

М. Г. ОГАНЕСЯН

РОСТ ПЫЛЬЦЕВЫХ ТРУБОК И СПЕРМИОГЕНЕЗ У ТОМАТА

Исследование характера, темпов формирования и морфологии половых клеток имеет большое значение для изучения вопросов, связанных с возникновением новых организмов. Несмотря на это, данные, относящиеся к исследованию мужских половых клеток у томата, очень скудны.

Формирование мужских гамет у томата происходит в пыльцевой трубке. Получение последовательных картин митотического деления генеративного ядра и формирования спермиев в пыльцевой трубке, когда она находится в столбике, затрудняется тем, что при прохождении через ткани столбика она сильно извивается и ее трудно проследить на всем пути от рыльца к завязи.

Некоторыми исследователями [22] для тотального изучения пыльцевых трубок предложен метод извлечения их из столбика. Однако для томата этот метод неприменим из-за отсутствия специального канала в столбике для прохождения пыльцевых трубок и невозможности выделения их из столбика. С целью получения по возможности более полных данных о делении генеративного ядра, о развитии, поведении и строении спермиев нами использовался метод проращивания пыльцы на искусственной питательной среде.

Исследовалась пыльца сорта Талалихин 186.

Методика. В качестве искусственной питательной среды использовалась смесь из 20% сахарозы, 0,001% борной кислоты и 1% агар-агара в дистиллированной воде. Для исследования использовалась свежесобранная пыльца цветков растений, выращенных в полевых условиях. Посев производился по утрам в капле питательной среды, нанесенной на предметное стекло. После посева предметные стекла помещались в чашки Петри, покрытые изнутри влажной фильтровальной бумагой.

Пыльцевые трубки фиксировались смесью Карнуа (3 части спирта + 1 часть ледяной уксусной кислоты) методом темпоральной фиксации через 25, 30 мин. и каждый час после фиксации в течение 9 час. Для просветления пыльцевых трубок применялся водный раствор хлоралгидрата (5 частей хлоралгидрата + 2 части воды). Обычно применяли метод одновременной фиксации и просветления смесью из равных частей фиксатора и готового для просветления хлоралгидрата. Препараты окрашивались ацетокармином, гематоксилином по Деляфильду, генцианвиолетом по Ньютону. Лучшие результаты получились при окраске по Деляфильду. После окраски материал промывался 96° спиртом и заключался в глицерин. Вся обработка материала проводилась прямо на предметном стекле—растворы на объект наносились пипеткой и удалялись фильтро-

вальной бумагой. При окантовке краев покровных стекол парафином препараты можно сохранять довольно долгое время.

Просмотр препаратов проводился при помощи объектива с масляной иммерсией. Зарисовки сделаны рисовальным аппаратом РА-4.

Опыты проводились в лабораторных условиях при температуре 26—28°.

Результаты исследований и обсуждение. Пыльцевые зерна, попадая на поверхность питательной среды, набухают и через 25—30 мин. прорастают. Из одной поры в виде маленького выроста выходит пыльцевая трубка. Как правило, каждая пылинка дает одну трубку, но наблюдались случаи образования двух пыльцевых трубок, что встречается и у других растений [17, 10].

При исследовании было замечено лучшее прорастание пыльцы и рост пыльцевых трубок по периферии питательной среды, а также центробежное направление пыльцевых трубок. Подобные явления при проращивании пыльцы на искусственной питательной среде наблюдали Руденко и Чубирко [14, 20] у ряда представителей покрытосеменных растений. Предполагается, что причиной этого являются более благоприятные условия кислородного обмена на периферии питательной среды.

В процессе исследования выяснилось, что пыльцевые трубки лучше растут, если посев производится в капле раствора сахарозы и борной кислоты, нанесенной на агаровую среду после ее остывания. Концентрация сахарозы и борной кислоты в воде та же, что и в агаровой смеси. По-видимому, это происходит вследствие того, что густая консистенция агара затрудняет рост нежных пыльцевых трубок томата на начальных этапах развития. В дальнейшем растущие пыльцевые трубки легко внедряются в агаровую смесь и при последующей обработке препарата не подвергаются смыванию.

Массовое прорастание пыльцы наблюдается через 45—50 мин. после посева.

В прорастающем пыльцевом зерне меняется расположение генеративной клетки: она постепенно приближается к той поре, откуда выходит пыльцевая трубка и приблизительно через час после посева пыльцы проникает в трубку.

Генеративное ядро в пыльцевой трубке имеет удлинненную форму и окружено тонким слоем бесцветной генеративной плазмы (рис. 1).

По данным некоторых исследователей [23], у представителей *Crotalaria* наиболее высокие темпы роста пыльцевых трубок наблюдаются в середине периода их роста. В наших опытах с проращиванием пыльцы томата наблюдается такая же закономерность. Через час после посева длина пыльцевых трубок составляет 2,5—3,8 мик., а к четырем часам—120—130 мик. В течение последующих трех часов происходит замедление темпов их роста.

По мере роста пыльцевой трубки в ней наблюдаются изменения: вегетативная плазма постепенно вакуолизируется и начинает отставать от стенок, генеративная клетка из центральной части пыльцевой трубки

перемещается ближе к кончику и располагается на некотором расстоянии от него.

Замедление темпов роста пыльцевых трубок совпадает с началом деления генеративного ядра, которое наступает через 4,5—5 час. после посева пыльцы. К этому времени генеративное ядро принимает более округлую форму и приступает к делению (рис. 2). В начале профазы беспорядочно разбросанные хромосомы располагаются в метафазе в два параллельных ряда. В метафазе ясно просматриваются доходящие до полюсов нити веретена (рис. 3), которые на следующих стадиях деления больше не просматриваются.

Вопрос формирования ядерной пластинки и веретена при делении генеративного ядра спорный. У ряда представителей покрытосеменных растений *Vinca minor* и *V. herbaceae* [24], *Scirpus lacustris* [7], *Portulaca oleraceae* и *L. regale* [21, 22], *Drosera* [18], [6], фисташки [1], ясеня обыкновенного [2], уссурийской груши [5]—наличие их не вызывает сомнения.

При исследовании же некоторых представителей *Scrophulariaceae* [13], *Lilium* [25, 26], *Crepis* [3, 4], *Delphinium* [19], *Impatiens* [27] ахроматиновое веретено и ядерная пластинка не были обнаружены. На основании своих исследований О'Мара [26] заключает, что деление генеративного ядра у *L. regale* совершенно нормальное, хотя проходит без образования экваториальной пластинки и веретена, и что последние не являются обязательными при митозе.

Возможно, причины того, что некоторым исследователям не удалось наблюдать формирование веретена, заключаются в методических особенностях их работы. Так, на одном и том же объекте—у *L. regale*, разными исследователями [22, 25, 26] были получены противоположные результаты относительно наличия веретена. Герасимова-Навашина [4] предполагает, что отсутствие веретена при делении генеративной клетки в пыльцевой трубке связано с сильным израсходованием генеративной цитоплазмы на жизнедеятельность делящейся генеративной клетки.

В ранних работах Руденко [28] высказал предположение, что у растений с двухъядерной пыльцой генеративная клетка не образует ясных нитей веретена; в то время как у растений с трехъядерной пыльцой образуются хорошо выраженные нити веретена и типичная экваториальная пластинка. Однако более поздние работы ряда исследователей [5, 20, 22] свидетельствуют об отсутствии какой-либо связи между типом пыльцевого зерна и характером деления генеративного ядра. Наблюдаемые нами картины образования веретена и ядерной пластинки при делении генеративного ядра в пыльцевой трубке томата совпадают с исследованиями этих авторов.

Метафаза, а также анафаза (рис. 4) протекают быстро, о чем свидетельствует редкая их встречаемость. Сравнительно дольше протекает телофаза. Группы хромосом в телофазе окружаются тонкой оболочкой, формируя ядра спермиев (рис. 5). Своими размерами они вначале почти равны профатическому ядру генеративной клетки. По мере развития

постепенно они уменьшаются, суживаются (рис. 6, 7). В пределах одной пыльцевой трубки оба ядра развиваются синхронно.

Сравнительно зрелые мужские гаметы в пыльцевых трубках томата наблюдаются через 6—6,5 час. после посева пыльцы (рис. 8). Они имеют удлинненную форму, расположены друг за другом на расстоянии 2—3 мик. и находятся в кончике пыльцевой трубки, в 6—7 мик. от ее конца. Такое расположение объясняется особенностями обмена в кончике пыльцевой трубки. По данным Поддубной-Арнольди, Цингер, Петровской, Полуниной [11], для кончика пыльцевой трубки многих покрытосеменных

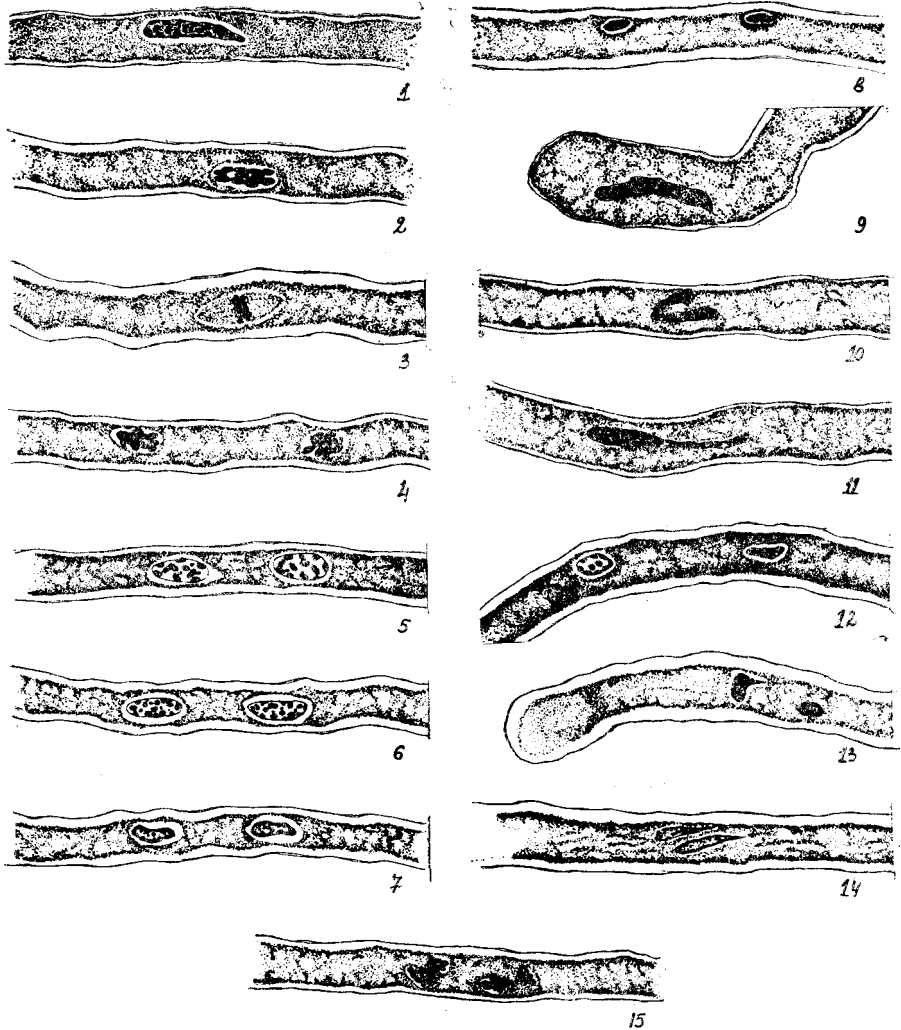


Рис. 1. Генеративная клетка до деления. Рис. 2. Профаза. Рис. 3. Метафаза; четко видны нити веретена. Рис. 4. Анафаза. Рис. 5—7. Спермиоциты. Рис. 8. Оформленные спермии. Рис. 9. Пыльцевая трубка с вздутым кончиком и увеличенным генеративным ядром. Рис. 10. Изогнутое генеративное ядро. Рис. 11. Генеративное ядро с „хвостом“. Рис. 12. Асинхронно развитые спермии. Рис. 13. Спермии необычной формы. Рис. 14. Расположенные рядом длинные спермии. Рис. 15. Четыре группы хромосом после деления генеративного ядра.

характерна повышенная физиологическая активность. Кончик богат ферментами, физиологически активными и пластическими веществами; в нем сосредоточена максимальная напряженность процессов жизнедеятельности пыльцевой трубки. По-видимому, физиологические процессы, протекающие здесь с такой интенсивностью, не только обслуживают ростовые потребности трубки, но связаны и с жизнедеятельностью спермиев.

Весь ход формирования спермиев у томата протекает в течение 2—2,5 час.

Через 6,5—7 час. после посева пыльцы стенки пыльцевых трубок утолщаются, с внутренней стороны на них появляются наросты, которые, часто соединяясь, образуют «пробки», прерывающие ток плазмы в пыльцевой трубке.

Утолщение стенок пыльцевой трубки и образование в них «пробок» наблюдались также у других культур [5, 8, 12, 16]. Согласно исследованиям Поддубной-Арнольди [8], эти «пробки» играют механическую роль и, вероятно, прерывают движение питательных веществ по всей длине пыльцевой трубки, способствуя их наполнению в ее кончике. «Пробки» состоят из такого же вещества, что и оболочка пыльцевой трубки, и дают положительную реакцию на пектин и целлюлозу. Утолщенные стенки и «пробки» пыльцевых трубок мешают исследованию, вследствие чего следить за дальнейшей судьбой мужских гамет у томата через 6,5—7 час. после посева и дальше становится невозможным.

Наряду с описанными картинками нормального развития спермиев в пыльцевой трубке томата обнаружены различные отклонения. К ним относятся, например, образование вздутий на концах пыльцевых трубок и увеличение генеративного ядра в них (рис. 9). Встречаются трубки с изогнутыми, искривленными генеративными ядрами (рис. 10). Иногда генеративное ядро состоит из двух частей—основного тела и длинного «хвоста» (рис. 11). В некоторых трубках наблюдалось асинхронное развитие спермиев (рис. 12). Иногда вследствие ненормального развития спермии приобретали необычную форму и отличались друг от друга (рис. 13). Были случаи, когда формировались очень длинные спермии с заостренным концом и располагались в пыльцевой трубке рядом друг с другом (рис. 14). В одном случае генеративное ядро претерпело, по-видимому, два деления вместо обычного одного, вследствие чего в пыльцевой трубке образовались четыре группы хромосом, которые, по всей вероятности, являются началом формирования четырех спермиев (рис. 15). Образование более чем одного спермия в одной пыльцевой трубке отмечалось также у других представителей покрытосеменных растений [9].

Во время исследования нам ни разу не удалось наблюдать вегетативное ядро, вследствие чего поведение и судьба его при спермиогенезе у томата остаются для нас невыясненными.

В ы в о д ы

1. Пыльца томата на искусственной питательной среде в лабораторных условиях прорастает через 25—30 мин. после посева. Массовое прорастание наблюдается через 40—50 мин.

2. Генеративная клетка проникает в пыльцевую трубку через час после посева пыльцы.

3. Деление генеративного ядра наступает через 4,5—5 час. после посева пыльцы.

4. При делении генеративного ядра образуется четко выраженное метафатическое веретено.

5. Развитие спермиев протекает синхронно. Весь ход их формирования совершается в течение 2—2,5 час. после начала деления генеративной клетки.

6. Спермии располагаются в кончике пыльцевой трубки.

7. Через 6,5—7 час. после посева пыльцы в пыльцевых трубках образуются «пробки».

Армянский институт земледелия,
отдела генетики растений

Посупило 8.VI 1957 г.

Մ. Ն. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ

ՓՈՇԵԽՈՂՈՎԱԿՆԵՐԻ ԱՃՂ ԵՎ ՍՊԵՐՄԻՈԳԵՆԵԶԸ ՏՈՄԱՏԻ ՄՈՏ

Ա մ փ ո փ ու մ

Ուսումնասիրվել են արհեստական սննդամիջավայրում աճեցված փոշեխոտողովակների աճման տեմպերը, արական դամետների առաջացման բնույթը, նրանց մորֆոլոգիական կառուցվածքը:

Տոմատի փոշեհատիկներն արհեստական սննդամիջավայրում ծլում են ցանքից 25—30 րոպե հետո: Մասսայական ծլումը նկատվում է ցանքից 40—50 րոպե հետո: Յանքից 1 ժամ անց գեներատիվ բջիջը փոշեհատիկից անցնում է փոշեխոտողակի մեջ: Գեներատիվ բջիջը սկսում է բաժանվել ցանքից 4,5—5 ժամ հետո: Բաժանման ժամանակ առաջանում է պարզորոշ արտահայտված մետաֆազային իլիկ:

Տոմատի արական դամետների կազմավորման ամբողջ ընթացքը տևում է 2—2,5 ժամ: Արական դամետները երկարավուն են, գտնվում են միմյանցից 2—2,5 միկ. հեռավորության վրա և տեղավորված են փոշեխոտողակի ծայրում: Արական դամետների առաջացումը միևնույն փոշեխոտողակում կատարվում է սինխրոն ձևով:

Փոշու ցանքից 6,5—7 ժամ հետո փոշեխոտողակներում առաջանում են «խցաններ», որոնք փոշեխոտողակները դարձնում են անթափանց և խանգարում արական դամետների հետագա ուսումնասիրությունը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бочанцева З. П. Бюлл. Моск. об-ва испыт. природы, отд. биол., нов. серия, т. 50, вып. 3—4, 1945.
2. Вальцова О. В. Вестн. Моск. гос. ун-та. Биол. и почвовед., 3, 1953.
3. Герасимова-Навашина Е. Н. ДАН СССР, т. 56, 6, 1947.
4. Герасимова-Навашина Е. Н. Тр. Бот. ин-та им. Комарова (морфолог. и анатомия раст.), вып. 2, сер. 7, 1951.
5. Гревцова Н. А. Научн. докл. высш. школы, биол. науки, 2, 1962.
6. Кострикова Л. Н. Научн. докл. высш. школы, биол. науки, 2, 1959.
7. Кострюкова К. Ю. Вісн. Київськ. бот. саду, вип. XI, 1930.
8. Поддубная-Арнольди В. А. Тр. Глав. бот. сада АН СССР, т. 6, 1959.
9. Поддубная-Арнольди В. А. Общая эмбриология покрытосем. растений, М., 1964.
10. Поддубная-Арнольди В. А., Пашенко З. П. Морфология кукурузы, Изд. Моск. гос. ун-та, 1962.
11. Поддубная-Арнольди В. А., Цингер Н. В., Петровская Т. П., Полунина Н. Н. Тр. Глав. бот. сада АН СССР, т. 8, 1961.
12. Полунина Н. Н. Тр. Глав. бот. сада АН СССР, т. 6, 1959.
13. Руденко Ф. Е. Вісн. Київськ. бот. саду, 9, 1929.
14. Руденко Ф. Е. Научн. зап. Ужгородск. ун-та, 17 (ботаника), 1956.
15. Руденко Ф. Е. Тр. Глав. бот. сада АН СССР, вып. 42, 1962.
16. Руми В. А. Узбекск. биол. журн., 4, 1964.
17. Солнцева М. П. Бот. журн., т. 46, 3, 1956.
18. Транковский Д. А. Бюлл. Моск. об-ва испыт. природы, отд. биол., т. 47, вып. 1, 1938.
19. Транковский Д. А. Бюлл. Моск. об-ва испыт. природы, отд. биол., т. 48, вып. 5—6, 1939.
20. Чубирко М. М. Бот. журн., 50, 11, 1965.
21. Cooper D. C. Am. Journ. Bot., 22, 4, 1935.
22. Cooper D. C. Bot. Gaz., 98, 1936.
23. Datta R. M., Neogy A. K. Acta Biol. Hung., 16 (1), 1965.
24. Finn W. W. Berichte der Deut. Bot. Ges., Bd. 46, Heft. 4, 1928.
25. Zewils E., Anderson. Am. Journ. Bot., 26, 9, 1939.
26. O'Mara. Bot. Gaz., 94, 1933.
27. Raghavan T. S., Wulff H. D. Venkatasubban K. R., Cytologia 9, 4, 1939.
28. Руденко Ф. Е. Вісн. Київськ. бот. саду, вип. XI, 1930.