

05254

关于植物受精作用的几个問題

И. М. 波辽科夫等著

科学出版社

关于植物受精作用的几个問題

И. М. 波辽科夫等 著

馮 午 陈瑞清 译

科 学 出 版 社

1957年8月

內 容 提 要

在這本書中一共收集了三篇關於植物受精作用的論文，第一篇是 И. М. 波辽科夫和 А. Н. 德米特里耶娃合寫的“運用放射性同位素研究高等植物受精作用的新途徑”，第二篇是 Е. А. 布利季科人所寫的“花粉萌發和花粉管在雌蕊組織內生長的生理-生化分析”，第三篇是 И. И. 普烈森特所寫的“雙重受精與生活力”。有鑒於這三篇文章對於研究受精作用都有很大的參考價值，所以特將它們譯出，集成此書。

关于植物受精作用的几个問題

И. М. 波辽科夫等 著

馮 午 陳瑞清 譯

科學出版社出版 (北京朝陽門大街 117 号)

北京市書刊出版業營業許可證出字第 61 号

北京新華印刷廠印刷 新華書店總經售

1957 年 8 月第 一 版 書 号 : 0873 字 数 : 94,000

1957 年 8 月第一次印刷 开 本 : 850×1168 1/32

(京) 0001—2,105 印 张 : 3 7/8 插 頁 : 3

定 价 : (10) 0.85 元

目 录

运用放射性同位素研究高等植物受精作用的新途径·····	
·····И. М. 波辽科夫、А. Н. 德米特里耶娃 (1)	
花粉萌发和花粉管在雌蕊组织内生长的生理-生化分析	
·····Е. А. 布利季科夫 (23)	
双重受精与生活力·····И. И. 普烈森特 (101)	

运用放射性同位素研究高等植物 受精作用的新途径

波辽科夫 (И. М. Поляков) 德米特里耶娃 (А. Н. Дмитриева)

从米丘林学说理论原则出发对高等植物受精作用所进行的研究以新的事实和新的观念丰富了生物科学。在米丘林的受精理论中,有两个概念佔主要位置:一是受精的选择性,一是受精的多重性 (множественность)。如果说,证明受精作用的选择性和多重性的个别事实和概念已经为科学家所阐明的话(提出查·达尔文的名字就够了),那么研究者们根据米丘林的著作和观点,对这些问题进行大规模的和多方面的研究,这只不过是最近的事。在这一方面有巴巴德然扬 (Г. А. Бабаджанян) 等人在受精作用的选择性和花粉蒙导作用方面所作的研究,П. В. 杜尔宾 (Турбин) 等人在受精的多重性方面所作的研究,И. М. 波辽科夫 (Поляков) 和 П. В. 米哈依洛娃 (Михайлова) 在选择受精的规律性和花粉数量在受精作用中的重要性等方面所作的研究,Е. А. 布利季科夫 (Бритиков) 和波辽科夫等人在受精作用的生理现象方面,Д. В. 得尔-阿瓦尼撒扬 (Дер-Аванесян) 关于限量授粉是遗传性变异的一个因素这一问题所进行的研究以及其他学者在高等植物细胞胚胎学方面所进行的研究等等。

在目前我们除了还应当对上述这些方面进行深入的研究以外,还迫切需要发现一些新的方法来分析受精作用的选择性和多重性,来分析这些过程的生理和生化现象。如果受精作用的基础是特殊的代谢作用,那么定出新的实验方法来研究雌雄性受精原在代谢作用中的相互影响,以及进一步对这些过程进行更加具体的研究,就成为格外的重要。

为此 И. М. 波辽科夫在 1952 年提出了应用帶有放射性同位素标记的花粉,使它参加受精作用借以研究高等植物受精过程的方法。大家都知道,在生物科学中,已广泛应用放射性同位素来研究有机体活动的各个方面。

然而在研究动植物受精作用方面,放射性同位素的应用还不很广。过去在高等植物方面所引用的,只限于阐明以下这些问题的研究工作:即关于不同方式授粉时,植物体内代谢的强度的问题,关于授粉以后雌蕊内某些物质重新分佈的动态以及关于花粉内放射性同位素 P^{32} 的含量问题等等。同时用放射性同位素来进行的、以研究米丘林遗传学中关于受精作用的两个最重要的方面——受精作用的选择性与多重性——为目的的各种实验也不很多。然而很明显,如用放射性同位素给花粉作上标记,就完全可能打开新的途径,就能够使我们探查出受精作用实验中所用的某一部分花粉的归宿。用放射性同位素标记的花粉佈置适当的实验,就能够提高我们对于选择性的形态生理学方面的认识,对于多重受精的效果、时间限制和数量指数的认识,对于各种花粉在混合花粉中的相互作用的认识,以及对于受精过程中所发生的一系列生理和生物化学现象的认识等等。

1953—1954 年作者在乌克兰社会主义共和国科学院遗传选种研究所进行的试验,使作者能够拟出运用放射性同位素来研究高等植物受精作用某些主要方面的方法,并且使我们即使在研究工作还处在初期阶段的今天,也能作出许多重要的结论。在这篇论文中只阐述我们所得的一部分材料。

研究材料和方法

主要的研究对象是各种品种的菸草(*Nicotiana tabacum*)和馬合菸(*Nicotiana rustica*),对于这些菸草品种,И. М. 波辽科夫研究它们的受精作用已有多年,并且对于它们的遗传性已研究得很

清楚。在本試驗中所使用的是 Дюбек 44, Ходосевич 和 Белый Берлей 等品种的菸草以及 Желтая - 109 和 Высокорослая Зеленая 等品种的馬合菸。

此外,在若干試驗用 Стерлинг, Сибирячка 和 Серая Зубовидная 等品种的玉蜀黍 (*Zea mays*)、觀賞菸草 (*Nicotiana affinis*, *N. alata*¹⁾ var. *grandiflora*) 以及撞羽朝顏 (*Petunia violacea*)。

研究工作是用硫酸鈉 ($\text{Na}_2\text{S}^{35}\text{O}_4$) 形式的放射性同位素硫³⁵ (S^{35})和正磷酸 ($\text{H}_3\text{P}^{32}\text{O}_4$)形式的放射性同位素磷³² (P^{32})。含有 S^{35} 和 P^{32} 的試驗植物栽培在容量 10 和 12 升盆鉢的土壤內。另外一部分試驗植物栽培在試驗小区的土壤內。每一盆鉢內澆灌含一微居里 (μCi) 的 S^{35} 和 P^{32} 溶液。經過一定時間以後,取植物不同器官的樣本測定其中積聚的放射性同位素的數量。我們最感到興趣的是花粉中 S^{35} 和 P^{32} 积累的動態。

下面就是說明這一動態的數據。在 6 月 18 日給 Высокорослая Зеленая 品種的馬合菸施以含 S^{35} 的溶液。在 7 月 13 日檢查花粉時,觀察到 1 毫克花粉每分鐘發生 20 次脈沖。一個月以後(8 月 14 日)脈沖數是 56。同一品種的馬合菸也在 6 月 18 日在盆鉢內施用 P^{32} , 得到以下指數: 7 月 5 日, 脈沖數為 95; 7 月 24 日, 脈沖數為 52。所有數字都是按一毫克花粉在一分鐘內所產生的脈沖數計算的。在 6 月 18 日為 Дюбек 品種的菸草施用 S^{35} 以後, 得到了下列的數字: 7 月 17 日脈沖數為 42.8, 7 月 27 日脈沖數為 141; 施用 P^{32} 的 Дюбек 品種的菸草, 其花粉的脈沖數如下: 7 月 19 日為 40.8; 7 月 27 日為 45.7; 8 月 6 日為 70.6。在 6 月 18 日施用 S^{35} 的撞羽朝顏, 到 7 月 5 日花粉的脈沖數是 37.5, 7 月 24 日是 55.6。7 月 7 日施用 S^{35} 的玉蜀黍, 7 月 13 日花粉的脈沖

1) 觀賞菸草舊學名是 *Nicotiana alata*, 現用學名是 *Nicotiana affinis*——譯者註。

数是 27, 7 月 24 日是 71。

應該注意一个事实, 这就是 S^{35} 和 P^{32} 的积累过程达到一定程度之前大大超过放射性同位素經常进行的蜕变过程。硫与磷構成花粉中最重要的有机化合物, 这些有机化合物在花粉中濃度很大; 这也就說明了为什么放射性同位素在花粉中能增長到一定的数量。每毫克每分鐘能产生 50 到 150 次脈冲的花粉对我們作試驗是很合适的, 如用放射性指数更高的花粉, 当然就更适宜。如果把帶有花序的枝条浸在加入了大量的 S^{35} 和 P^{32} 的水中, 就可以得到較高的指数。一般我們取已具很多幼嫩花蕾的菸草、馬合菸和撞羽朝顏的枝条, 先除去枝条上已开的花朵和大花蕾, 放在容量为 2—3 升的容器內浸 2—4 日, 每一容器內加入 0.25—0.5 微居里的 S^{35} 和 P^{32} 。我們用玉蜀黍的幼嫩圓錐花序折枝作同样处理。現在引几个数字來說明花粉积累水溶液中所含 S^{35} 和 P^{32} 的情况。Высокорослая Зеленая 品种的馬合菸在含有 P^{32} 的溶液中經過 24 小时后, 每毫克花粉 1 分鐘內产生 202 次脈冲。Дюбек 品种菸草在含有 S^{35} 的溶液里經過 48 小时后發生 322 次脈冲, 在含有 P^{32} 的溶液里經過 48 小时后則發生 477 次脈冲。撞羽朝顏在含有 S^{35} 的溶液里經過 72 小时以后, 产生 380 次脈冲。玉蜀黍在含有 P^{32} 的溶液里經過 48 小时后, 每分鐘产生 94.6 次脈冲。

除玉蜀黍之外, 所有植物的花葯都收集在羊皮紙制的小袋內, 經過 1—2 日花粉便散出来, 把散出来的花粉收集在小玻璃皿內, 先測定放射性同位素的含量和生活力, 然后在實驗中加以使用。玉蜀黍的花粉則按以下方法收集, 先在插有玉蜀黍花穗的容器下面墊上一張羊皮紙, 然后每天早上从這張羊皮紙上收集落下来的花粉。把 S^{35} 和 P^{32} 標記的花粉單独的或者与其它花粉混合在一起授給未經標記的植株柱头上, 授粉在試驗地区內进行。

經過一定時間以后 (時間的長短以試驗的目的为定), 从母本植株的花朵上取出种子尚未成熟的蒴果 (每一組實驗取这样的蒴

果 20—30 个)。用蒴果中剥出的种子进行研究。对于玉蜀黍,则必须在一定时间以后,摘下果穗,研究柱头(絲)和剥下来的种子。

为进行研究而取下来的花部或者剥下来的种子先在 50—60°C 下干燥,然后放进钵中研碎,化成灰,然后称取 10 毫克放在人造树脂板上 (плексигласовая пластинка) 攤成一薄层。放射性磷和硫的测定在 TM-20 型计数器的“B”型计数装置上进行。表中的结果是一分钟内的脉冲数,修正底数是 20—30。测定 S^{35} 时,用 Бенедикт 和 Денис 试剂灰化,使 S^{35} 沉淀为硫酸钡。

在我们的表中所列的是换算成 100 毫克或者 1 克干物质的数字。我们注意到,每个试验的原始指标自然是极不一致的;因为在各份标记花粉中 S^{35} 和 P^{32} 的含量不同,此外在各个试验中授在该株柱头上的花粉数量也不可能完全相等。

花粉管在雌蕊组织内生长的情况,则可以用通常的显微镜切片法加以检查。 S^{35} 和 P^{32} 在雌蕊组织内完全或几乎完全靠生长着的花粉管运输的。全部硫和几乎全部的磷都构成花粉的复杂有机化合物。并且从生物化学和生物物理学的观点看来,这些物质是不可能由于简单的扩散作用而进入胚珠的。然而我们仍进行了下列的试验以作为对照。在菸草、馬合菸和玉蜀黍的柱头上,授以烫死的含有高浓度 S^{35} 和 P^{32} 的花粉。但是在任何情形中都没有在柱头和子房的组织内观察到放射性同位素。这就证明上述同位素的运输主要是由花粉管完成的。单用标记花粉授粉,能得到放射性指标最高的饱满种子的这一事实也能说明简单扩散作用的假设与事实不符(参看表 2, 表 4)。

我们可以假设花粉管携带的复杂有机化合物的酶解产物先由于扩散作用进入胚珠,然后才参加开始发育的种子的代谢作用。由于花粉管已含有放射性同位素,所以我们如要探查 S^{35} 或者 P^{32} 在柱头内的行踪,只须在授粉以后隔若干时间切断柱头,然后在计数

器上分別測定柱頭、花柱上部和花柱下部的放射性同位素的含量。

表 1 對我們說來只有實驗方法上的興趣，表中提供了 S^{35} 隨着標記的菸草花粉管在柱頭內生長而逐漸向上移動的指標。應該指出在這個表中並未列入子房的指數，在測定的後期（授粉以後 40—80 小時再在計數器上測定時），大量的放射性物質也隨着花粉管的生長而進入子房（另外參考表 6，表中列有玉蜀黍的類似數字）。

表 1 S^{35} 在菸草柱頭內的進展

授 粉 方 法	100 毫克干物質每 1 分鐘產生的脈衝數		
	柱頭	柱頭上部	柱頭下部
用 Ходосевич 品種來標記的花粉和標記的 Дюбек 品種花粉同時授粉，經過 18 小時後分析·····	260	43.3	35.0
同上，經 40 小時以後分析·····	240	20.0	58.0
先用未標記的 Ходосевич 品種花粉授粉，經過 10 小時以後再用標記的 Дюбек 品種花粉授粉，第二次授粉 18 小時以後分析··	400	150.0	50.0
同上，第二次授粉後 40 小時分析·····	150.0	50.0	50.0
同上，經 24 小時輔助授粉，在第二次授粉以後 18 小時分析·····	866.0	125.0	36.6
同上，經 48 小時後輔助授粉，第二次授粉後 40 小時進行分析·····	383.0	115.0	47.0

用 S^{35} 和 P^{32} 標記花粉進行不同時的授粉

在高等植物中受精作用的多重性意味着高等植物的整個受精

过程中(不論在結合前期或結合期)*並且在胚胎刚刚开始發育的时候都可能發生大量的特种“集中作用”。这种作用是怎样进行的呢?細胞胚胎学向我們提供了許多事实,証明在一般植物的花柱內有大量的花粉管生長着,其数目大大地超过子房內的胚珠数目,並且常会穿入子房的空腔。在花粉管萌發和生長的各个阶段(以及由精子細胞本身在受精的后期)分泌出来的高度活性物質積極地参加这种特殊形式的代謝作用,而这种代謝作用也正是有性过程的實質。我們認為这就是“集中作用”的主要生理学机制,它引起了受精作用的多重性。受精作用的多重性維持了遺傳的“模式”过程和遺傳性类型(“среднетипичный” ход наследования, типология наследственности);在另外的情形下,当某种特殊形式的傳粉时,受精作用的多重性又会引起脫离这一类型的各种差異。

應該附帶說明,除了 С. Г. 納瓦兴(С. Г. Навашин)首先在他的經典著作中論述的、以及后来在其它研究者的著作中描述的双受精基本过程之外,某些花粉管直接長入胚珠达到胚囊的情形也是一种常見的現象,有时几个花粉管一起鑽进了胚囊。在文献中还記載有一种更稀有的現象,即多精入卵的現象。此外,还可以看到一些論述所謂“营养体受精作用”的文章,即論述精子使胚珠組織受精的著作,这些論点当然是值得怀疑的。諸如此类的現象都可能成为引起父本受精原与母本的組織和性細胞之間發生密切相互作用的附加途径。

据我們看来,關於受精作用的多重性究竟如何实现这一問題的重心,並不在於上面所說的細胞学論点,而是在於生理过程。不論在植物身上会不会發生多精入卵的現象,也不論“营养体受精”是

*註 Н. М. 波辽科夫和 П. В. 米哈依洛娃(1950)为了研究的便利把受精作用分成兩個时期。第一个时期由花粉傳到柱头到花粉管与胚囊接近为止叫做結合前期。第二时期是雌雄配子体直接發生相互作用,其中包括双受精过程,叫做結合期(Прогамная фаза и фаза гамогенеза)——譯者。

否真有其事,这都不能解決問題。如果通常只有一个花粉管直接参加双受精过程,那么要知道在雌蕊組織內生長起来並且进入子房,甚至达到子房胚珠的全部花粉管以及花粉管分泌出来的某些物質,实际上都会与母本組織和性細胞發生相互作用,而且受精作用的多重效果也正是这种相互作用所引起的。如果我们首先在代謝途徑上研究受精作用的多重效果,那么就会發生以下三个問題。第一,应该証明这种代謝作用究竟是否存在,並且說明这种代謝作用絕不会仅是所謂大家熟知的双受精的細胞学現象。其次必須为这种極为特殊的代謝过程作出具体的生物化学的解釋,但管所作的解釋只限於这一过程的某些基本特性;第三,应该为这一过程划出時間上的界限,即使所划分的界限只是比較概略的。很明显,这些問題当中的第二个問題是一个極其复杂而广泛的問題,是很多研究者的研究專題。这里我們只把注意的重点放在試圖回答第一和第三問題上面,这些問題如能获得原則性的解决,將会有助於理解受精作用多重性的本質,从而为今后所有研究工作創造出先决条件。

我們在不同時間授粉方面所作的試驗是这样設計的:我們先使第一部分花粉完成受精的“基本”过程,然后使授在同一試驗植物的柱头上的第二部分花粉起“輔助受精”的作用(当然,我們所指的受精的“基本”过程和“輔助受精”在含义上是有条件的,因为上述的兩個过程本質上是同一过程的兩個环节,不过它們的重要性不同)。第二部分花粉是用 S^{35} 和 P^{32} 标记的花粉,而第一部分花粉則是未經标记的花粉,也就是不含放射性同位素的花粉。在佈置本試驗时,我們是如此考虑的:如果受精的“基本”过程是由未經标记的花粉完成的話,那么即使在以后分析种子时,在种子內發現了 S^{35} 和 P^{32} ,这也只能表示第二部分花粉(标记的花粉)只是由於在代謝过程中和胚珠的某一部分(也可能和才开始發育的胚)發生了相互作用而把自己的物質帶进正在發育的胚中去了。

同时我們認為也必須注意以下几点。第一,由於考虑到各种

植物的花粉管在雌蕊組織內生長的速度以及花粉管达到胚珠的时间,所以我們在几个不同的時間內进行輔助授粉。第二我們必須使所佈置試驗同时也能够从遺傳学方面(即从后代的分析方面)把受精的“基本”过程和“輔助受精”区分开来。

为进行这个試驗,我們选用了 Ходосевич 和 Дюбек 品种的菸草, Желтая-109 和 Высокорослая Зеленая 品种的馬合菸和 Сибирячка 和 Стерлинг 品種的玉蜀黍。

用菸草作的試驗有以下四种处理:(1)以 Ходосевич 品种的菸草为母本,單用標記的 Дюбек 品種的花粉授粉;(2)仍以 Ходосевич 品種的菸草为母本,先用未經標記的 Ходосевич 花粉授粉,經過 24 小时以后,在柱头上授以大量標記的 Дюбек 花粉;(3)同前,只是經過 42—48 小时用標記的 Дюбек 花粉进行輔助授粉;(4)同前,只是經過 62—72 小时后用標記的 Дюбек 花粉进行輔助授粉。

上述輔助授粉的时间,是根据我們和其它作者的数据而定的。在菸草中花粉管由柱头生長到胚珠平均是 38—44 小时(在 24—26°C 下)。因此,即或是在第二种处理中(經過 24 小时以后輔助授粉),当最先头的標記的花粉管生長到胚珠时,第一部分花粉(也就是 Ходосевич 品種的花粉)的受精过程已經基本上完成了。至於第三和第四处理中,当然就更不用說了,因为標記的花粉管生長到胚珠时,絕大部分胚珠已經具有开始發育的胚(这一事实可以我們在胚胎学方面的研究作証明)。

我們所以要選擇上述品种,也不是偶然的。在 П. М. 波辽科夫和 П. В. 米哈依洛娃的研究工作中多年来就利用这些品种,因为这些品种用来作遺傳分析很便利。Ходосевич 品種的黃綠色叶片性狀(желтолистность)對於 Дюбек 品種的綠色叶片的性狀(зеленолистность)表現可靠的隱性。在一定的實驗条件下,这些性狀在早期(在幼苗时期)就可以看出来,並且很突出。这个事实(这个在研究其它性狀时,也曾經在許多世代中得到証明的事实)能够

大大地幫助我們去從它的後代中分析某一雜交的結果。

在上面所敘述的這些試驗中，我們提出很大一部分種子來分析 S^{35} 和 P^{32} 的含量，另將一部分種子萌發，作後代遺傳學的分析，其所以要进行這種分析是由於下面的原因。大家都知道，花粉管並不是同時長入胚珠里面去的，而是有一定時間上的先後的，因此在各個胚珠內受精作用是在不同的時間進行的。有鑒於從我們試驗的討論中會自然而然地產生一個問題：這就是這裡所發生的並不是“輔助受精作用”（就前面說過的涵義來說）而是一般的“基本”受精過程更確切地說是第二部分帶標記的花粉使一部分和未經標記的花粉發生受精作用的胚珠（或者更確切地說使一部分尚未受精的胚囊）發生了受精作用的“基本過程”。為了取消這個假設，我們必須同時來分析後代，證明哪一部分後代主要是由自己的花粉受精的，哪一部分是由其它品種的標記花粉受精的。

表 2 所示的就是用菸草進行試驗後的分析結果（兩組用 S^{35} ，兩組用 P^{32} ），表中數字都經過底數修正。

表 2 用 S^{35} 和 P^{32} 標記的花粉為菸草進行不同時間的授粉
(*Nicotiana tabacum* 品種 Ходосевич)

授 粉 方 法	一克種子干物質每分鐘脈沖數			
	$S^{35}I$	$S^{35}II$	$P^{32}I$	$P^{32}II$
標記的 Дюбек 品種花粉·····	47.7	58.8	43.0	14.0
未標記的 Ходосевич 品種花粉，經過 24 小時後再授予 Дюбек 品種標記的花粉·····	44.0	38.0	32.0	9.6
未標記的 Ходосевич 品種花粉，經過 42—48 小時後再授以標記的 Дюбек 品種花粉	75.0	25.5	17.0	7.0
未標記的 Ходосевич 品種花粉，經過 62—72 小時後再授以 Дюбек 品種標記的花粉	56.0	—	12.0	—

這個表說明，由於按上述時間進行了輔助授粉的關係，在發育

的种子内出现了大量由第二部分花粉带进去的 S^{35} 和 P^{32} 。在四组实验中,有三组都出现了这样的事实: S^{35} 和 P^{32} 的数量随辅助授粉时间的推迟而有规律的减少。在用 S^{35} 的一组试验中没有表现这一规律性,并且我们观察到在第三组试验中 S^{35} 的量最大。这一事实我们可以如此解释:当我们为每一项试验的 25—30 朵花的柱头授粉时,虽然我们希望所授的花粉的数量均等,可是在这一项试验中我们并没有作到。这里也可能是某种其它我们没有估计到的因素发生了作用。但是从总的方面看来,表 2 的数字可以证明,在受精作用的“基本”过程结束之后,第二部分花粉在代谢过程中把自己的物质加入到发育的种子中去。

仅仅根据上述的试验,现在我们还不能证明这些物质是进入胚,或是胚乳里。然而我们可以肯定,这些物质的一部分聚集在这里。我们用玉蜀黍所作的试验资料,和我们得到的事实来与某些熟知的多重受精的纯遗传学研究对比起来也能说明这一点。总之我们认为测定 S^{35} 和 P^{32} 在种子各个部分内分佈的情况,是我们今后研究工作的一项迫切任务。

至於用 Ходосевич 品种的花粉和 S^{35} 标记的 Дюбек 品种的花粉給 Ходосевич 品种的母本植物进行不同时授粉的结果所作后代分析,所得结果如表 3 所示。

表 3 用未标记的 Ходосевич 菸草品种的花粉和 S^{35} 标记的 Дюбек 品种花粉为 Ходосевич 品种菸草进行不同时授粉的结果所作后代分析

授 粉 方 法	未杂交的后代		杂交后代	
	数目	%	数目	%
先授以 Ходосевич 品种花粉, 经过 24 小时后再授以 Дюбек 品种的花粉	1642	95.6	75	4.4
同上, 经过 48 小时再授 Дюбек 品种的花粉	1790	98.7	23	1.3

从表中可以看出来:認為有大量“未受精”胚珠存在而這些胚珠的胚囊只是由於標記的 Дюбек 品種花粉受精的假設是沒有根據的。當經過 24 小時進行輔助授粉時, 雜交後代只佔 4.4%。而經過 48 小時進行輔助授粉時, 雜交後代降低到 1.3%。百分比這樣低的雜交後代竟能產生表 2 中所示這樣大的放射性指標, 這是難以想像的(假若與單純用標記的 Дюбек 品種花粉授粉結果比較一下, 情形就特別清楚了)。

用馬合菸所作的試驗得到類似的結果, 試驗共分三個處理, 母本都是 Желтая-109 品種, 1) 單純用 Высокорослая Зеленая 品種標記的花粉授粉; 2) 用 Желтая-109 未標記的花粉授粉, 經 12 小時以後在柱頭上用大量的 Высокорослая Зеленая 品種標記的花粉進行輔助授粉; 3) 同前, 經過 24 小時後用標記的 Высокорослая Зеленая 花粉進行輔助授粉。上述的輔助授粉時間是根據我們和其他作者們的數據而定的, 在馬合菸中, 花粉管由柱頭生長到胚珠的時間為 2—16 小時(在 24—26°C 溫度下)。因此, 猶如用菸草所作的試驗一樣, 授粉時間如果是在授粉後的 12 小時, 那末當最先頭的標記花粉管生長到胚珠時, 第一部分花粉(也就是 Желтая-109 的花粉)的受精過程早已基本上完成了。在第三個處理中, 這一斷言當然就更加不言而喻了。

表 4 說明, 用 S^{35} 和 P^{32} 兩種放射性同位素所作的試驗中, 無論是經過 12 小時進行輔助授粉或是經過 24 小時進行輔助授粉, 我們都可以在種內發現有放射性同位素。同時觀察到由“輔助受精”而帶入的放射性同位素的數量是有規律地減少。

表 5 所示的是對後代分析的結果。我們看到, 在第一次授粉後 6 小時進行輔助授粉的試驗結果中, 雜種後代的數量極大(53.8%)。但是經過 12 小時以後進行輔助授粉, 雜種後代百分數很低(2.1%), 而經過 24 小時進行輔助授粉時, 我們只觀察到一個真正的雜種(只佔 0.09%)。

表4 用 S^{35} 和 P^{32} 标记的馬合菸花粉(*Nicotiana rustica*
品种 желтая-109) 为馬合菸进行不同时的授粉

授 粉 方 法	1克种子干物質 1分鐘內的脈冲数			
	S^{35} I	S^{35} II	P^{32} I	P^{32} II
标记的Высокорослая зеленая品种的花粉	116.2	40.5	50.4	29.3
先用未标记的 Желтая-109 花粉, 12 小时 后再用标记的 Высокорослая зеленая 花 粉授粉.....	60.4	21.0	48.0	10.0
先用未标记的 Желтая - 109 花粉, 经过 24 小时以后再用标记的 Высокорослая зеленая 花粉授粉	31.2	18.5	24.8	6.1

表5 用未标记的馬合菸 Желтая - 109 品种的花粉和 S^{35}
标记的 Высокорослая зеленая 品种花粉为 Желтая-
109 品种进行不同时的授粉所得后代的分析

授 粉 方 法	未杂交的后代		杂交后代	
	数目	%	数目	%
先授 Желтая - 109 花粉, 经过 6 小时再授 Высокорослая зеленая 品种花粉	449	46.2	524	53.8
先授 Желтая - 109 花粉, 经过 12 小时再 授 Высокорослая-зеленая 品种花粉	828	97.9	18	21
先授 Желтая - 109 花粉, 经过 24 小时再 授 Высокорослая зеленая 品种花粉	1164	99.91	1	0.09

因此, 完全不能设想佔百分数如此小的杂种后代竟能产生表 4 所示的这样大的放射性指标。显而易见, 这是由于含有 S^{35} 和 P^{32} 的化合物进入了这些预先受到未标记的 Желтая - 109 花粉而开始发育的种子所致。