

С. Н. МОВСЕСЯН

ПРОЦЕСС ОПЛОДОТВОРЕНИЯ У *RUDBECKIA maxima*

В исследованиях, проведенных над *Rudbeckia*, многие детали процесса оплодотворения остаются неосвещенными.

Виды *Rudbeckia* являются благоприятным объектом для цитоэмбриологических исследований. Одновременное и ярусное раскрытие многих цветков в соцветий, большое количество семязпочек на одной стадии развития, расположение и величина элементов зародышевого мешка дают возможность проследить за всеми происходящими изменениями в зародышевом мешке начиная с момента опыления, прорастания пыльцы на рыльце, попадания спермиев в зародышевый мешок, вплоть до полного слияния половых ядер. В течение 3 час. после опыления, с интервалом по 10 мин. пестики фиксировались жидкостью Навашина, одна часть материала окрашивалась железным гематоксилином, а для другой части применялась реакция Фельгена с подкраской светло-зеленый.

Пыльцевые зерна при нанесении на рыльце сразу начинают прорастать и в течение 10 мин. в лопастях рылец и в столбике отчетливо видны многочисленные, активно растущие пыльцевые трубки. Большинство пыльцевых трубок встречается в основном в центральной части столбика—в сфере проводящего пучка, где легче раздвигать клетки, а не периферии столбика, где по всей вероятности, более трудно раздвигать клетки рылец, мы их не встречаем.

Исследования роста многочисленных пыльцевых трубок в тканях пестика привели нас к убеждению, что как в начале, так и позже, когда в зародышевом мешке происходит слияние спермиев с женскими элементами, то рыльца рудбекии не теряют свойства для нормального роста пыльцевых трубок и внедрения последних в вегетативную ткань. Мы также склонны считать, что многочисленные трубки, прорастающие по тканям пестика должны быть ассимилированы непосредственно ее клетками, что является для нас предметом дальнейшего изучения.

Деление генеративного ядра, образование и развитие спермиев у рудбекии протекают в пыльцевом зерне [9], а при росте пыльцевой трубки вегетативное ядро остается в пыльцевом зерне и постепенно дегенерирует. Спермии в пыльцевых трубках заключены в общую гомогенную массу и двигаются парой на определенном расстоянии друг от друга (рис. 1). Такое расположение сохраняется, пока пыльцевая трубка растет в направлении семязпочки. В более поздние часы, когда взаимодействие между пыльцевой трубкой и вегетативной тканью нарушается, пыльцевая трубка прекращает свой рост, приобретает булавовидную форму, то спермии располагаются в булавовидной части (рис. 2).

При наблюдении нам не удалось видеть цитоплазму спермия как в пыльцевом зерне, так и в пыльцевой трубке. Возможно, применяемая нами методика фиксации и окраски не выявляют структуру цитоплазмы спермия, потому и она не видна также при излиянии спермия в зародышевый мешок.



Рис. 1. Пыльцевая трубка с двумя спермиями. Окраска фельген + стетло-зеленый.



Рис. 2. Булавовидная пыльцевая трубка со спермиями, расположенными в ее верхушечной части.

У рудбекий зародышевый мешок тетраспорический, восьмиядерный [15, 16]. Расположение и величина элементов зародышевого мешка, а при фиксации прекрасная сохраняемость округлой формы и четкость очертаний, могут ее поставить в ряд таких известных классических объектов цитоэмбриологических исследований, как лилиум, крепис и подсолнечник.

Элементы зародышевого мешка крупные, на что в свое время обратил внимание С. Г. Навашин [10], в верхней части расположены две синергиды грушевидной формы, а в ее средней—расширенной части расположено ядро с ядрышком. Как и у всех представителей сложноцветковых синергиды семяпочек рудбекии лишены нитчатого аппарата. Довольно крупная яйцеклетка, богатая содержимым зернистого строения, расположена между синергидами и по величине превышает последние (рис. 3).

В нижней расширенной части яйцеклетки расположено большое ядро с ядрышком. В халазальной части зародышевого мешка расположены три антиподы, две из них неопределенной формы окрашиваются очень бледно и внешне ярко выражен процесс дегенерации, ядра часто не имеют четких контур, в отличие от *Rudbeckia bicolor* (Магешвари [7]), у которого все три антиподы имеют крупные, хорошо выраженные ядра. Третья же антипода крупная, по форме и строению очень схожа с яйцеклеткой, что побудило исследователей [17] проследить за их поведением во время процесса оплодотворения. По их данным случаев обра-

зования и развития зародышей от антипод не наблюдается, они сохраняются в течение развития зародыша, что и подтверждается на нашем материале, о чем мы остановимся ниже. Сходное поведение проявляют антиподы *Scilla sibirica*, сохраняясь в течение всего хода оплодотворения [2].

Обычно ядра антипод содержат одно-два ядрышка, но у *R. maxima* было обнаружено отклонение; в антиподах семязпочек, зафиксированными нами, обнаружилось от двух до семи ядрышек (рис. 6). Почти во всех семязпочках через 10—20 мин. после опыления встречается картина излияния пыльцевой трубки в зародышевый мешок (рис. 3). Одна синергида совершенно разрушается при излиянии пыльцевой трубки, а вторая синергида остается всегда неразрушенной с ядром. Центральное ядро зародышевого мешка имеет сферическую форму и расположено под яйцеклеткой. Яйцеклетка грушевидной формы, в нижней расширенной

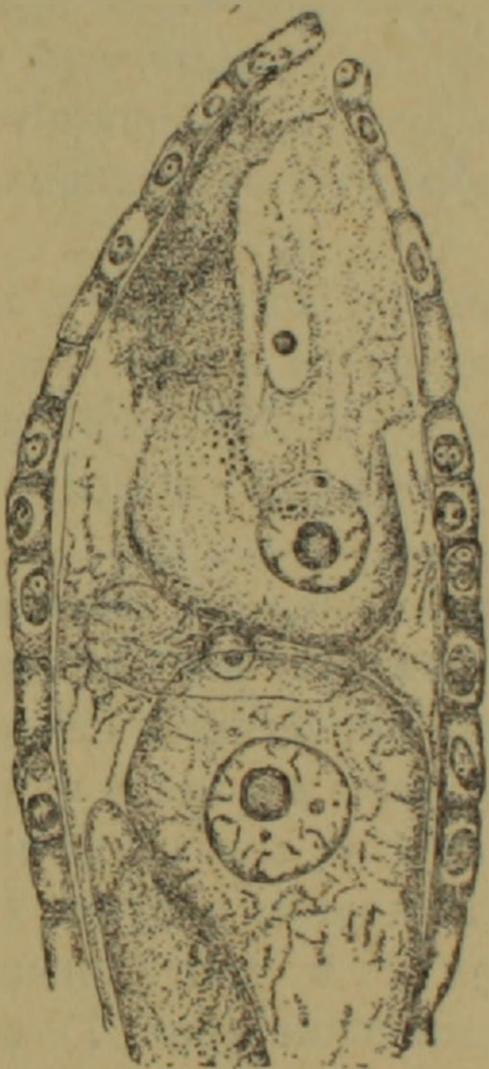


Рис. 3. Зародышевый мешок *Rudbeckia maxima* через 10 мин. после опыления. Пыльцевая трубка только излила свое содержимое в зародышевый мешок, разрушив одну из синергид. Вокруг неразрушенной синергиды видны темно-окрашивающиеся тельца. Окраска гематоксилином.

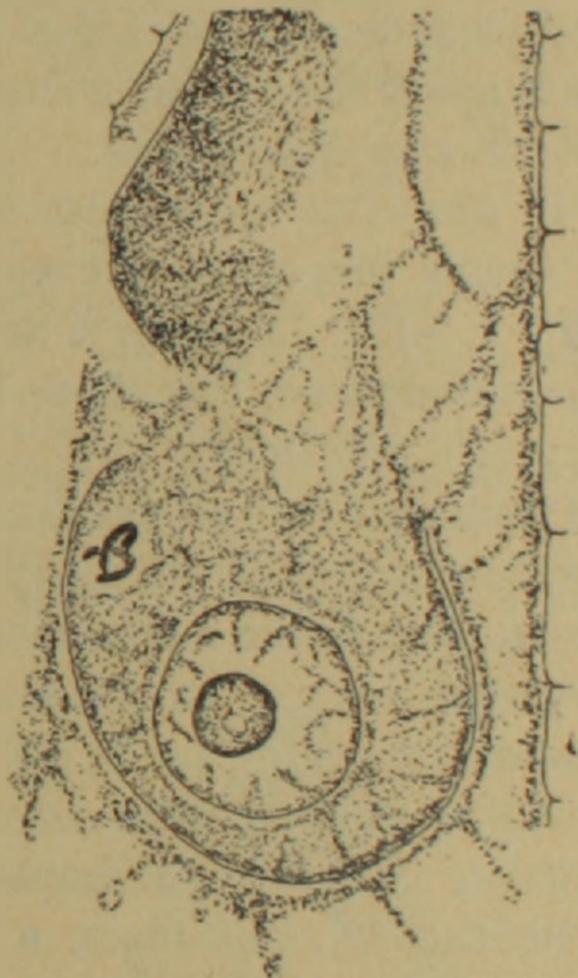


Рис. 4. Яйцеклетка через 30 мин. после опыления. В зоне яйцеклетки одна пара спермиев. Окраска фельген+светло-зеленый.

части расположено ядро гомогенного строения. В халазальной части расположены антиподы, одна из которых, как это представлено на рис. 3, внешне очень похожа на яйцеклетку. Через 30 мин. после опыления пара спермиев находятся в микропиллярной части зародышевого мешка, а иногда они проникают глубже, как это изображено на рис. 4. В данном случае спермии лежат в цитоплазме зародышевого мешка и проектируются над яйцеклеткой. Спермии у рудбекии крупные, не скрюченные,

а вытянутые, с заостренными концами и по всему телу расположены вакуоли.

В семязпочках при излиянии пыльцевой трубки в зародышевый мешок, как уже было указано выше, одна синергида разрушается, а вокруг второй синергиды располагаются темно-окрашивающиеся, как бы стекающие по форме тельца (рис. 3). Происхождение этих телец, описанных у различных растений, как например, у *Phelipaea gamosa* [5], у ржи [6], у *Agachis hypogaea* L. [4], подсолнечника [8] по настоящее время неизвестно.

У *Rudbeckia maxima*, как и у *Agachis hypogaea* L. эти тельца расположены между женскими клетками (рис. 6), в некоторых семязпочках они расположены вокруг яйцеклетки, а также разбросаны в цитоплазме зародышевого мешка.

Эти многочисленные описанные случаи дают основание предположить, что тельца являются продуктом излившейся пыльцевой трубки и ее разрушившегося ядра. Мы более склонны думать, что они к тому же ядерного происхождения, поскольку нами применяемая реакция Фельгена была положительной.

К 40 минутам после опыления у большинства семязпочек в зародышевом мешке встречаются спермии, направляющиеся к женским ядрам, а через 1 ч.—1 ч. 10 минут в зародышевом мешке осуществляется двойное оплодотворение. Рис. 5, 6, 7 показывают различные моменты вышеупомянутого процесса.

На представленных рисунках в одном случае спермий, находящийся в цитоплазме яйцеклетки, а другой имеет лентовидную форму с заостренными концами, более с широким телом, плотно прилегает к центральному ядру (рис. 5), т. е. спермии одной и той же пары в момент приближения к женским ядрам по форме отличаются друг от друга, что является проявлением их биологического состояния. На другом рисунке (рис. 6) в семязпочке на месте растворившегося спермия в центральном ядре образовались три ядрышка, в следующей семязпочке (рис. 7) спермий прилегает к ядру яйцеклетки, а в центральном ядре две крупные ядрышки. Перед оплодотворением ядро яйцеклетки и центральное ядро имеют гомогенное строение и лишены хроматина, который бурно начинает развиваться после слияния женского и мужского начал.

Детальное исследование многочисленных семязпочек показало, что слияние спермия с яйцеклеткой и с центральным ядром зародышевого мешка происходит сравнительно быстро—1 ч. 30 мин., а образование двухклеточного предзародыша протекает в сравнительно длительное время—до 3 час. Обычно у ряда растений зигота проходит более длительный период развития для предшествующего деления, а первичное ядро эндосперма вскоре делится и при наличии определенного количества ядер эндосперма происходит первое деление зиготы.

По этому вопросу имеются многочисленные работы, в которых с точностью указываются при наличии какого количества ядер эндосперма [1, 3, 11, 12, 13] происходит деление зиготы.

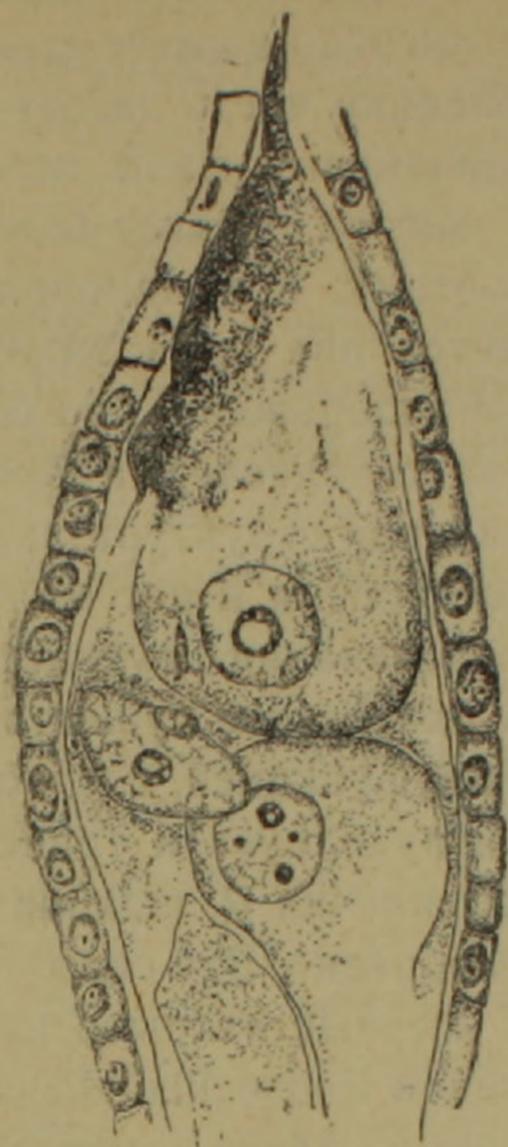


Рис 5. Зародышевый мешок *R. maxima* через 1 ч. 10 м. после опыления. Спермий в цитоплазме яйцеклетки, другой плотно прилегает к центральному ядру. Антиподы с четырьмя ядрышками. Окраска фельген + светло-зеленый.

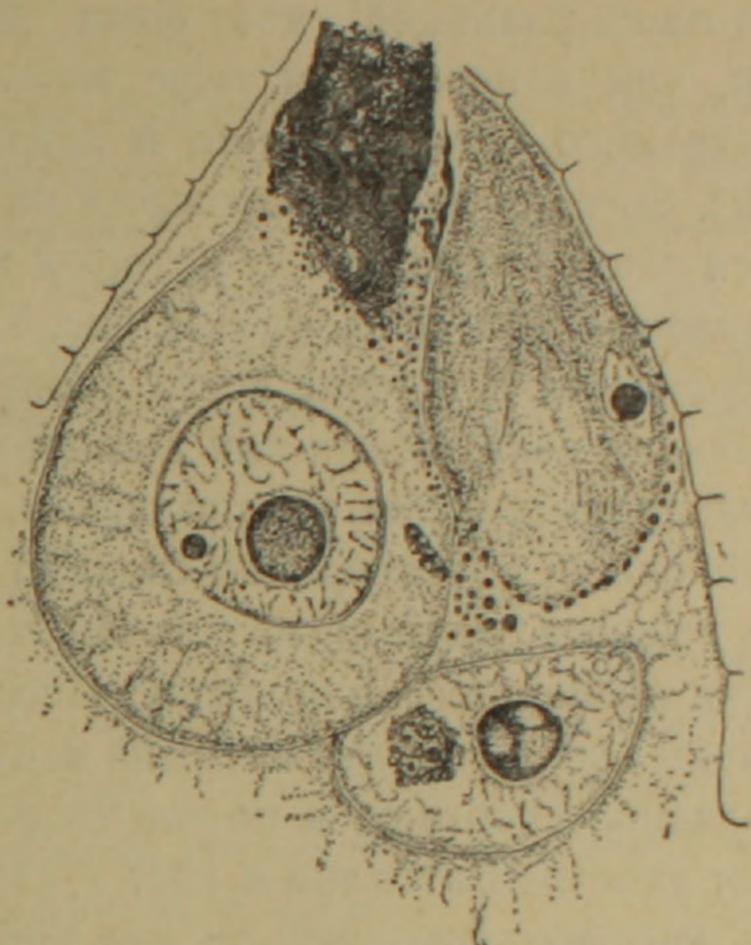


Рис. 6. Верхняя часть зародышевого мешка через 1 ч. 30 мин. после опыления. Большое количество темно окрашивающихся телец вокруг синергиды и в цитоплазме зародышевого мешка. В цитоплазме яйцеклетки лежат вакуолизованные спермий. В центральном ядре в растворившейся массе спермия выделяются три ядрышка. Окраска гематоксилином.

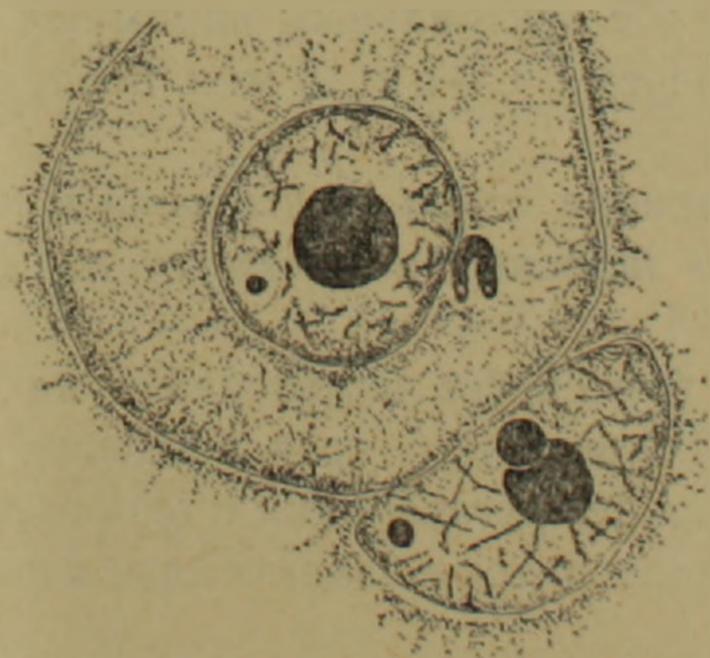


Рис. 7. К ядру яйцеклетки плотно прилегает спермий, а в центральном ядре уже вполне оформившиеся ядрышки. Окраска гематоксилином.

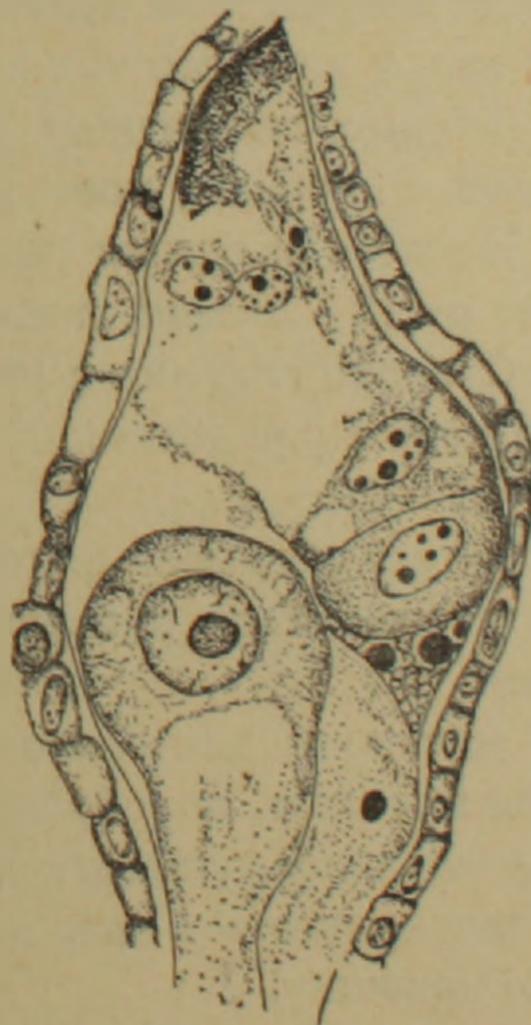


Рис. 8. Зародышевый мешок *R. maxima* через 2 ч. 30 м. после опыления. Двухклеточный предзародыш. Окраска фельген + светло-зеленый.

Иначе протекает процесс деления зиготы и первичного ядра эндосперма у растения, исследованного нами, т. е. зигота не имеет столь длительного покоя, длительной подготовки к делению; часто зигота и первичное ядро эндосперма проходят почти одинаковые фазы деления с той лишь разницей, что фаза деления в зиготе бывает более ранняя, чем в первичном ядре эндосперма. Поэтому, при наличии двухклеточного предзародыша в семяпочке имеется два ядра эндосперма (рис. 8—одно ядро эндосперма на рисунке не изображено), но встречаются такие семяпочки, у которых первичное ядро эндосперма находится в анафазе. Как показано на рис. 8, первоначальная структура антиподы сохраняется в течение всего процесса оплодотворения и нет малейшего признака разрушения или дегенерации при образовании двухклеточного предзародыша. Мы предполагаем, что столь длительное существование антиподы без дегенерации связано с ее основной функцией, т. е. восприятие веществ, идущих из халазы через клетки нуцеллуса и транспортировка последних к зародышу. Исследуемые семяпочки *R. taxa* оригинальны еще и тем, что спермии ведут себя своеобразно. Это своеобразное поведение спермиев в оплодотворении было впервые открыто итальянским ученым Батталия в 1947 г. [14] у двух видов *Rudbeckia*—*R. laciniata* и *R. speciosa*, которому он дал термин семегамии. Автор считает, что в данном случае ядро спермия, проникая в диплоидную яйцеклетку, делится. В результате самостоятельного деления ядер спермия образуется химерный зародыш, у которого большинство клеток диплоидно, а меньшинство—гаплоидно. У *R. taxa* нами также обнаружено явление семегамии. Как видно на представленном рис. 8 в части подвеска зародыша свободно расположены два сферической формы ядра, образующиеся посредством деления ядер спермия, следовательно, *R. taxa* третий вид, у которого так же имеет место явление семегамии. Подытоживая данные, полученные при исследовании процесса оплодотворения семяпочек *R. taxa*, можно прийти к следующим выводам.

1. Процесс излияния пыльцевой трубки в зародышевый мешок происходит от 10—20 мин. после опыления.

2. Слияние спермия с яйцеклеткой и с центральным ядром зародышевого мешка у рудбекии происходит через 1 ч.—1 ч. 10 мин. после опыления.

3. Зигота не имеет длительного периода покоя, подготовки к делению и часто зигота и первичное ядро эндосперма имеют ту же фазу деления.

4. Антиподы длительное время остаются без изменений и не разрушаются вплоть до образования двухклеточного предзародыша. Видимо, длительное существование антипод без дегенерации и одновременное развитие зиготы и ядер эндосперма находятся в взаимосвязи и имеют единую причину.

Ս. Ն. ՄՈՎՍԵՅԱՆ

ԲՆՂՄՆԱՎՈՐՄԱՆ ՊՐՈՑԵՍԸ *RUDBECKIA MAXIMA*-Ի ՄՈՏ

Ա մ փ ո փ ու մ

Rudbeckia-ի վրա կատարված մի շարք աշխատանքներ չեն լուսաբանում սեռական պրոցեսի առանձնահատկությունները: Այնինչ ռուդբեկիան բավականին հարմար օբյեկտ է ցիտո-սաղմնաբանական ուսումնասիրությունների համար: Այդ իսկ պատճառով *R. maxima* ծաղիկները փոշոտել ենք թարմ հավաքված ծաղկափոշիով, որից հետո 3 ժամվա ընթացքում վարսանդները ֆիքսել 10 րոպե ընդմիջումով: Միկրոսկոպիական ուսումնասիրությունները ցույց տվեցին, որ՝

1. Սաղմնապարկի մեջ փոշեծիլի պարունակության ներթափանցման պրոցեսը կատարվում է շատ արագ՝ փոշոտումից 10—20 րոպե անց:
2. *R. maxima*-ի մոտ սպերմայի միաձուլումը ձվաբջջի և սաղմնապարկի երկրորդային կորիզի հետ կատարվում է փոշոտումից 1—1 ժ. 10 րոպե անց:
3. Զիգոտան հանգստի երկարատև շրջան և բաժանման նախապատրաստական ստադիա չի անցնում, որի պատճառով զիգոտան և էնդոսպերմի առաջին կորիզը հաճախ անցնում են նույն բաժանման փուլը:
4. *Rudbeckia*-ի անտիպոզները չեն ավերվում, այլ երկար ժամանակ, նույնիսկ մինչև նոր սաղմի զարգացումը մնում են անփոփոխ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бенецкая Г. К. Изв. АН АрмССР (биол. науки), т. VII, 12, 1954.
2. Герасимова-Навашина Е. Н., Батыгина Т. Б. Бот. журнал, т. 43, 7, 1958.
3. Герасимова-Навашина Е. Н. Морфология и анатомия растений, т. 2, 1951.
4. Герасимова-Навашина Е. Н. Бот. журнал, т. X, IV, 10, 1959.
5. Гургенова М. Сборник им. Навашина. 1928.
6. Ключарева М. В. ДАН СССР, т. 113, 1, 1957.
7. Магешвари П. Эмбриология покрытосеменных, 1954.
8. Мовсесян С. Н. Изв. АН АрмССР (биол. науки), т. XIV, 6, 1961.
9. Мовсесян С. Н. Изв. АН АрмССР (биол. науки), т. XVI, 5, 1963.
10. Навашин С. Г. Избранные труды, т. I, 1951.
11. Навашин С. Г. и Финн В. В. Зап. Киев. общ. естествоиспытателей, т. XXII, вып. 3—4, 1912.
12. Оксюк П. Ф. и Худяк М. И. Ботанический журнал, АН УССР, т. IX, 4, 1952.
13. Устинова Е. И. и Дьякова М. И. Доклады ВАСХНИЛ, 5, 1953.
14. Battaglia E. Nuovo glor. Bot. Ital., S., 54, 1947.
15. Cooper D. C. Bot. Gaz. 97, 1935.
16. Maheshwari G. P. Lloydia, vol. 9, 2, 1946.
17. Maheshwari G. P. and Srinivasan A. R. New. Phytol, 43, 1944.