В ближайшем будущем предполагаются исследования с применением метода на живом материале резко расширить.

Цитологическое изучение кукурузы по сравнению с другими растениями даже семейства злаковых связано с такими особенностями ее морфологии и биологии развития, которые в конечном счете ставят исследователя перед необходимостью массового, а не единичного изготовления постоянных препаратов. Здесь можно напомнить о сравнительно больших размерах семянчиков кукурузы, в нижнем углу которых в момент оплодотворения и находятся миниатюрные зародышевые мешки, являющиеся объектом исследования; о длительном разрыве между попаданием пыльцы на рыльце и проникновением пыльцевой трубки в полость зародышевого мешка, разрыве, исчисляемом вместо нескольких минут почти сутками. Не следует также забывать и о том, что нить столбика с лопастями у кукурузы, как известно, достигает нескольких десятков сантиметров.

Следовательно, для темпорального изучения процессов эмбриогенеза кукурузы необходимо длительное время фиксировать и резать на микротоме довольно объемистые образования семянчиков и нитей, что требует изготовления десятков и сотен постоянных препаратов вместо единичных препаратов для тех же целей, например, у дикорастущих лилейных. Правда, несмотря на трудоемкость, связанную со спецификой работы с кукурузой, мы черпаем глубокое удовлетворение в том, что наш объект изучения имеет огромное народнохозяйственное значение.

Потребность в массовом изготовлении препаратов заставляет нас искать новые пути ускорения процесса приготовления постоянных препаратов, систематически совершенствовать и изменять некоторые детали и отдельные технические приемы этого в общем громоздкого процесса. При этом модернизации и изменению в разной степени были подвергнуты все звенья работы, начиная от подготовки растений к фиксации, самой фиксации, проводки и резки объекта и кончая процессом окраски срезов.

Первые результаты наших начинаний в области освоения методики цитозембриологических исследований были изложены раньше в отдельной статье [16]. Но работа по усовершенствованию методики исследований продолжалась. Много внимания уделяем мы ей и сейчас. В данной статье подведен итог наших дальнейших более чем пятилетних усилий по усовершенствованию отдельных звеньев и деталей сложного и, повторяем, громоздкого в целом процесса изготовления в больших ко-

личествах качественных постоянных цитоэмбриологических препаратов. Изложение результатов этой работы целесообразно сделать по отдельным разделам.

### Выращивание и фиксация подопытных растений

Здесь прежде всего следует указать на широко используемые нами разные сроки посева. Так, кукурузу мы ежегодно высеем в предельно ранние для Молдавии сроки — в первой, иногда во второй декаде апреля. Затем проводим оптимальные для данного года сроки посева, что обычно бывает в конце апреля, иногда — в первых числах мая. Затем через каждые 15—20 дней посев кукурузы повторяем. Последние сроки посева приходятся на конец августа.

Многие сроки посева обеспечивают закладку различных опытов всегда на здоровых полноценных растениях, на их центральных, а не на вторых початках и подгонах. В течение двух-трех месяцев у нас в условиях опытного поля всегда имеется свежая жизнеспособная пыльца, что гарантирует повторение вариантов наиболее интересных опытов или же вариантов, по какой-либо причине в начале сезона неудачно взятых или потерянных.

Особенно ценным накопителем пыльцы служат растения разных сроков посева кукурузы сорта Чинквантино. Это связано с хорошо выраженной особенностью этого сорта образовывать многочисленные подгоны и хорошо развитые мощные метелки, на которых в наших условиях общее число пыльцевых зерен намного превышает число пыльников у всех известных нам сортов.

Положительную, можно сказать, организующую роль в нашей работе играет заблаговременное составление таблиц фиксации по каждому опыту отдельно, с точным указанием не только варианта и его характеристики, но и с отметкой «адреса» подопытного растения на делянке. Строго продуманная очередность закладки отдельных опытов при хорошо спланированной организации полевых исследований не только облегчает труд, но и позволяет зафиксировать намного больше объектов, чем обычно намечается вначале.

Для отыскания растения того или иного варианта опыта, как мы уже указывали, в таблице фиксации против каждого варианта имеется графа с указанием «адреса» подопытных растений. Здесь отмечается номер полевой делянки, рядок и номер гнезда в рядке. Кроме того, для еще более четкой и быстрой ориентации среди полевых делянок и растений в последние два года мы пользуемся несколько увеличенного размера этикетками (на них указывается номер варианта и номер растения) разной формы и цвета. Растения всех вариантов одного опыта имеют этикетки округлые, другого опыта — четырехугольные, красный цвет этикеток характеризует первые варианты всех опытов, белый — вторые и т. д. Такие условные обозначения позволяют безошибочно ориентироваться на полевых делянках и среди множества подопытных растений быстро отыскать то растение, фиксация которого намечается в данные часы и минуты. Все отмеченное выше намного облегчает и улучшает точность плотной, учащенной темпоральной фиксации, обычно проводимой по нескольким опытам одновременно.

В подготовку к сезону фиксации включается также заблаговременное изготовление нескольких тысяч стандартных изоляторов для метелок и початков обычно из пергаментной, полупергаментной и целлофановой бумаги. Края изоляторов при изготовлении склеиваются столлярным клеем, в который добавляется хромпик, что делает клей устой-

чивым к воде. Изоляторы, склеенные таким способом, надежны при любой влажной погоде.

При изоляции метелок нижняя часть надетого на нее изолятора, вместо того чтобы завязываться шпагатом, как это обычно принято, зажимается скрепкой или бельевой прищепкой. Изоляторы на початках также не завязываются шпагатом, а зажимаются узкими резиновыми кольцами, нарезанными из обычной велосипедной камеры. Особое преимущество такого способа зажима изоляторов в том, что отпадает необходимость несколько раз поправлять, ослаблять шпагат у ранее надетых изоляторов на соцветиях и початках.

Следует указать еще на одно нововведение, которое применяется нами в процессе опыления кукурузы. Мы имеем в виду применение так называемого «кишиневского способа самоопыления кукурузы» [15], разработанного А. Е. Коварским и М. И. Боровским. Дело в том, что большинство изучаемых нами способов и типов опыления, а также многие варианты опытов, касающиеся вопросов гетерозиса кукурузы, в той или иной мере связаны с применением самоопыления.

Эффективность нового, кишиневского способа самоопыления теперь общеизвестна, и он получил широкое признание и распространение. При определенном навыке техническое выполнение сравнительно простых операций, связанных с изготовлением изоляторов-рукавов, перегибанием метелки и завязыванием обоих концов изоляторов, не представляет особых трудностей.

В числе подготовительных мероприятий, также выполняемых заблаговременно в лаборатории для экономии времени в поле, можно указать на приготовление больших количеств отдельных растворов, составляющих фиксатор (уксусная кислота, формалин и бихромат калия), порций хромового ангидрида (по 5, 10 и 20 г в пробирки или в пузырьки из-под пенициллина) и, наконец, заготовка достаточно большого количества этикеток.

Порядковый номер, обозначенный на таких этикетках, является по существу единственной связующей нитью между фиксированным объектом и полевой записью в ведомости или таблице. Названные этикетки режутся предельно малых размеров (5×15 мм) из плотной белой линолиновой бумаги. Черным, твердым (типа ТМ и Т) карандашом на этикетках обозначают порядковые номера и раскладывают их маленькими пачками по десятку, скрепляя каждую пачку нитками или тонкими резиновыми кольцами. Из десяти маленьких пачек складывают большой пакетик, содержащий сто этикеток, готовых по мере необходимости для использования в поле.

Одним из важных мероприятий методологического характера в нашей работе является фиксация одного и того же початка не один раз, а многократно. К возможности многократного использования одного и того же початка мы пришли не сразу. Необходимо было проверить и изучить последствия травмирования початка, что и было сделано в течение последних трех лет. Убедившись, что удаление верхней части молодого початка не оказывает заметно вредного влияния на нижележащие семяпочки, мы в некоторых вариантах опытов вынуждены были перейти на многократную фиксацию одного и того же початка. Нет нужды описывать те общие предосторожности, которые соблюдаются при многократном фиксировании центральной части початка.

Подготовка початка для фиксации обычно включает в себя две операции: вначале, дня за два до выбрасывания нитей, на початок наде-

вается пергаментный, а еще лучше целлофановый изолятор; через 1—2 дня на появившиеся под изолятором нити-столбики наносится та или иная пыльца, что зависит, понятно, от намеченного рабочей программой варианта опыления. К изолированному и опыленному початку привязывается той или иной формы и окраски этикетка, и початок готов для многократной фиксации.

При первой фиксации обычно треть верхней части початка срезается и выбрасывается как не типичная, явно отстающая в развитии. В дальнейшем каждый раз фиксируется только небольшой сектор (сегмент) початка, содержащий 20—30 семян, не считая самых верхних, граничащих с местом верхнего, прошлого среза. Эти пограничные верхние семяпочки осторожно выскабливаются пинцетом (шпателем) и не фиксируются. Их выбрасывают для того, чтобы избавиться от материала, на котором, возможно, сказались влияние предыдущего травмирования.

Последним в этом разделе по счету, но, конечно, не по значению, мероприятием следует назвать применение марлевых узелков. В последние годы мы отказались от применения для фиксации стеклянных пробирок, разного рода пузырьков и стеклянных цилиндров. Работа с ними подробно описана в нашем первом сообщении [16]. Фиксацию каждого варианта опыта (это обычно 10—20, а при необходимости и больше семян) мы проводили в маленьком кусочке марли, в который помещали фиксируемый объект (один или несколько), и связывали его в виде узелка.

Фиксация в пробирках громоздка, требовалось много подставок и пробирок. Но, пожалуй, самое большое неудобство пробирочной фиксации — это неоправданное расточение времени на сливание и вливание растворов в процессе обезвоживания и парафинирования объектов. При этом в итоге обычно выяснялось, что, как бы внимательно ни производилась замена спиртов, одни объекты были обезвожены и в конечном счете запапарафинированы лучше, другие — хуже.

От всех этих и многих других, не упомянутых здесь, недостатков свободен способ фиксации в марлевых узелках.

Применение марли многие исследователи пытались организовать и раньше. Однако у марлевых узелков был один, казалось бы, неустранимый недостаток. В процессе замены жидкостей на поверхности марлевой ткани скоплялась масса мелких пузырьков воздуха, безусловно мешавших нормальному проникновению фиксатора и других жидкостей в глубь ткани. Вытеснение этого и внутритканевого воздуха, мешающего быстрому проникновению фиксатора в глубь объекта, всегда занимало умы эмбриологов.

Как мы уже отмечали раньше, эффективным в этом случае считалось, собственно, два способа:

1. Предварительное обмакивание объекта в слабые растворы спирта, как бы пробивающего дорогу в глубь ткани идущему вслед за ним фиксатору.

2. Применение шприца типа «Рекорд» как орудия инфильтрации. В этом случае воздух межклеточников довольно хорошо, но далеко не полностью, собирался в разрежающей камере шприца, и в конце процедуры на место пузырьков воздуха в ткань устремлялась фиксирующая жидкость [16, стр. 140].

На первых порах работы, когда фиксация объектов проводилась в пробирках и стеклянных трубках, мы с переменным успехом применяли оба способа вытеснения пузырьков воздуха. С переходом на фиксацию в марлевые узелки место шприца «Рекорд» занял ручной насос

Комовского, впервые испытанный нами для этих целей еще в 1956 г. на кафедре агрохимии Кишиневского сельскохозяйственного института. Еще лучшие результаты, но уже не в условиях поля, а в лаборатории показывает электрический насос системы РВН-20. Удаление воздуха как с межклеточников, так и с поверхности марлевой ткани теперь поддавалось регулировке, пропитывание объекта жидкостью стало повсеместным и в результате этого последующие операции по обезвоживанию и парафинированию — более качественными.

Удобной для работы посудой нам служили колбы Бунзена разных размеров, лучше с двумя отверстиями: нижним и верхним. Такую колбу наполняли на  $\frac{1}{4}$  свежеприготовленным фиксатором, в котором было заключено 20—30 номеров (марлевых узелков с объектами), соединяли ее в поле шлангом с насосом Комовского или РВН-20 и начинали медленное удаление воздуха.

По мере разрежения верхней части пространства сюда устремлялись сначала крупные, а затем мелкие пузырьки воздуха, отрывающиеся от марли и объектов. Через несколько минут фиксационная жидкость буквально «кипит». В это время важно не спешить, лучше помедлить, остановив выкачивание, и, слегка встряхивая колбу, дать возможность узелкам погрузиться в фиксатор. Затем разрежение медленно увеличить и встряхивание повторить. И так несколько раз, продолжая процесс разрежения до тех пор, пока узелки свободно не погрузятся в фиксатор, а появление пузырьков воздуха почти прекратится.

Через некоторое время резиновый шланг насоса снимается с носика колбы, но бурно устремляющуюся сюда струю наружного воздуха стараются прервать, и воздух пускают внутрь колбы, в объекты, по возможности мелкими порциями. Для уверенности в удалении всех пузырьков воздуха из объекта мы обычно не ограничивались насосом Комовского. Материал, обработанный в поле насосом Комовского, в условиях лаборатории добавочно подвергался воздействию электрического насоса.

Метод принудительной инфильтрации фиксирующей жидкости в растительные объекты оказался настолько эффективным, что при строгом соблюдении всех предосторожностей в работе нам без труда удавалось фиксировать, а затем и парафинировать не только отдельные семяпочки и мелкие части початка с несколькими семяпочками, но и целые сегменты початка в возрасте 10—15 дней после опыления со стержнем диаметром в 1,5—2 см. С початков такого размера нам никогда раньше не удавалось приготовить качественных парафиновых срезов. Обильное количество воздуха в сердцевине початка мешало полному проникновению туда фиксатора, а затем парафина и делало его по сути непригодным для приготовления препаратов и изучения.

Интересно напомнить, что первым, кто успешно применял принудительную инфильтрацию фиксатора в объект, был С. Г. Навашин [29], не раз указывавший на недоброкачественность материала, полученного способом свободного, слишком замедленного проникновения фиксирующих жидкостей. Четкие картины сперматогенеза он получил на срезах тех объектов, которые фиксировал принудительной инфильтрацией, «впрыскивая в отрезанный столбик жидкость Флемминга через срезанный конец столбика при помощи маленького шприца» (стр. 249). Препараты, полученные из материала, в который вынужденно вводилась фиксирующая жидкость, оказались превосходными, в них сохранялись даже тончайшие подробности митотических фигур.

Вначале у нас было опасение, что резкое удаление воздуха из объектов насосом Комовского может основательно повредить внутренности семяпочки и, возможно, зародышевого мешка. Действительно, на единичных препаратах имели место разрывы тканей, сделанные бурными продвижениями или воздуха, или фиксирующей жидкости, быстро занимавшей его место. Но эти разрывы замечены только в сердцевине початка, вблизи сосудисто-волокнистых пучков. Ни одного разрыва тканей в районе семяпочки и внутри ее нам наблюдать не приходилось.

Заканчивая этот раздел, следует напомнить, что все процедуры по фиксации материала выполняются непосредственно на участке, засеянном кукурузой. Мерным стаканом каждый раз готовят порции фиксатора, достаточные для размещения здесь 4—6—10 узелков. Следующие 4—6—10 узелков фиксируются в свежеприготовленной порции фиксатора. Когда число узелков превышает 30—40, их переносят в уже упомянутую колбу Бунзена, заливают свежим фиксатором и приступают к процедуре выкачивания воздуха.

Каждый узелок перед помещением в фиксиционную жидкость обмакивают на 20—30 секунд в 80°-ный спирт. Приготовление всех составных частей (растворов), составляющих фиксатор, и растворов спиртов проводится только на дистиллированной воде, которая, согласно данным некоторых микроскопистов, быстрее и глубже проникает в толстые объекты, чем вода жесткая, водопроводная.

#### Обезвоживание и парафинирование объектов

Что касается фиксирующих жидкостей, то, как известно, их предложено много, но немногие из них пригодны для работы с эмбриологическими объектами ввиду крупных размеров последних. В прошлом году нами проведен опыт с 12 разными фиксиционными смесями, в том числе включающими осмиевую кислоту и спирт. Один и тот же объект одновременно фиксировался во всех фиксаторах. По предварительным наблюдениям все объекты довольно хорошо пропитались и никаких резко ощутимых отличий между ними даже в тонкостях отдельных структур клеток на однотипно окрашенных препаратах заметить не удалось.

Подобного рода выравнивание в действии разных фиксаторов мы относим за счет значительного улучшения в проникновении фиксирующей жидкости при разрежении. Правда, говоря о нивелировке в результатах работы с разными фиксаторами, мы не говорим о спиртовом фиксаторе, дающем во всех условиях заметное сморщивание и заметное уплотнение объекта.

Из многих фиксиционных жидкостей мы остановились на хром-формол-уксусном фиксаторе, предложенном С. Г. Навашиным. Для нас наряду с другими положительными особенностями важно и то, что заготовленные в этом фиксаторе объекты можно было без ущерба для качества оставлять в нем более суток. В самый напряженный период работы (фиксации в период массового цветения кукурузы) иногда мы были вынуждены оставлять материал в фиксаторе на несколько суток и больше.

Фиксатор Навашина является, как уже указывалось, универсальным, пригодным для фиксации объектов на всех стадиях развития початка. Однако для фиксации початков в поздних стадиях эмбриогенеза (после оплодотворения) мы, по совету киевских эмбриологов, обыч-

но применяли другую фиксиционную жидкость — фиксатор Модилевского [26].

После фиксации объектов (обязательно с применением разрежения) колбу с материалом оставляли в лаборатории в тени или даже в темном шкафу до следующего дня (обычно на сутки).

На следующий день материал поступал на промывку под водопроводный кран. Процесс промывки обычно заканчивали утром следующего дня, т. е. через 10—12 часов. Этого времени даже при слабом напоре воды в кране было достаточно для полного вымывания из объекта фиксатора и продуктов его взаимодействия с плазмой. Плохую, недостаточную промывку без труда можно обнаружить по зеленой окраске первого спирта (20°-ного) и при необходимости возвратит всю партию на добавочную промывку.

Как и во всех других цитозембриологических лабораториях, вода для промывки объектов подавалась из крана с помощью резинового шланга снизу через нижнее отверстие колбы Бунзена или путем введения шланга на дно колбы. Как бы то ни было, вместе с водой в колбу подается довольно много воздуха в виде крупных и мелких пузырьков, которые довольно быстро конденсируются на поверхности объектов и марлевых узелках и безусловно препятствуют нормальному выносу фиксатора и его производных из объекта. Чтобы избавиться от пузырьков воздуха, с которыми мы с таким трудом перед этим боролись, пришлось прибегнуть к отстойникам. Вода из крана вначале попадала в большой кристаллизатор, здесь она «отстаивалась», т. е. теряла пузырьки воздуха и только после этого через шланг меньшего диаметра уже самотеком попадала в колбу с промываемыми объектами. И отстойник и колба находятся рядом в раковине с хорошо действующим водоотливом.

Вслед за промывкой объектов — это обычно было на следующее утро — приступали к их обезвоживанию, т. е. материал пропускали через последовательно возрастающие концентрации спиртов. Концентрации спиртов общепринятые: 20, 40, 60, 80, 96 I, 96°-ный II. Проводка материала через спирты, и все последующие операции, как и фиксация, осуществлялась в колбе Бунзена. Через нижнее отверстие колбы равномерно сливали раствор низкой концентрации, а в колбу добавляли раствор высшей концентрации. Например, взамен 40°-ного спирта заливали 60°-ный спирт. В первом спирте (20°-ном), как уже отмечалось, делали очередное разрежение в колбе. По степени загрязнения спирта фиксатором контролировали качество промывки. Первый (20°-ный) спирт обычно использовали два, редко — три раза. После этого его заменяли на новый. Спирты последующих возрастающих концентраций мы использовали пять, редко семь-восемь раз. Но после трех-четырёхкратной промывки кроме спирта 96°-ного I и 96°-ного II добавляли еще одну фракцию — спирт 96°-ный III.

Нетрудно заметить, что мы не применяем абсолютного спирта, что сделано не столько из-за технических и экономических соображений, — хотя это тоже мотивы, далеко не второстепенные, — сколько связано с причинами методологического порядка, а именно: с целью избежать пагубного действия абсолютного спирта, сильно уплотняющего объекты и затрудняющего всю последующую работу по микромиранию их. Взамен абсолютного спирта в очередные три раствора спирта с толуолом, по рецепту известного эмбриолога И. О. Романова, добавляли 1—2% фенола, нейтрализующего действие неболь-

шого количества воды, остающейся в объектах после 96°-ного спирта [27].

Начиная с прошлого года нами в небольших количествах применяется также метилбензоат. Результаты его действия оказались положительными.

В каждом растворе объект выдерживается 12—24 часа. Исключение составляет иногда раствор первого 20°-ного спирта, где материал приходится, правда редко, задерживать меньше 12 часов, и спирт 80°-ный, в котором по ходу работы объекты оставляются на несколько суток и даже несколько месяцев.

Так же как сильное загрязнение первого (20°-ного) спирта говорило о недостаточно полной промывке объектов и проводку материала приходилось задерживать, возвращая ее назад, так и переход с последнего спирта (96°-ного II или III) на толуол служил наглядным контролем за качеством, но уже не промывки, а обезвоживания. Здесь контролем качества служила степень помутнения первого толуольного раствора (25°-ного). При плохом обезвоживании помутнение раствора (приобретавшего молочный цвет) бывало сильно выраженным, и проводку вновь надо было задерживать, возвращая объекты в спиртовые растворы. Правда, с применением метилбензоата случаи неполного обезвоживания объектов полностью исчезли, и в течение обезвоживания и замены спирта на толуол никаких задержек не получалось.

После выдержки материала в 80°-ном спирте он проводился через 96°-ные спирты (II или III) и метилбензоат, после чего начиналась замена спирта толуолом. На эту ночь (на 10—12 часов) материал оставляли в 50°-ном толуоле. На другой день проводки он доходил до 75°-ного толуола, на третий и четвертый дни — до толуола I и толуола II, а на пятую ночь в колбу начинали добавлять куски парафина. Все последующие — шестой, седьмой и восьмой дни проводки колба с материалом находилась в термостате вначале с температурой 30, а затем 40°.

В колбу несколько раз добавляли куски парафина с тем, чтобы в ней все время был нерастворенный парафин. Утром следующего, восьмого или девятого дня температуру начинали постепенно повышать с тем, чтобы к вечеру ее довести до 55—57°. Парафин в этот день добавляли не кусками, а расплавленный, при температуре 58—60°. С температурой, доведенной до 57°, колбу в термостате оставляли на последние двое суток. В последующие дни еще несколько раз заливали расплавленный парафин с тем, чтобы путем замещения в колбе парафина, смешанного частично с толуолом, на чистый довести ее содержание до полного отсутствия запаха.

После непродолжительного пребывания колбы с чистым, без запаха, парафином в термостате приступали к освобождению объектов от марлевых узелков. Делали это следующим образом. Рядом с термостатом на одном и том же столе, в парафиновой бане, изготовленной собственными силами, расплавляли парафин и заполняли им здесь же размещенные алюминиевые бюксы, обычно применяемые для определения влажности почвы. Быстро вынув колбу с материалом из термостата, в каждый бюкс с жидким парафином пинцетом перекладывали по одному узелку. Колбу с остатками материала возвращали вновь на место в термостат, а марлевые узелки, слегка поднимая над бюксом, но не вынимая из парафина, разрезали осторожно ножницами и содержимое их, вместе с бумажной этикеткой, вываливали на дно алюминиевого бюкса, в расплавленный парафин. При этом на бюксе мяг-

ким черным карандашом надписывали номер фиксированного образца, обозначенный на упомянутой бумажной этикетке.

Бюксы из парафиновой бани выставляли прямо на рабочий стол. Когда парафин внутри бюкса застывал до консистенции воска, его вместе с вплавленными объектами можно было без труда вынуть из бюкса и поместить в бумажный пакетик из пергамента, пронумеровав его тем же основным номером данного образца, который имелся на бюксе и на внутренней бумажной этикетке, находящейся вместе с объектом в парафине.

Заклученный в парафин образец представляет из себя округлой формы плоскую парафиновую тарелочку, которую по необходимости каждый раз можно было расплавить, вынув оттуда одну-две семяпочки, а остальные после остывания вложить в тот же самый бумажный пакетик, в котором они помещались и раньше.

В последние годы, в связи с необходимостью массового парафинирования объектов, вместо алюминиевых бюксов мы успешно применяли другой порядок и схему работы. Здесь для одновременного парафинирования многих объектов употребляли складную алюминиевую сетку со множеством мелких секций или ячеек. Для этого сетку располагали на дно бани с расплавленным парафином. В каждую ячейку, образованную сеткой, раскладывали, осторожно вынимая из колбы Бунзена, по одному марлевому узелку с заключенным внутри его объектом фиксации. Температуру расплавленного парафина в бане поддерживали на уровне 60°. Это способствовало тому, что толуол, попавший сюда вместе с объектами, постепенно улетучивался. После окончательного испарения толуола (но можно и раньше) из жидкого парафина, заполняющего баню, объекты один за другим освобождали от марлевых узелков, оставляя обнаженные семяпочки, початки и бумажную этикетку с фиксационным номером каждый в своей ячейке. Когда парафин в бане застывал, то каждый объект фиксации был заключен в отдельный твердый парафиновый кубик, образованный отдельной секцией или ячейкой алюминиевой сетки.

Особенно удобным оказалось групповое парафинирование объектов прямо в колбах Бунзена, находящихся в термостатах с постепенным поднятием температуры. Каждый раз при добавлении в колбу новой порции расплавленного парафина воздух удалялся электрическим насосом.

На этом, собственно, заканчивалась процедура парафинирования объектов, процедура замены толуола парафином. Объект, пропитанный парафином, готов для резания из него тонких срезов, которые после соответствующей окраски будут пригодны для детального изучения тонких микроскопических структур.

Пергаментные пакетики вместе с пропитанными парафином семяпочками раскладывались в большие фанерные коробки, вначале в порядке последовательной их нумерации, а затем по группам номеров, характеризующих тот или иной опыт.

Принятый нами порядок групповой фиксации, группового обезвоживания и группового парафинирования объектов выгодно отличается от других рядом преимуществ. Далекое не второстепенную роль здесь играет и то обстоятельство, что новый порядок фиксации и проводки резко увеличивает возможности массовой фиксации объектов. Опыт нескольких лет работы по-новому показал также резко улучшенное пропитывание материала фиксатором и парафином, что в конечном

счете гарантирует изготовление качественных и даже первоклассных постоянных препаратов.

Возможность меньшими силами заготавливать в массовом количестве материал благотворно сказалась на методической обоснованности исследований в целом. Нельзя не упомянуть и о том, что работа по новой методике улучшает условия труда лаборантов и сотрудников, избавляет их от необходимости длительное время соприкасаться с такими вредными для здоровья, легко испаряющимися химикатами, как толуол, фенол, метилбензоат, а позже, при окраске препаратов, с анилином.

Что касается названной раньше самодельной парафиновой бани, то она была изготовлена нами из обычного листового железа толщиной в 1 мм и свое назначение целиком оправдала, явившись в свое время одним из самых необходимых приспособлений в нашей лаборатории.

Она состоит из одного сплошного листа жести, лучше, конечно, оцинкованной, свернутой в виде правильного прямоугольника (или плиты) со следующими размерами: длина 110 см, ширина 70 см, высота 10 см. После запаивания краев такой плиты одна из ее сторон, а именно верхняя, наполовину (т. е. сантиметров на пять) была вдавлена внутрь, а по четырем ее краям были загнуты борта. Через отверстие, сделанное на одном из углов, внутренность бани заполнялась водой, а верхняя бортовая часть ее служила местом расплавления парафина. Под низом такой бани устанавливали электроплитку, и нагреваемая внутри вода равномерно расплавляла сверху парафин. Температура воды, а следовательно, и парафина никогда не превышала 100°, что избавило нас от вредного парафинового дыма, обычного при подогревании парафина непосредственно на нагревательных приборах. Регулируя расстояние между электропечкой и дном бани, т. е. поднимая или опуская печку, мы тем самым достаточно надежно регулировали и температуру воды, а значит, и плавящегося парафина, что, как известно, уже само по себе значительно улучшает его качество, повышая однородность.

С помощью той же бани, как уже указывалось раньше, объекты пропитываются парафином. Здесь же проводится массовое изготовление парафиновых кубиков, в которые затем впаиваются объекты для их резки на микротоме. Самодельная парафиновая баня нашла, как видим, весьма широкое и всестороннее применение в нашей работе.

#### Микротомирование объекта и окраска постоянных препаратов

Изготовление постоянных цитозембриологических препаратов в дальнейшем включает в себя сугубо лабораторные и весьма кропотливые операции по впаиванию объектов в парафиновые кубики (блоки), приготовление из них цельной ленты срезов, операции по наклеиванию срезов этой ленты на стекла, окраске и покрыванию срезов покровными стеклами.

Для большинства этих операций мы в некоторых случаях в первые годы применяли единый узел, собранный в одном приборе, изготовленном в нашей лаборатории А. А. Чеботарем и названном универсальным термостолком (УТС).

Изготовление и использование такого термостолка в лаборатории явилось развитием выдвинутого нами раньше принципа использования для комплекса работ, связанных с расплавлением парафина, обыкновенного электрического паяльника. Для этого он неподвижно закреплялся на рабочем столе. Регулируя с помощью ЛАТР напряжение в

спирали паяльника, можно было поддерживать в его рабочей части температуру, достаточную для быстрого расплавления парафина с разными целями: приготовления «жидкого гнезда» в парафиновых кубиках, выравнивания поверхности парафина, склеивания парафинового кубика с деревянной подставкой и т. д.

Конструкция и особенности применения универсального термостолка (УТС) для отдельных операций детально описаны А. А. Чеботарем [47] в 1959 г.

Поверхность столика может быть легко использована для расплавления срезов на стеклах. С этой целью необходимо температуру столика понизить до 42—45°. Как только температура урегулирована, предметные стекла размещают сначала на средней, наиболее нагретой части медной подставки и внимательно следят, когда тонкие парафиновые срезы начнут плавиться. Последнее легко определяется по изменению их поверхности, которая в это время из блестящей превращается в матовую. Такие предметные стекла с матовыми срезами отодвигаются на край столика на его «крылья», а на их место в центре размещают новую партию стекол.

Для расплавления парафиновых срезов на стеклах, кроме УТС, в последние годы мы применяем обычно распространенные в других цитозембриологических лабораториях зигзагообразные большие медные подставки. Один конец такой подставки подогревается какой-либо горелкой или маленькой лабораторной электропечкой. Предметные стекла со срезами вначале располагают поближе к самой теплой части подставки, а затем, после расплавления парафина, их постепенно отодвигают подальше к периферии, на менее теплую часть, где у них и заканчивалась процедура расплавления и прочного склеивания срезов со стеклом.

Острый носик на наших подставках позволяет использовать их для образования жидкого гнезда в парафиновых кубиках. В эти жидкие гнезда погружают затем объект, выделенный для резки на микротоме. С помощью носика медной пластинки готовые кубики легко приклеивают к деревянным подставкам. Для этого нижняя поверхность парафинового кубика и верхняя часть деревянной подставки одновременно в течение  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$  секунды нагреваются путем прямого соприкосновения с горячей медной пластинкой и затем быстро соприкасаются одно с другим, плотно прижимая кубик к деревянной подставке.

Однако зигзагообразная подставка в употреблении менее удобна, чем универсальный термостолк. Это прежде всего объясняется резким повышением температуры вокруг рабочего стола с размещающейся здесь подставкой. Повышение температуры (своего рода микроусловия) происходит как от самой зигзагообразной подставки, так и от источника ее подогрева. Как бы то ни было, ее функции успешно и с большими удобствами в работе вполне выполняет универсальный термостолк. Правда, и его конструкция должна быть коренным образом изменена и улучшена, главным образом за счет добавления ртутного регулятора температуры и увеличения размеров самого столика.

Последней операцией по приготовлению постоянных препаратов является их окраска. По сравнению с прошлыми годами значительным улучшением в этом разделе следует считать применение шаблонодержателей (специальных подставок) для многих предметных стекол. Такие подставки могут быть самой разнообразной формы и размеров. И то и другое в конечном счете зависит от формы и размера употребляемой посуды. Нами больше всего применяются округлые и удлинен-

ные подставки, рассчитанные для работы в одном случае в химических стаканах-цилиндрах, в другом случае — для работы в довольно удобных небольшого размера (10×5×10 см) прямоугольных кристаллизаторах.

Самой существенной частью нашей удлиненной подставки-шаблона являются узкие, равномерно расположенные пазы, по своим размерам соответствующие толщине одной пары предметных стекол. В пазы подставки-шаблона располагают стекла (у нас 20—24 штуки), попарно отобранные для окраски. И дальше производят все подготовительные к окраске процедуры и саму окраску не каждого препарата отдельно, а всех вместе, переставляя подставку с препаратами из одной посуды с соответствующим раствором в другую, третью и т. д.

При окраске способом Модилевского потребуются, к примеру, следующие перемещения подставки-шаблона. Вначале, обычно на ночь, подставку с препаратами помещают в кристаллизатор с толуолом. Здесь парафин наклеенных срезов растворяется, и на стеклах остаются только сами срезы. Утром подставка на 2—3 минуты переносится в кристаллизатор с чистым толуолом для ополаскивания, затем на 15—20 минут в кристаллизатор со спиртом (96°-ным) и, наконец, в чистую дистиллированную воду.

После этого начинается собственно окраска. Подставку-шаблон на 5—6 минут оставляют вначале в кристаллизаторе с фуксином, потом, после ополаскивания, препараты выдерживают 1—2 минуты (в зависимости от концентрации) в растворе метиленового синего в анилине и ополаскивают в так называемом дифференцирующем растворе, содержащем 25% спирта и 75% толуола. Затем подставка с препаратами переносится в посудину с чистым толуолом, где окрашенный материал может сохраняться довольно долго. После заклеивания таких препаратов покровными стеклами, а затем просушки они готовы для изучения и демонстрации. На этом и заканчивается долгий и, как видим, кропотливый путь изготовления постоянных препаратов.

#### Упрощенные методы приготовления цитозембриологических препаратов

В начале статьи мы уже указывали, что техника цитозембриологических исследований отличается большой трудоемкостью, кропотливостью и длительностью изготовления постоянных препаратов. Вместе с тем в последнее время для разрешения ряда узловых вопросов селекционного и генетического характера все чаще и чаще приходится обращаться именно к трудоемким методам микроскопии. Именно этим обстоятельством объясняются усилия сотрудников многих лабораторий [13, 21, 42], в том числе и нашей, любыми путями преодолеть главные затруднения методики и техники цитозембриологических исследований.

Чаще всего усилия исследователей направлены на улучшение и совершенствование отдельных деталей и узлов общепринятой, трудоемкой цитозембриологической техники с тем, чтобы можно было применять в процессе приготовления постоянных препаратов элементы механизации и перейти к массовой обработке селекционного и генетического материала. Все изложенное выше показывает, что мы идем именно по этому пути.

Ряд исследователей идет к той же цели другими путями. Пытливая мысль исследователей давно работает над упрощением сложной цитозембриологической техники. Применение упрощенных и ускоренных методов исследования позволяет быстро решить те или иные вопросы и

за короткое время анализировать большое количество генетического материала. В последние годы упрощенные методы в небольшом объеме применялись и в нашей лаборатории. Хочется поделиться некоторыми результатами и этой работы.

Отечественными учеными проделана большая работа по изысканию всякого рода упрощенных методов в цитозембриологических исследованиях. Такие ускоренные и упрощенные методы в широких масштабах стали в первую очередь применяться при разного характера исследованиях пыльцы.

Так, уже в 1929 г. Д. А. Гранковский [43] предложил метод изучения пыльцевых трубок на искусственных средах, нашедший впоследствии широкое применение в работах многих других исследователей. Позже В. А. Поддубная-Арнольди [33, 34, 35] и Е. Н. Герасимова-Навашина [28] разработали более простой метод исследования пыльцы ацеткармином. При этом методе фиксация и окраска препаратов идет одновременно и не требуется дальнейшей их обработки.

Особенно много внимания и энергии уделила разработке упрощенных и ускоренных методов эмбриологических исследований В. А. Поддубная-Арнольди. В 1954 г. она описала метод проращивания пыльцевых зерен разных культур на искусственных средах с последующей фиксацией их и окрашиванием вместе со средой прямо на предметных стеклах [35].

Используя метод В. А. Поддубной-Арнольди и внося в него некоторые изменения, мы смогли за сравнительно короткий период цветения бобовых, кукурузы и подсолнечника (лето 1959 и 1960 гг.) при затрате минимального количества времени исследовать по пыльце большое количество материала и изготовить за короткое время свыше 500 постоянных препаратов.

Ниже приводится примененная нами схема ускоренных способов изучения морфологии и содержимого пыльцевых трубок и пыльцевых зерен.

На тщательно промытые предметные стекла с отшлифованными для записи номера концами, наносилась капля жидкости искусственной среды для проращивания пыльцы. Обычно для бобовых в качестве искусственной среды мы использовали 1%-ный раствор агар-агара, в который прибавляли 10—30 г сахарозы на каждые 100 мл раствора. Пыльца нута, гороха, чины, вики прорастала при меньшем количестве сахарозы, фасола — при большем. Очень нетребовательной к среде оказалась пыльца нута, одинаково хорошо прораставшая в наших опытах при всех испытанных нами концентрациях сахарозы — от 1 до 40%.

Через одну минуту после нанесения среды она засеивалась той или иной пыльцой. Для равномерного распределения пыльцы на капле раствора последнюю стряхивали с пестика и раскрывшихся пыльцевых мешков легким ударом пальца по цветку или слегка прикасаясь опыленным пестиком к агар-агаровой капле. Предметные стекла с высеянной пыльцой помещали во влажную камеру и оставляли при комнатной температуре, иногда выставляя на окно солнечной стороны здания.

В качестве влажных камер нами использовались небольшие кристаллизаторы размерами 95×50×95 мм, на дно которых помещалась выпиленная из плексигласа гребенка. В пазы гребенки в вертикальном положении помещались предметные стекла. В каждый кристаллизатор входит обычно 30—40 стекол, по два стекла в каждый паз. Дно и стенки кристаллизатора выстилали увлажненной фильтровальной бумагой, а на крышке его также располагали кусочек сухой фильтровальной бу-

маги с тем, чтобы образующиеся капли воды впитывались ею и не стекали на предметные стекла.

Время от времени предметные стекла по одному извлекаются из влажной камеры и, согласно ранее разработанной схеме опыта, под микроскопом ведется проверка и наблюдение за прорастанием здесь пыльцевых зерен и ростом пыльцевых трубок.

Проросшие пыльцевые трубки фиксировали жидкостью Карнуа в течение 10 минут. Для этого предметные стекла с высеванной и проросшей пылью переносятся в цилиндр с фиксатором и помещаются в нем в вертикальном положении, что позволяет одновременно обрабатывать по несколько препаратов. М. Н. Прошина [38] рекомендует в фиксатор добавлять сахар в таком количестве, сколько его было в агар-агаровой среде, с тем чтобы не лопались пыльцевые трубки.

Окраска производится гематоксилином по Эрлиху. В этом случае гематоксалин готовят следующим образом: 2 г гематоксилина растворяют в 100 мл 96°-ного спирта, в раствор добавляют 10 мл уксусной кислоты, 100 мл химически чистого глицерина, 100 мл дистиллированной воды и 3 г алюминиевых квасцов. Перед употреблением краситель несколько раз разбавляют водой.

Преимущество этого способа окраски перед другими способами окраски гематоксилином заключается в простоте обращения и быстроте окраски. Он не требует предварительного протравливания препарата в квасцах и затем длительной промывки.

Гематоксалин из капельницы наносят на горизонтально расположенное предметное стекло с проросшими на нем пыльцевыми трубками. Окраска продолжается 1—2 минуты, затем препарат ополаскивают из капельницы водой, обезвоживают спиртом, осветляют толуолом или ксилолом и заключают в канадский бальзам. После этого высохший препарат готов для исследования.

Весь процесс приготовления препарата длится несколько минут. Результаты иногда получаются не хуже, чем при длительной микротомной методике. Пыльца окрашивается очень хорошо и вполне пригодна для дальнейших детальных исследований. Следует напомнить, что зрелая пыльца, окруженная толстой и грубой экзиной, с трудом или даже совсем не режется на микротоме. Порезанная же пыльца, особенно оболочка ее (при обычной, микротомной методике приготовления препаратов), очень густо окрашивается железным гематоксилином, так что содержимое ее становится недоступным для исследования.

Только на постоянных препаратах, приготовленных таким упрощенным способом, удалось наглядно показать массовое прорастание чужеродной пыльцы на рыльцах всех исследованных нами растений. Особенно показательное прорастание пыльцевых зерен кукурузы на рыльцах подсолнечника и пыльцевых зерен подсолнечника на рыльцах кукурузы.

Применяя ускоренный способ изучения пыльцы на искусственных средах, мы исследовали условия прорастания пыльцы, скорость роста пыльцевых трубок, а также выход из пыльцевых зерен в пыльцевую трубку вегетативной и генеративной клетки и характер образования спермиев в пыльцевых трубках у следующих бобовых культур: нуты, чины, конского боба, фасоли, а также содержимое пыльцевых зерен и пыльцевых трубок у подсолнечника и кукурузы.

При исследовании пыльцы бобовых нами обнаружено, что пыльца у каждой из этих культур однородна, обычно хорошо выполнена. В период летнего цветения дегенерировавших пыльцевых зерен обнаружи-

вается очень мало. В период же осеннего цветения растений у подгонов можно обнаружить в пыльцевой массе большой процент дегенеративных пыльцевых зерен. Обычно они имеют несколько сплюснутую форму и совершенно неокрашенное содержимое.

Прорастание пыльцы и образование пыльцевых трубок наступает сразу же после посева. Так, пыльцевые зерна нута уже через 5—10 минут после посева их на среду начали «наклеиваться» и прорастать. Через 5—10 минут после прорастания пыльцевые трубки по длине превосходили диаметр пыльцевого зерна, а через 20 минут удлинились в два-три раза. Особенно интенсивный рост пыльцевых трубок наблюдался в течение первого часа после посева пыльцы, затем рост пыльцевых трубок заметно замедлялся.

Пыльцевые трубки обычно прорастают через одну пору, однако нам удалось обнаружить несколько случаев ненормального роста пыльцевых трубок одновременно из двух пор одного пыльцевого зерна. Очень наглядные примеры такого рода ненормальностей были найдены для пыльцевых зерен нута и конского боба.

Как результат прорастания пыльцевых зерен при высокой температуре мы наблюдали ветвление пыльцевых трубок у нута. Чтобы ускорить рост пыльцевых трубок на искусственной среде, мы поместили влажную камеру с высеванной на питательную среду пылью вблизи горячей электрической печки. Выяснилось, что у пыльцевых трубок всей партии высеванной здесь пыльцы наблюдалось большее или меньшее число случаев ветвления пыльцевых трубок. Причем ветвления имели самый разнообразный характер.

Как известно, пыльцевые зерна бобовых двухъядерны, содержат одно вегетативное и одно генеративное ядро (или, вернее, клетки). Обычно вегетативная клетка несколько больше и располагается в центре пыльцевого зерна, а генеративная — меньше, она линзовидная и прижата к одной из стенок пыльцевого зерна. Ко времени прорастания пыльцевого зерна и образования пыльцевой трубки генеративная линзовидная клетка перемещается в центр пыльцевого зерна и располагается поперек его как раз против поры. Через 5—8 часов после прорастания пыльцевых зерен в пыльцевые трубки выходят вегетативная и позже генеративная клетки.

Образование спермиев в пыльцевых трубках нам удалось наблюдать только через одни сутки после посева. На препаратах, приготовленных описанным способом, хорошо видны вегетативная и генеративная клетки в пыльцевых зернах, еще не вышедшие в пыльцевые трубки; еще более отчетливо эти элементы видны в пыльцевых трубках.

Необходимость быстрого выяснения на большом материале закономерностей прорастания своей и чужой пыльцы на перистости рыльца и прохождения пыльцевых трубок в тканях своего и чужого пестика, связанных со многими разделами гибридизации и действия ментора чужой пыльцы, заставила нас заняться поисками новых ускоренных методов разрешения этих вопросов. Сравнительно удачным было применение фиксации целых опыленных рылец и одновременная их проводка, окрашивание, обезвоживание и заключение в канадский бальзам без применения микротомной техники.

Приготовление постоянных препаратов таким ускоренным способом и изучение их шло наряду с изучением под микроскопом живых, не отделенных от растений рылец кукурузы, подсолнечника, пшеницы и ржи.

Ускоренный метод исследования прорастания пыльцы на целых рыльцах заключается в следующем. Заранее изолированные рыльца



растущей в поле кукурузы опылялись собственной пылью, чужой пылью или определенной смесью пыли, в зависимости от варианта опыта. Опыленные согласно варианту опыта целые рыльца отделяли от материнского растения и тут же фиксировали через определенные промежутки времени (т. е. темпорально) фиксатором Карнуа. Перед погружением в фиксатор длинные нити рылец кукурузы разрезали на кусочки длиной не более 1—2 см. Рыльца подсолнечника и бобовых фиксировали целиком.

Фиксация продолжалась от 30 до 60 минут. После этого фиксатор сливали и в сосуд с объектами (это обычно большого размера пробирки) наливали 80°-ный спирт и оставляли их здесь также на 30—60 минут. Затем 80°-ный спирт сменяли 96°-ным, оставляя объекты в них на такое же время. После этого фиксированный материал переносили в дистиллированную воду, которую несколько раз сменяли, а в пробирку с кусочками рылец наливали очень разбавленный раствор железного гематоксилина, приготовленный по Эрлиху. В красителе объекты выдерживались не более полминуты. Затем краситель быстро сливали, кусочки рылец тщательно промывали в нескольких водах и обезвоживали спиртом.

Таким образом, мы достигали одновременной окраски всего материала. Подходящая концентрация красителя устанавливалась опытным путем. При этом важно было не передержать материал в красителе, для чего необходимо в одну пробирку размещать только однородные и одно-возрастные объекты.

Дальнейшая обработка материала проводилась таким же образом и в том же порядке, как это общепринято в микроскопической технике при окраске срезов для постоянных цитозембриологических препаратов. Спирты постепенно заменяли толуолом или ксилолом. Из последней смены чистого толуола кусочки рылец переносили непосредственно на предметные стекла, предварительно тщательно промытые, с отшлифованным краем и записанным на нем соответствующим номером.

Прежде чем перенести объекты на стекло, на последнее наносится капля толуола для того, чтобы объект можно было удобно расположить на предметном стекле и предохранить его от подсыхания. Затем по несколько кусочков рылец располагали на одном предметном стекле, так чтобы их удобно было позже исследовать под микроскопом. Избыток толуола удаляли фильтровальной бумагой. После этого на стекло наносили каплю довольно жидкого канадского (мы пользовались кедровым) бальзама, внимательно следя за тем, чтобы не образовались пузырьки воздуха, которые потом трудно удалить. Кусочки рылец нужно нарезать такой длины, которая соответствовала бы ширине или длине покровных стекол. Подсушенные после этого стекла с кусочками рылец и являются обычными постоянными препаратами, годными для изучения и могущими сохраняться продолжительное время.

Особого внимания заслуживает также методика получения срезов плотных, по сравнению с семяпочками полевых культур, виноградных глазков, почек плодовых культур (в ее разработке участвовали Н. И. Гунзун, А. И. Литвак и Л. М. Якимов), а также твердых, сухих семян, посредством заключения материала вместо парафина в целлоидин.

Последовательность обработки материала при заключении его в целлоидин следующая.

Прежде всего необходимо заблаговременно приготовить раствор целлоидина. Обычно для этих целей лучше всего использовать покупной целлоидин; при отсутствии такового, можно пользоваться рентгено-

кино-, фотопленкой. Однако пленку нужно выбирать бесцветную прозрачную или слегка желтоватую, а не с дымчатым налетом или серой вуалью (на нитратной, а не на ацетатной основе). Пленка должна быть тщательно промыта в горячей воде, до полного удаления эмульсионного слоя. Затем пленку промывают под струей воды из водопроводного крана и обрабатывают в течение 1—2 часов 20%-ным водным раствором едкого кали, еще раз промывают в большом количестве воды для удаления остатков щелочи и просушивают при комнатной температуре.

Совершенно сухую пленку измельчают (можно нарезать ножницами на мелкие кусочки) и обрабатывают в двух порциях хлороформа в течение нескольких дней для удаления имеющейся в пленке камфары. Высохшую пленку опускают в хорошо закрывающуюся банку с абсолютным спиртом, а когда она набухнет, прибавляют равное по объему количество эфира и хорошенько взбалтывают.

Обычно применяют два раствора целлоидина — 2%-ный и 8%-ный, готовят же только один — 8%-ный, а 2%-ный получают разбавлением спиртово-эфирной смеси первого, густого целлоидина. Готовить целлоидин необходимо заранее, так как пленка растворяется медленно и на это уходит много времени (несколько недель). По консистенции раствор целлоидина должен быть густым, малоподвижным, напоминающим мед. Объект, брошенный в него, должен не сразу опускаться на дно, а медленно погружаться в раствор.

Первый этап обработки почек заключается в подготовке их к фиксации. Необходимо помнить, что успех фиксации зависит от того, насколько будет подготовлен материал для его полной и равномерной пропитки фиксирующей жидкостью. Поэтому почки должны быть тщательно отпрепарированы: удалены твердые покровы глазка, а сам глазок должен быть с небольшим участком лозы, так чтобы сохранилась так называемая подушечка глазка.

Подготовленные таким образом глазки фиксируют. В качестве фиксирующей жидкости мы употребляли абсолютный спирт. Абсолютный спирт приготавливают из 95°-ного спирта обычным способом (отнимая от него воду при помощи прокаленного до бела, мелкоистолченного порошка медного купороса). Чтобы порошок медного купороса не образовывал мути на дне посуды со спиртом, его помещают в капсулы из фильтровальной бумаги, обвязанные сверху марлей.

Виноградные глазки фиксируют в спирте и одновременно обезвоживают в нем. Для полного обезвоживания материала абсолютный спирт следует два-три раза сменить. В каждой порции спирта виноградные глазки выдерживают не менее суток. Затем спирт сливают и материал на одни сутки заливают смесью равных частей спирта (абсолютного) с эфиром. И, наконец, почки переносят в жидкий (2%-ный) целлоидин, а затем в густой (8%-ный) целлоидин.

Длительность пропитывания целлоидином зависит от плотности и толщины объекта. Виноградные почки следует в каждом из растворов целлоидина выдерживать не менее 7 дней. Особенно важно подольше выдержать материал в первом (2%-ном) растворе целлоидина. Нужно помнить, что чем дольше пролежит материал в жидком растворе целлоидина, тем лучше он будет подготовлен к пропитыванию во втором — густом целлоидине.

Из второго (8%-ного) целлоидина виноградные глазки пинцетом переносят в чашки Петри, ориентируют их в определенном положении в зависимости от того, в каком направлении впоследствии необходи-

мо производить срезы; глазки раскладывают таким образом, чтобы они не соприкасались друг с другом, и заливают свежим густым 8%-ным раствором целлоидина. Уровень раствора целлоидина должен быть на 0,5 см выше виноградных почек, так как при уплотнении испаряется часть эфира (целлоидин «садится»), кроме того, на поверхности целлоидина иногда образуются пузырьки воздуха, так что часть целлоидина приходится срезать.

Чашки с расположенными в целлоидин виноградными глазками прикрывают (не очень плотно) крышками. Подсыхание и уплотнение целлоидина должно проходить постепенно. Обычно за три-четыре дня целлоидин уплотняется настолько, что его можно резать ножом. Правильно проведенные объекты должны быть равномерно пропитаны целлоидином, а целлоидин вокруг почек должен быть совершенно прозрачным и плотно упругим при надавливании на него пальцем.

Затвердевший целлоидин режут на части — кубики, или так называемые блоки, причем в центре блока должен располагаться глазок, а вокруг него должен оставаться ободок целлоидина до 2 мм шириной. Целлоидиновые блоки с заключенными в них глазками помещают в посуду с притертыми пробками (лучше всего широкогорлые небольшие банки) и заливают 70°-ным спиртом. В 70°-ном спирте блоки могут сохраняться продолжительное время, кроме того здесь происходит дополнительное уплотнение целлоидина.

Вынутые из 70°-ного спирта блоки могут быть порезаны на микро-томе. Для этого целлоидиновые блоки необходимо предварительно прикрепить на деревянные кубики-колодки, служащие основанием, которые можно закрепить в микротомном столике. Они должны быть немного больше целлоидиновых блоков, но свободно входить в столик микротомы. Деревянные кубики лучше всего делать из бруска березового или липового дерева, имеющего плотную древесину. Для удаления смолянистых веществ дерева, кубики кипятят в течение нескольких часов в содовом растворе, сменяемом несколько раз. Затем их высушивают и промывают в смеси спирта с эфиром (для этого можно использовать смесь, бывшую уже в употреблении при проводке почек). Наконец, деревянные кубики тщательно высушивают, а на поверхности, где будет впоследствии наклеен целлоидиновый блок, делают насечку ножом или напильником.

Целлоидиновые блоки на деревянные кубики наклеиваются следующим образом. Блоки с объектами вынимают из 70°-ного спирта и просушивают на фильтровальной бумаге в течение 10—15 минут. Деревянные кубики погружают на 2—3 минуты в смесь спирта с эфиром, чтобы целлоидин лучше приклеивался к колодкам. Затем целлоидиновые блоки на 1—2 минуты погружают в спиртово-эфирную смесь, а на колодки наносят шпателем немного густого целлоидина и на него сверху кладут целлоидиновый блок (вынутый пинцетом из смеси спирта с эфиром), не прижимая его слишком плотно к кубику во избежание последующего отклеивания. Кубик с блоком оставляют на 5—10 минут на воздухе (на листе фильтровальной бумаги) для просушивания, а затем переносят в 70°-ный спирт. Через несколько часов после этого виноградные глазки, заключенные в целлоидин, можно резать на микро-томе. Лучше же всего наклеивать блоки на кубики заранее и хранить их в 70°-ном спирте вместе с кубиками.

Виноградные глазки, заключенные в целлоидин, удобнее всего резать на салазочном микро-томе, используя нож марки «А». Лучшие результаты получаются при установке ножа не параллельно блоку, а ко-

со, под некоторым углом, который для разного материала определяется опытным путем. Опытным путем устанавливается также угол наклона ножа. При изготовлении срезов поверхность ножа и блока необходимо все время смачивать 70°-ным спиртом. Смачивание удобнее всего проводить кисточкой, ею же каждый отдельный срез снимают с ножа и тут же помещают в сосудик со спиртом. Не следует допускать высыхания ножа, режущегося материала и срезов.

Толщина срезов при морфолого-анатомических исследованиях может быть 30—40 мк. При такой толщине среза прекрасно видно общее строение почек и их отдельных частей, конус роста, диафрагмы углов с междоузлиями, зачаточные листочки, усики, соцветия.

Из сосудика со спиртом срезы осторожно переносят кисточкой на предметные стекла, заливают глицерином и закрывают покровными стеклами.

При необходимости получения серии срезов и сохранения их последовательности срезы снимают с ножа по одному и располагают в определенном порядке непосредственно на предметном стекле, смоченном глицерином. На одном стекле можно расположить 12—16 срезов. В глицерине под покровными стеклами срезы могут сохраняться довольно продолжительное время, но все же такой препарат временный.

Для получения постоянного препарата необходимо перенести срезы из 70°-ного спирта в 96°-ный или абсолютный, затем в смесь спирта с толуолом (или ксилолом). Следует готовить две смеси спирта с толуолом: первая смесь равных частей спирта и толуола (1:1), вторая смесь — спирта 25% и толуола 75% (1:3). Наконец, срезы переносят в чистый толуол (желательно в две смены). Все эти операции удобнее проводить в небольших сосудиках с притертыми крышками (можно в стеклянных небольших размеров бюксах). Из толуола срезы переносят на предметное стекло, располагают здесь в нужном порядке, заливают канадским (кедровым) бальзамом и покрывают покровными стеклами.

Приготовленный таким образом и подсушенный постоянный препарат может сохраняться многие годы, удобен для изучения под микроскопом, может служить прекрасным иллюстрационным материалом и является документом.

Окрашивать срезы виноградных глазков при морфолого-анатомическом изучении их нет надобности, так как они довольно хорошо сохраняют свой естественный цвет, весь срез в целом окрашен в коричнево-оливковый цвет, а отдельные морфологические участки и ткани — в разные оттенки этого основного цвета.

При необходимости выяснения более тонкой структуры почек, организации их клеток и тканей и разрешения других специальных задач бывает необходимо получить окрашенный срез. Целлоидиновые срезы окрашиваются такими же способами, как и срезы, приготовленные из материала, заключенного в парафин.

#### ВЫВОДЫ

Суммируя итоги нашей работы по совершенствованию техники цитозембриологических исследований, следует еще раз указать на резко возросшие возможности как в отношении количества намечаемых к фиксации объектов, так и в отношении изготовления добротных постоянных препаратов. И то и другое способствует более полноценному анализу экспериментального материала и более достоверной иллюстрации положений, вытекающих из такого научного анализа.

Результаты последних пяти лет работы показывают, что наиболее эффективными и оправдавшими себя мероприятиями и новшествами необходимо считать следующие:

1. Применение кроме оптимальных сроков посева кукурузы и других культур еще и предельно ранних, а также поздних и сверхпоздних сроков посева, в конечном счете значительно увеличивающих возможности работы.

2. Использование при фиксации того или иного варианта опыта не всего початка или корзинки подсолнечника, а только части их, что позволяет один и тот же початок (или корзинку) использовать многократно.

3. Применение строго продуманной, единой на весь сезон, нумерации опытов, порядка их закладки, записей вариантов, а также улучшенных приемов кастрации и опыления растений.

4. Использование для фиксации вместо стеклянной посуды (пузыречков и пробирок) небольших марлевых узелков.

5. Групповая фиксация и промывка этих узелков под краном, групповое обезвоживание и проводка через толуолы разной концентрации и затем также групповое парафинирование материала.

6. Применение для группового удаления воздуха из узелков и объектов в поле ручного насоса Комовского, а в лаборатории — электронасоса РВН-20 и вполне подходящих для этого колб Бунзена разных размеров.

7. Удаление из общей схемы обезвоживания материала абсолютных спиртов и использование, по примеру эмбриолога И. Д. Романова, в последующих растворах небольших количеств фенола, нейтрализующих действие небольших остатков воды в объектах.

8. Применение объемистой самодельной парафиновой бани с алюминиевой распределительной сеткой.

9. Использование ротационного микротомы, вместо салазочного, что обеспечивает изготовление более длинных серий срезов сравнительно толстых семян кукурузы.

10. Применение самодельного универсального термостоллика и самодельных медных подставок, удачно совмещающих в себе ряд операций, связанных главным образом с подготовкой объекта к резке на микротоме.

11. Использование прямоугольных и округлых подставок-шаблонов, позволяющих одновременно проводить групповую подготовку к окраске и саму окраску 15—30 предметных стекол.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Агроскина Л. С. Современная аппаратура для цито-спектрофотометрии. «Биофизика», т. 3, вып. 3, 1958.
2. Байер А. Эндосперм — самый лучший материал для демонстрации митозов *in vivo* у растений. «Реферативный журнал», Биология, 1955, Реферат № 37651.
3. Бергольц В. Е. Люминесцентная микроскопия. М., 1953.
4. Бродский В. Я. Количественные цитохимические методы (цитофотометрия). «Успехи современной биологии», т. 42, вып. 1 (4), 1956.
5. Брумберг Е. М. Визуальная ультрафиолетовая микроскопия — новый метод изучения живой клетки. «Доклады АН СССР», т. 85, № 6, 1953.
6. Брумберг Е. М. О флуоресцентных микроскопах. «Журнал общей биологии», т. 16, № 3, 1955.
7. Бутов Ю. М. К вопросу о применении фото-физических методов в биологических исследованиях. «Рефераты докладов ТСХА», вып. 21, 1955.

8. Волков Н. А. Краткие основы съемки через микроскоп. Л., Изд-во ВИЭМ, 1935.
9. Генкель Б. А. О применении и значении фазово-контрастной микроскопии для биологических целей. «Микробиология», т. 16, № 6, 1946.
10. Гладков А. Люминесцентный анализ в медицине. Кишинев, Госиздат Молдавии, 1958.
11. Глик Д. Методика гисто- и цитохимии. М., Изд-во иностр. лит., 1950.
12. Джапаридзе Л. И. Практикум по микроскопической химии растений. М., «Советская наука», 1953.
13. Дыбан А. П. и Журавлева В. А. Упрощение способа приготовления препаратов для гистохимического исследования. Сборник рефератов Львовского мединститута, 1954, № 1.
14. Кедровский Б. В. и Трухачева К. П. Новые методы для изучения функциональной морфологии клеток и тканей. «Доклады АН СССР», т. 84, № 4, 1952.
15. Коварский А. Е. Новое в селекции и гибридизации кукурузы. Сборник материалов научно-методического совещания по вопросам селекции пшеницы и кукурузы. Харьков, Изд-во АН УССР, 1957.
16. Колесников С. М. К вопросу об освоении методики цитологическо-эмбриологических исследований культурных растений. «Труды Кишиневского с.-х. института», т. VII, 1955.
17. Кострюкова К. Ю. О некоторых подробностях каркинетического деления, наблюдаемых *in vivo*. «Яровизация», 1940, № 6.
18. Кострюкова К. Ю. Опыт выращивания пыльцевых трубок для прижизненных цитологических наблюдений. «Наукові записки Київського державного університету», № 20, 1949.
19. Кострюкова К. Ю. Сравнительно-цитологическое исследование пыльцевых трубок лилии мартагона на живом и фиксированном материале. «Бюллетень Главного ботанического сада», вып. 14, 1952.
20. Ларионов Л. Ф. Ультрафиолетовая абсорбционная микроскопия животных клеток. «Журнал общей биологии», 1951, № 6.
21. Левитский Г. А. Новый метод массового цитологического исследования. «Социалистическое растениеводство», 1932, № 2.
22. Лепешинская О. Б. Происхождение клеток из живого вещества и роль живого вещества в организме. Изд. 2-е испр. и доп. Изд-во АМН СССР, 1950.
23. Мамуль Я. В. Получение микроавтографов методом погружения. «Журнал общей биологии», 1952, № 4.
24. Медведева Г. Б. и Эйдус Л. Х. Применение меченых атомов к изучению процесса оплодотворения у растений. «Доклады АН СССР», т. 118, № 5, 1958.
25. Мейсель М. Н. Люминесцентно-микроскопический анализ функционального состояния живого вещества. «Известия АН СССР, серия физическая», т. XV, № 6, 1951.
26. Модилевский Я. С. Быстрый метод дифференцированного окрашивания цитозембриологических объектов. «Ботанический журнал АН УССР», т. 8, № 1, 1951.
27. Навашин М. С. Методика цитологических исследований для селекционных целей. М., Сельхозгиз, 1936.
28. Навашин М. С., Герасимова-Навашина Е. Н. Об изучении клеточных процессов на фиксированном материале. «Ботанический журнал», т. 43, № 2, 1958.
29. Навашин С. Г. Избранные труды, т. 1. М., Изд-во АН СССР, 1951.
30. Наумов Н. А. и Козлов В. Е. Основы ботанической микротехники. М., «Советская наука», 1954.
31. Пешков М. А. Аностральный микроскоп. «Успехи современной биологии», т. 38, вып. 2, 1954.
32. Плисс Г. Б. Новый метод прижизненного микроисследования тканевых структур. «Успехи современной биологии», т. 39, вып. 3, 1955.
33. Поддубная-Арнольди В. А. Ускоренный метод эмбриологического исследования. «Ботанический журнал СССР», т. 23, № 4, 1938.
34. Поддубная-Арнольди В. А. Исследование зародышей покрытосемянных растений в живом состоянии. «Бюллетень Главного ботанического сада», вып. 14, 1952.
35. Поддубная-Арнольди В. А. Исследование процесса оплодотворения у некоторых покрытосемянных растений на живом материале. «Ботанический журнал», т. 43, № 2, 1958.
36. Пирс Э. Гистохимия теоретическая и прикладная. М., Изд-во иностр. лит., 1956.
37. Применение замораживания — высушивания в биологии. Сборник статей. М., Изд-во иностр. лит., 1956.
38. Пролина М. Н. Ботаническая микротехника. М., «Высшая школа», 1960.
39. Ревуцкая Л. С. и Гордеева А. Ф. Материалы к вопросу о размножении и развитии клеточных и неклеточных форм живого вещества. «Журнал общей биологии», т. XV, № 1, 1954.

40. Ромейс Б. Микроскопическая техника. М., Изд-во иностр. лит., 1959.  
 41. Роскин Г. И. и Левинсон Л. Б. Микроскопическая техника. Изд. 3-е, М., «Советская наука», 1957.  
 42. Сизова М. А. На путях усовершенствования цитологической техники. II. Исключение абсолютного спирта в процессе обезвоживания объекта. «Социалистическое растениеводство», № 13, 1934.  
 43. Гранковский Д. А. Методика цитологического исследования пыльцевых трубок. Труды съезда по генетике, селекции и прикладной ботанике. Л., 1929.  
 44. Уайт Ф. Р. Культура растительных тканей. М., Изд-во иностр. лит., 1949.  
 45. Фаворский В. И. Новый метод исследования клетки. «Записки Киевского общества естествоиспытателей», т. 27, № 1, 1927.  
 46. Фонбрюн П. Методы микроманипуляций. М., Изд-во иностр. лит., 1951.  
 47. Чеботарь А. А. Новый прибор для цитозембриологических исследований. Труды объединенной сессии Отделения биологических наук АН СССР, ВАСХНИЛ и Молдавского филиала АН СССР. Кишинев, 1959.  
 48. Шиллабер Ч. Микрофотография. М., Изд-во иностр. лит., 1951.  
 49. Элленгорн Я. Е. Экспериментально-фотографическое исследование деления клеток на живом материале. «Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции, серия А», 1935, № 8.  
 50. Krause R. Enzyklopedie der mikroskopischen Technik. Berlin, 1926—1927.  
 51. Märsa V. Embriotrofia, partea 1-a. Ed. Acad. R.P.R., 1954.  
 52. McClung C. E. Handbook of microscopical technique. N. Y., 1939.  
 53. Menkes B. Cercetări de embriologie experimentală, vol. I, Ed. Acad. R.P.R., 1958.  
 54. Johansen D. A. Plant microtechnique. N.Y., 1940.

С. М. КОЛЕСНИКОВ, В. В. КРЫЛОВА

## УНЕЛЕ РЕЗУЛТАТЕ РЕФЕРИТОАРЕ ЛА ЫНСУШИРЯ МЕТОДЕЙ ДЕ ЧЕРЧЕТАРЕ ЧИТОЕМБРИОЛОЖИЧЕ А ПЛАНТЕЛОР

### Резумат

Ын ултимул тимп ын секция де женетикэ а плантелор а Академией де Штинице а РССМ сынт фолосите пе ларг методеле де черчетаре читоэмбриоложиче пентру резолваря проблемелор де женетикэ ши де амелиораре, легате де сексул ши ередитатя плантелор де културэ.

Дупэ о мункэ де мулць ань колабораторий секцией ау елаборат ши ау апликат ку сукчес ын практикэ о серие де мэсурь ши иноваций че фак ку путинце апропиеря методов де черчетаре читоэмбриоложикэ де анализа гря ши компликатэ а прочесулуй женетико-амелиоратив.

Челе май ынсемнате резултате але черчетэрилор де лаборатор сынт дескрисе ын артиколул де фацэ.

## СОДЕРЖАНИЕ

А. Е. Коварский. Итоги и перспективы генетико-селекционных исследований по кукурузе в Объединенном отделе генетики Молдавского филиала АН СССР и Кишиневского сельскохозяйственного института им. М. В. Фрунзе (за период с 1945 по 1960 год) . . . . .	3
Т. С. Чалык. Формообразовательный процесс при самоопылении гибридов кукурузы с участием полустерильных (по пыльце) родительских форм. . . . .	22
В. Н. Лысков. Изучение влияния ментора пыльцы с помощью радиоактивных изотопов при самоопылении кукурузы . . . . .	32
М. В. Чернояров. О зелени надземной листостебельной системы растения . . . . .	40
С. М. Колесников, В. В. Крылова. Некоторые итоги дальнейшего освоения методики цитозембриологических исследований растений . . . . .	61

ИЗВЕСТИЯ  
АКАДЕМИИ НАУК МОЛДАВСКОЙ ССР  
№ 8 (1962)

Редактор А. А. Харитонина  
Художественный редактор В. Л. Пленцовский  
Технический редактор С. А. Полонский  
Корректор Д. А. Владимирская-Шехтер

Слано в набор 17/VII 1962 г.

Формат бумаги 70×108<sup>1</sup>/<sub>16</sub>.

АБ01727.

Тираж 500 экз.

Подписано к печати 12.VIII 1962 г.

Печ. л. 5,25.

Заказ 520.

Уч. изд. л. 6,85.

Цена 45 коп.

Издательство «Штиница» Академии наук Молдавской ССР  
Кишинев, проспект Ленина, 1

Типография издательства «Штиница». Кишинев, Куйбышевский пер., 17