

УДК 581.4 + 581.8 (076.5)

ЦИТОХИМИЯ ЭМБРИОГЕНЕЗА, СЕМЯ- И ПЛОДООБРАЗОВАНИЯ У ВИШЕН

© И.П. Спицын, А.А. Гусев, Д.И. Спицын

Spitzyn I.P., Gusev A.A., Spitzyn D.I. *Cerasus* genus cell-chemistry of embryology, seed- and fruit-evolution. The article discusses the outcome of the research on the dynamics of carbohydrates, starch, albumen, fat, dehydrogenases, geteroaucsine, Cellkinines, ABC, ethylene, etc. in embryos, seeds and fruits of *cerasus* genus.

ВВЕДЕНИЕ

Изучение содержания химических веществ в клетках, тканях и органах растений является в настоящее время неотъемлемой составляющей всех исследований в биологии. Особый интерес представляет цитохимия интимных процессов формирования репродуктивных органов растительного организма. Сведения по цитохимическому исследованию развития эмбриона, семени и плода покрытосеменных растений рода *Cerasus* в настоящее время чрезвычайно скудны [1–3]. В научной литературе мы не нашли заслуживающих внимания материалов, а настоящее сообщение об исследовании эмбриогенеза, семя- и плодообразования у вишни с применением цитохимических реакций носит характер предварительного ориентировочного типа, предшествующее публикации полных, неоднократно проверенных результатов оригинального эксперимента. Проведенные нами исследования охватывают стадии развития проэмбрио, ранний «критический» эмбриогенез, формирование эндосперма и зародыша, семени и плода до полного созревания [1–3].

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Современная цитохимия растений немыслима без цитохимического анализа, так как последний помогает решить многие проблемы эмбриологии, генетики, селекции и экологии.

Первоначально нами использовались гистохимия и цитохимия для выявления в растениях основных питательных и некоторых физиологических веществ (белки, сахара, жиры, гетероауксины, дегидрогеназы, гибберелины). Эти эксперименты мы отнесли к разряду предшествующих. Более поздние цитохимические исследования заставили нас обратиться к механизмам определения в эмбриональных тканях ДНК, РНК, некоторых ферментов, АБК (абсцизовой кислоты), ауксинов, этилена, цитокининов и других химических веществ и элементов [4–6]. Нами совершенствовались методы цитохимических исследований путем адаптации их к растениям рода *Cerasus*, что нашло отражение в разработке и публикации соответствующих методических пособий [5, 6, 3].

Большинство цитохимических реакций являются качественными, и чтобы повысить точность эксперимента, приходилось сочетать их с известными в физиологии растений количественными методами цитохимии. Так, абсцизовая кислота (АБК) выделялась методом газожидкостной хроматографии по Кислину и Кефели (1981), а её количество определялось методом абсолютной калибровки (Столяров, 1978). Фитогормоны выделяли комплексным методом (Власов и др., 1979) с последующим биотестированием: ауксинов по Кефели (1973), цитокининов по Мазину (1976) [2].

Для повышения достоверности цитохимических исследований, нами разработана побалльная оценка качественных реакций на содержащиеся в клетках химические вещества, что позволило оценить достоверность опыта с помощью биометрических методов генанализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Использование цитохимических методов позволило выявить динамику и локализацию основных питательных и физиологически активных веществ в клетках эндосперма, проэмбрио, зародыша, семени, развивающейся завязи у косточковых плодовых культур рода *Cerasus* [1, 2, 4], а разработанные нами таблицы для определения концентрации химических веществ в растениях позволили с высокой достоверностью судить о количестве этих веществ в клетках эмбриона [5, 6].

УГЛЕВОДЫ

Для выявления углеводов применялась Фелингова жидкость и реакция Моллиша. Цитохимия углеводов показала, что в начале развития зародыша вишен наблюдается высокая их концентрация в эндосперме, нуцеллусе, и самом проэмбрио. Много углеводов обнаружено в проводящей системе завязи. Концентрация углеводов в эмбрионе снижается в условиях водного дефицита по сравнению с оптимальным водоснабжением.

По мере роста эмбриона идет уменьшение содержания углеводов в его тканях, а в ткани семени глюкоза и фруктоза вообще не обнаруживаются.

КРАХМАЛ

Для выявления крахмала в цитохимии вишен был использован раствор Люголя. В начале эмбриогенеза крахмал в тканях проэмбрио не обнаруживается, есть он только в наружных покровах завязи. Следы крахмала отмечены в проэмбрио, ядерном эндосперме и нуцеллусе в период критического эмбриогенеза.

Много крахмала в интегументах семяпочки и проводящей системе завязи, который исчезает из них к 25–35 дню после оплодотворения. По мере роста и дифференциации зародыша идет накопление крахмала в семядолях, его осевой части, в зародышевом корешке. Через 50–60 дней количество крахмала в зародыше семени вишен резко сокращается, а в зрелых эмбрионах крахмал не обнаруживается.

БЕЛКИ

Цитохимические исследования эмбриогенеза вишен на белковые вещества (биуретова реакция) показали, что на самых разных этапах развития эмбриона его ткани содержат большое количество белков. Высока концентрация белков в эндосперме, нуцеллусе, интегументах, которая сохраняется на протяжении пяти этапов. К моменту созреванию плодов количество белков в эмбрионе резко снижается, сохраняясь до 70-го дня после оплодотворения.

ЖИРЫ

Для выявления жиров в эмбриональных клетках вишен использовался раствор Судана III в спирте. Начальные фазы эмбриогенеза характеризуются низким содержанием жиров в проэмбрио, эндосперме. По мере дифференциации эмбриона происходит увеличение количества жиров в его клетках. Много жиров в семени вишен.

ДЕГИДРОГЕНАЗЫ

Активность дегидрогеназ в эмбриональных клетках определялась по интенсивности обесцвечивания 1:10000-го раствора метиленовой сини. Наиболее высока она в период критического эмбриогенеза, ниже в эндосперме, нуцеллусе и интегументах. По мере роста эмбриона концентрация дегидрогеназ постепенно снижается, что говорит о снижении интенсивности окислительных процессов в клетках эмбриона. К 40–50 дням развития эмбриона дегидрогеназы активируются в его покровах и осевой части. Такая цитохимическая картина сохраняется вплоть до созревания плодов.

ГЕТЕРОАУКСИН

Интересна динамика концентрации гетероауксина в ходе эмбриогенеза, который выявляется по интенсивности красной окраски клеток под действием раствора железно-аммиачных квасцов в крепкой серной кислоте.

Сразу после оплодотворения клетки проэмбрио содержат мало гетероауксина (следы), затем его концентрация возрастает и достигает максимума на этапах преимущественного формирования эндосперма зародыша, после чего идет резкое снижение количества гетероауксина в клетках эмбриона и затем полное его исчезновение в зрелых семенах. Динамика содержания гетероауксина в репродуктивных органах вишен является характерной и для других физиологически-активных веществ – типа ауксинов.

ЦИТОКИНИНЫ, АБСЦИЗОВАЯ КИСЛОТА (АБК), ЭТИЛЕН

Этилен и цитокинины имеют наибольшую концентрацию в эмбриональных клетках в период формирования цветка, гинецея, андроея, оплодотворения, зиготогенеза, двухклеточного до шестнадцатиклеточного проэмбрио раннего критического эмбриогенеза. К моменту преимущественного формирования эндосперма цитокинины исчезают.

Их сменяют абсцизовая кислота и этилен, последний обнаруживается в третьем, четвертом и пятом этапах архитектоники вишен. В зрелых семенах цитокинины и этилен нами не обнаружены, их заменила абсцизовая кислота.

ВЫВОДЫ

1. Цитохимические исследования репродуктивных органов вишен показали, что динамика и локализация питательных и физиологически активных веществ одинакова для всех видов, сортов и гибридов растений рода *Cerasus*.

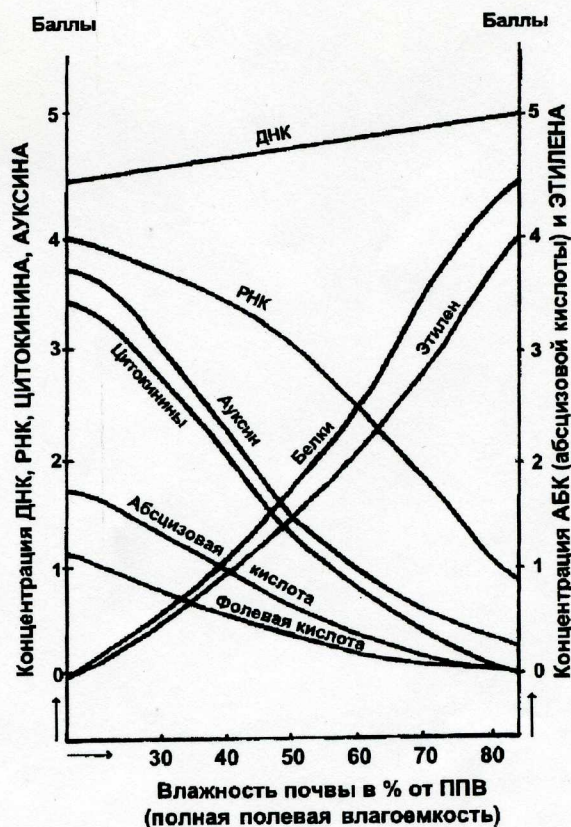


Рис. 1. Концентрация некоторых химических веществ в эмбриональных тканях вишни в связи с влажностью почвы

2. Накопление запасных питательных веществ зародышем семени, определяющее его всхожесть и интенсивность прорастания, начинается задолго до созревания плодов – в период преимущественного формирования эмбриона. Легко растворимые углеводы заменяются на крахмал, а затем на жиры.

3. Отмечена высокая концентрация пластических и физиологически активных веществ в гаусториях и проводящей системе завязи, что свидетельствует в пользу трофической активности материнского растения в момент формирования эмбриона, будущего семени и плода.

4. Водный дефицит в период эмбриогенеза, семяплодообразования вносит существенную коррективу в динамику пластических и физиологически активных веществ, снижая их концентрацию в самые ответственные моменты формирования эмбриона, что приводит к увеличению числа аномалий зародыша, эндос-

перма, к резкому увеличению опадающей завязи, снижению всхожести семян и урожая плодов.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Спицын И.П.* Генетика, цитология и эмбриология вишни. Экология. Тамбов, 1994. 106 с.
2. *Спицын И.П.* Проблемы эмбриологии, цитологии, генетики и экологии в исследованиях на вишне. Тамбов, 2002. 340 с.
3. *Спицын И.П.* Генетические, цитохимические и экологические аспекты эмбриологии покрытосеменных растений рода *Cerasus* // Вестн. Тамбов. ун-та. Сер. Естеств. и техн. науки. Тамбов, 1996. Т. 1. Вып. 1. С. 60-65.
4. *Спицын И.П., Панасенко А.И.* Экспериментальная прикладная биология и химия. Тамбов, 2002. 310 с.
5. *Спицын И.П.* Атлас таблиц для определения концентрации химических веществ в растениях. Тамбов, 2002. 68 с.
6. *Спицын И.П.* Цитохимия растений. Тамбов, 2003. 84 с.
7. *Спицын И.П.* Лабораторный практикум по цитологии. Тамбов, 1995. С. 104-107.

Поступила в редакцию 26 февраля 2003 г.