

Д. П. ЧОЛАХЯН, А. Х. ДАНИЕЛЯН, Г. Е. САМВЕЛЯН

О ЖЕНСКОМ ГАМЕТОФИТЕ И ЦИТОЭМБРИОЛОГИИ
ПРОЦЕССА ОПЛОДОТВОРЕНИЯ *CERASUS*
AVIUM (L.) MOENCH.

Прослежены отклонения на начальных этапах образования генеративной сферы у черешни. При мегагаметогенезе отмечено увеличение количества ядер, которые в зародышевом мешке бывают собраны в различные группировки. Установлено, что процесс оплодотворения не у всех сортов протекает нормально. Выявлен ряд отклонений в процессе оплодотворения — отсутствие его, вследствие дефективности яйцевого аппарата, инертность полярных ядер и т. д., что, видимо, объясняется нарушением генетического аппарата.

Вопросы, связанные с биологическими и агробιοлогическими свойствами различных сортов вида *Cerasus avium* (L.) Moench, в условиях АрмССР изучены достаточно подробно. Имеются данные о распространении и свойствах черешен в условиях Зангезура [8], окрестностей Еревана [11], а также Аштаракского района [12]. Исследованы биологические особенности местных сортов черешен в условиях Сисианского района [1—3]. Интересны агробιοлогическая характеристика и сведения о биологических особенностях различных сортов черешен в условиях Араратской равнины АрмССР [6, 7].

Однако цитοэмбриοлогические работы по черешням Армении отсутствуют. В литературе имеются данные о женской генеративной сфере и стерильности яйцеклетки черешни [15, 16], об эмбриοлогических особенностях гибридов черемухи японской и черешни [9], а также ряд данных по морфогенезу и эмбриональному развитию черешни [5, 13].

Цель настоящей работы заключалась в выяснении ряда вопросов, относящихся к развитию женского гаметофита, дифференциации клеток зародышевого мешка и цитοэмбриοлогии процесса оплодотворения черешни. Исследовались также отклонения на начальных этапах образования женской генеративной сферы, приводящие к стерильности растений.

Материал и методика. Наши исследования проводились в 1961—74 гг. в условиях лижного пояса предгорной зоны АрмССР на сортах Дрогана желтая, Приусадебная, Наполеон черный, Ленинградская ранняя и Ялтинская *Cerasus avium* (L.) Moench. Бутоны и цветки фиксировались на различных стадиях развития на Паракарской базе НИИВВиП АрмССР и на биостанции биологического факультета ЕрГУ. Цитсэмбриοлогическая часть работы проводилась на кафедре генетики и цитологии биологического факультета ЕрГУ.

Материал фиксировался в растворе Навашина, обработка проводилась по общепринятой цитοлогической методике. Срезы изготавливались толщиной 16—18 мк и окрашивались железным гематоксилином по Гайденгайну, реактивом Фельгена-Шифа

с подкраской плазменных элементов светлым зеленым. Зарисовки делались рисовальным аппаратом РА-4 на микроскопе МБИ-3.

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что несмотря на то, что заложение семечек и образование первичных тканей у черешни в условиях АрмССР происходит в осенний период, развитие женского гаметофита происходит гораздо позднее, во время их бутонизации перед раскрытием цветков [5, 6]. Нами не прослеживались отдельные моменты редукционного деления женского археспория, однако были выявлены отклонения в процессе формирования женского гаметофита.

Для рода *Cerasus* Juss характерен тот факт, что в тетраде мегаспор активной является лишь одна, а именно халазальная мегаспора. Все остальные три дегенерируют довольно быстро и в период гаметогенеза и позже в верхней части зародышевого мешка сохраняются их остатки (табл. 1, рис. 2, 6, 7; табл. 2, рис. 3). В период гаметогенеза у черешни нами не отмечено особых различий по сравнению с другими растениями, имеющими моноспорический 8-ядерный зародышевый мешок, образующийся по типу Polygonum. В основном мегагаметогенез у них протекает нормально, сохраняется двуполюсность и формируется восьмиядерный зародышевый мешок (табл. 1, рис. 4, 9; табл. 2, рис. 6).

У представителей вида *Cerasus avium* (L.) Moench зародышевый мешок голый, не имеет париетального слоя, как и у всех видов подсемейства Prunoideae, он непосредственно окружен клетками нуцеллуса, разрушенные остатки которых увеличиваются с ростом зародышевого мешка (табл. 1, рис. 1, 2, 4, 7; табл. 2, рис. 1, 2, 3, 5, 7, 8; табл. 4, рис. 1). Зародышевый мешок у них находится под эпидермальными клетками нуцеллуса, непосредственно под микропиле: форма и расположение его подвергаются ряду изменений с дифференциацией элементов. На ранних стадиях зародышевый мешок маленьких размеров и округло-удлиненной формы. Постепенно он увеличивается и, удлиняясь, достигает халазальной части семечки, что связано не с сортовыми особенностями, а с развитием женского гаметофита. Одновременно происходит также растворение и дегенерация окружающих его клеток нуцеллуса, за счет которого увеличивается место для растущего зародышевого мешка.

Известно, что некоторые сорта черешен, особенно раннеспелые, плохо плодоносят. Часто они обильно цветут, однако плодообразование нарушается. Возникает вопрос, почему и на каком этапе развития происходит отклонение от нормального процесса? Происходит ли это при мегагаметогенезе или позже.

Нарушение развития женского гаметофита наблюдалось у гибрида *Radus* МааниХсмесь северных черешен, у которого были обнаружены дегенерирующие молодые зародышевые мешки, не достигшие полного развития. Это часто происходит одновременно в двух семечках завязи. Иногда, даже когда нуцеллус превращается в узкий тяж ткани, соприкасающийся с отмирающим интегументом, у халазального конца

семеночки обнаруживаются немногочисленные ядра зародышевого мешка [10].

Черешня сорта Ялтинская [6] ежегодно обильно цветет, но плодобразование происходит плохо, образуется незначительное количество плодов. Изучение этого явления показало, что ее цветки, хотя внешне нормальные, однако женская генеративная сфера повреждается на начальной стадии своего развития. Дегенерируют либо халазальная мегаспора, либо зародышевые мешки на ранних стадиях своего развития.

Нами отмечено интересное явление: если у сортов Хосровени и Нахичевани *Armeniaca vulgaris* Lam. [18] в отдельные годы даже у 80—95% исследованных семечек отсутствуют археспоральные клетки, то у сортов *Cerasus avium* (L.) Moench переход нуцеллярных клеток в новую фазу и превращение клеток спорофита в гаметофит в основном происходит нормально, а отмеченные отклонения наблюдаются на последующих стадиях развития, особенно при формировании восьмиядерного зародышевого мешка. Процесс мегagamетогенеза либо завершается на четырехъядерной стадии развития зародышевого мешка, особенно у сортов Ялтинская и Ленинградская, либо позже происходит ряд отклонений от нормы почти у всех изучаемых сортов (табл. 1, рис. 5, 6, 7, 8; табл. 2, рис. 3, 5, 8, 9). Особенно часто наблюдалось увеличение количества ядер зародышевого мешка, происходящее по разным причинам. В отдельных случаях после образования восьми ядер продолжалось деление, в результате чего количество их доходило до 10—22. Видимо, в этом случае в формировании женского гаметофита участвовало больше одной мегаспоры (табл. 1, рис. 5, 8; табл. 2, рис. 5, 9). Обычно как в первом, так и во втором случае зародышевые мешки с увеличенным количеством ядер не продолжали развития, вследствие чего не происходило дифференциации этих ядер (табл. 1, рис. 5, 7; табл. 2, рис. 3) и даже нарушалась их полярность (табл. 2, рис. 3, 8). Дополнительные ядра бывали собраны в различные группировки: на полюсах (табл. 1, рис. 5), только в антиподальной части (табл. 1, рис. 8; табл. 2, рис. 4, 5, 9) или в центре—среди полярных ядер (табл. 1, рис. 6, 7; табл. 2, рис. 9).

У нормально развитого зародышевого мешка черешни яйцевой аппарат хорошо развит (табл. 1, рис. 9; табл. 2, рис. 4; табл. 3, рис. 1; табл. 4, рис. 1). Яйцеклетка крупная, удлиненно-округлой формы. Образование дополнительных яйцеклеток в течение 13 лет исследований нами не было отмечено.

Синергиды у черешни крупные, расположены по обе стороны яйцеклетки (табл. 1, рис. 9; табл. 2, рис. 4; табл. 3, рис. 1; табл. 4, рис. 1). В некоторых случаях хорошо выражены их крючковидные отростки (табл. 3, рис. 1). Нитчатый аппарат синергид до проникновения пылевой трубки в зародышевый мешок нами не обнаружен. В отдельных случаях у сорта Приусадебная они хорошо просматривались в момент оплодотворения (табл. 4, рис. 3).

Полярные ядра у черешни крупные, при нормальном развитии зародышевого мешка их всего два и в основном, ни по форме, ни по окрашиваемости они не отличаются друг от друга. Однако в отдельных случа-

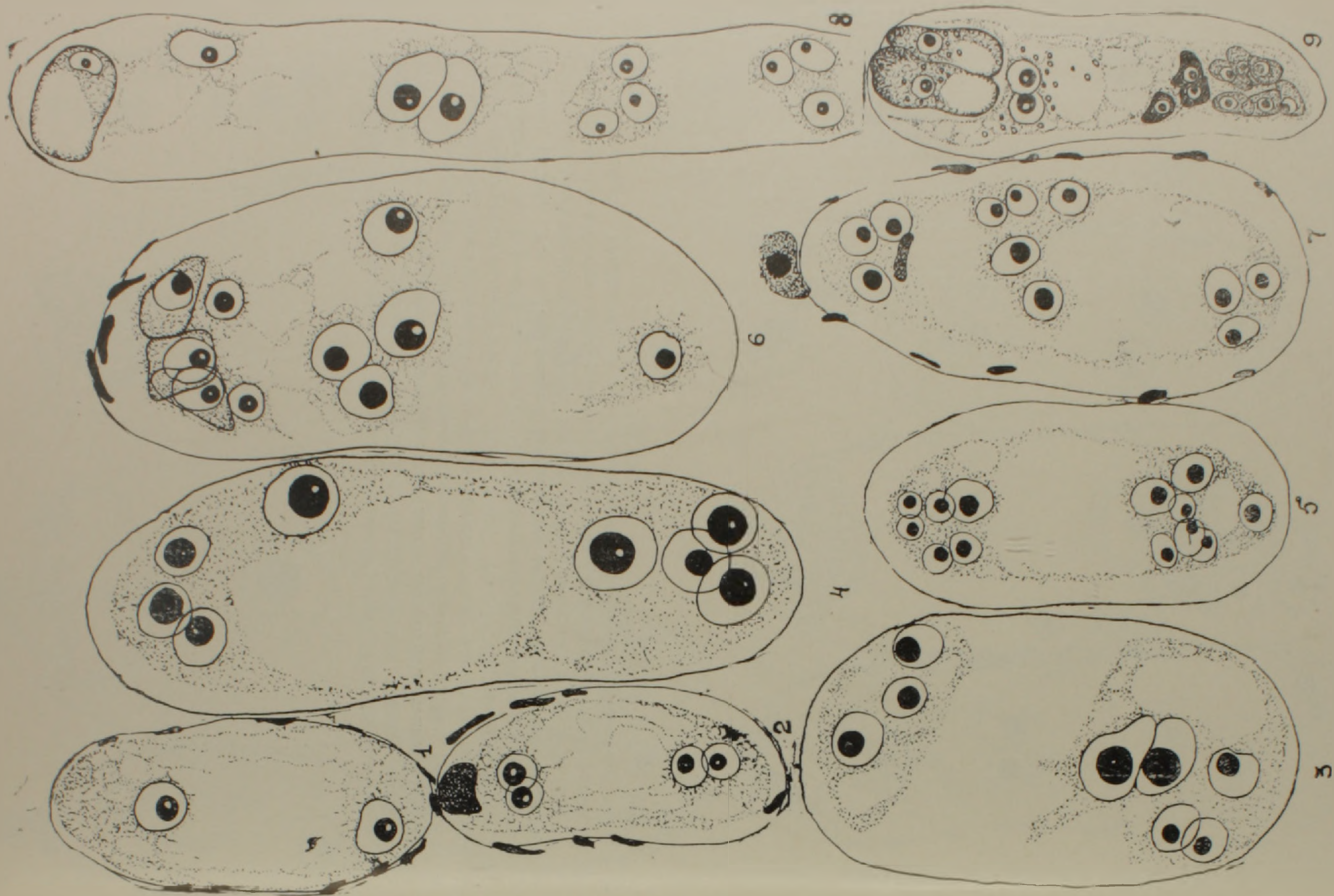


Табл. 1. Различные стадии развития зародышевого мешка у сорта Приусадебная. Рис. 1. Двухъядерная стадия развития (X360). Рис. 2. Четырехъядерная стадия развития (X300). Рис. 3. Восьмиядерный недифференцированный зародышевый мешок (X630). Рис. 4. Восьмиядерный недифференцированный зародышевый мешок (X280). Рис. 5, 6. Нарушенный зародышевый мешок: увеличено количество ядер, нарушена полярность, не произошла дифференциация клеток (X280, X450). Рис. 7. Нарушенный зародышевый мешок: нет дифференциации ядер. Дополнительные ядра собраны в центральной части (X280). Рис. 8. Удлиненный зародышевый мешок с нарушенным яйцевым аппаратом и увеличенным количеством ядер в антиподальной части (X300). Рис. 9. Дифференцированный зародышевый мешок с крупными удлиненными синергидами, с тремя треугольными антиподами и дополнительными ядрами в халазальной части (X200).

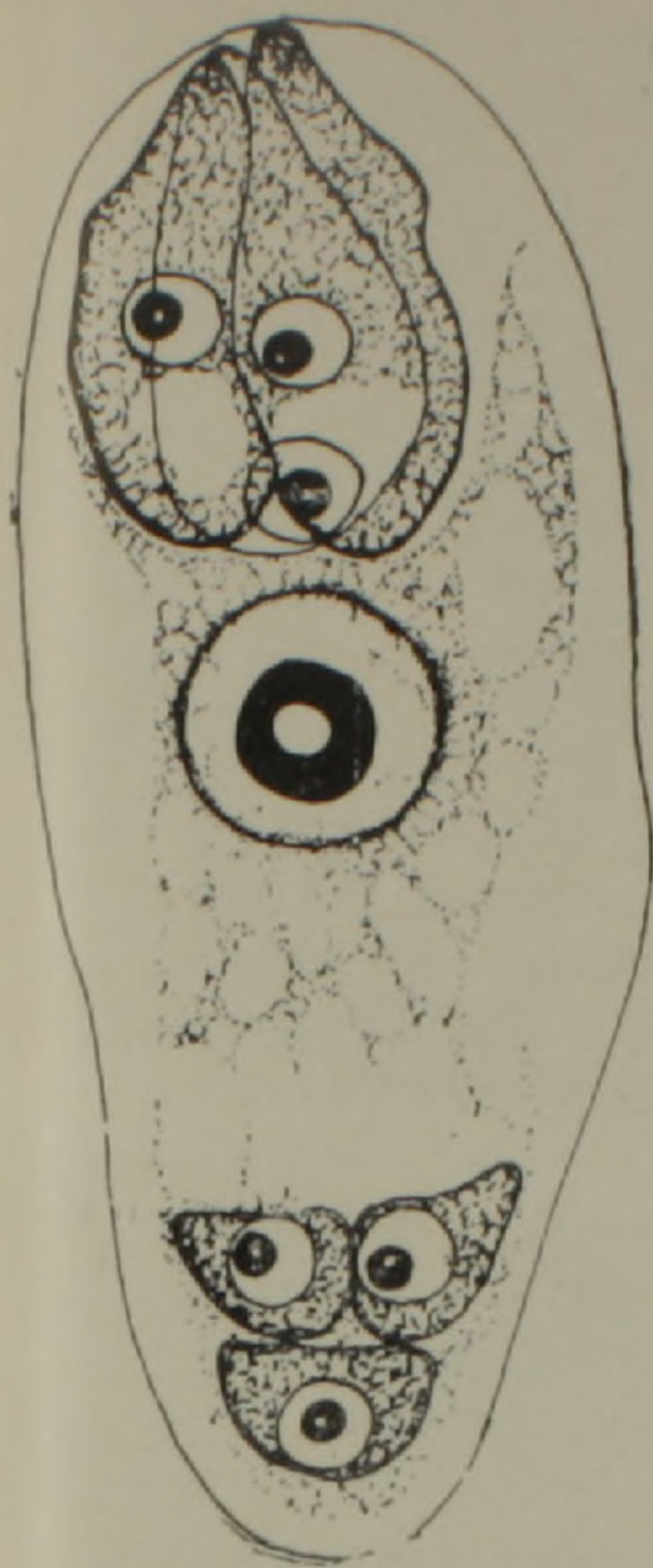


Табл. 2. Различные стадии развития зародышевого мешка у сорта Дрогана желтая.

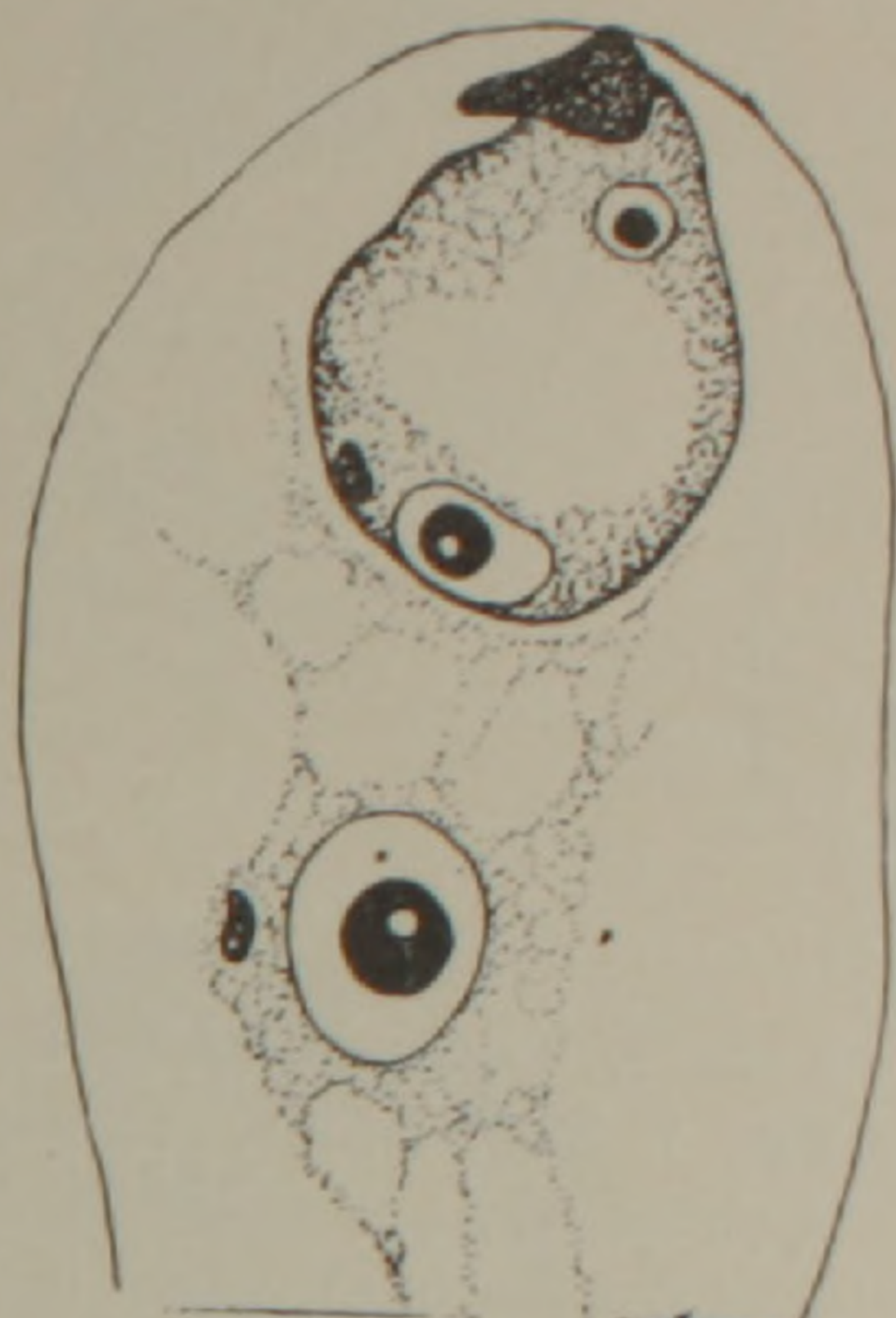
Рис. 1. Двухъядерная стадия развития (X360). Видны остатки разрушенных мегаспор.

Рис. 2. Четырехъядерная стадия развития (X360). Рис. 3. Восьмиядерный недифференцированный зародышевый мешок с нарушенной полярностью ядер (X360). Рис. 4. Дифференцированный зародышевый мешок с дополнительными антиподами (X300).

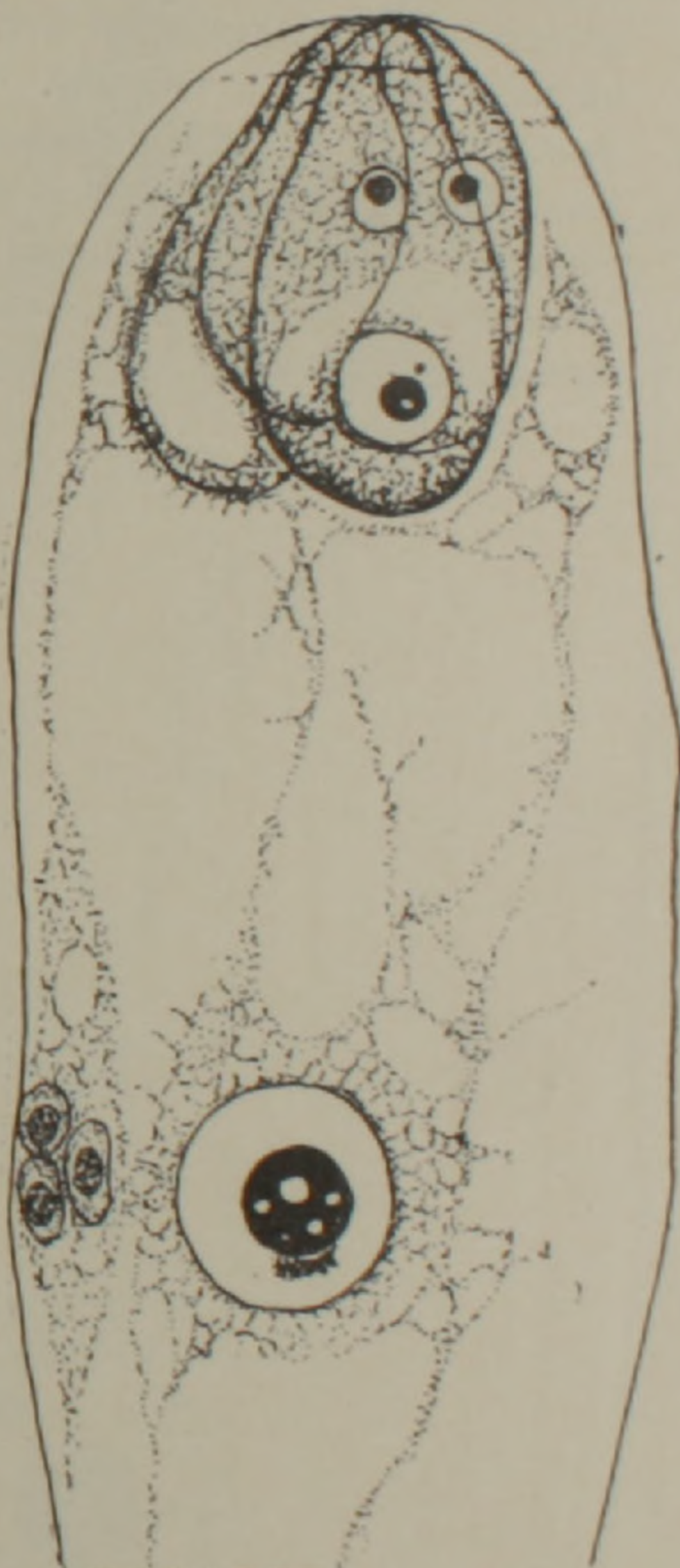
Рис. 5. Зародышевый мешок с увеличенным количеством ядер в антиподальной части (X450). Рис. 6. Дифференцированный зародышевый мешок, где происходит разрушение антипод (X300). Рис. 7. Восьмиядерная стадия развития зародышевого мешка, где нарушен процесс дифференциации (X360). 8. Восьмиядерная стадия развития с нарушенной полярностью ядер (X450). Рис. 9. Нарушенный зародышевый мешок: синергид нет, количество полярных ядер и антипод увеличено (X450).



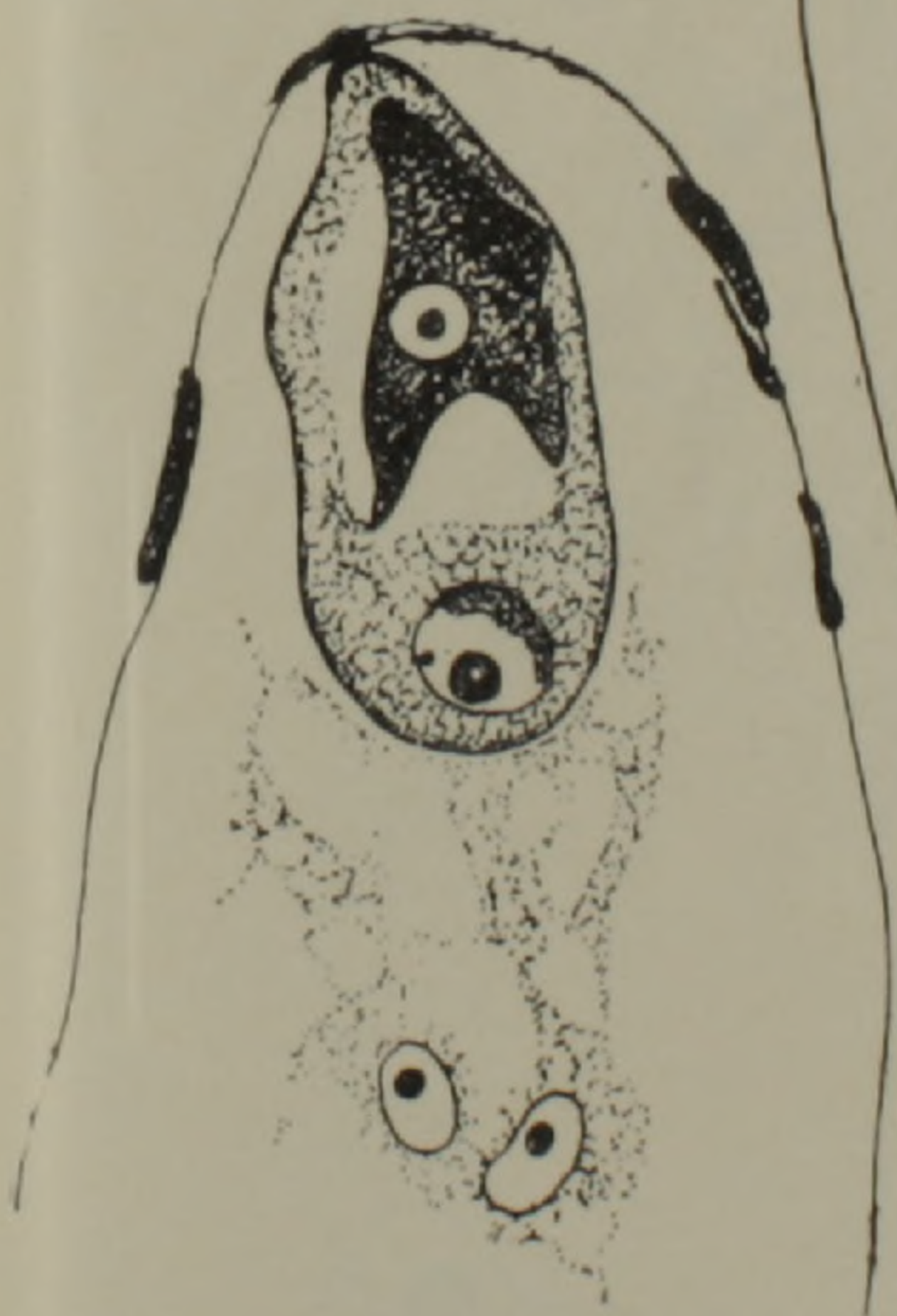
1



4



5



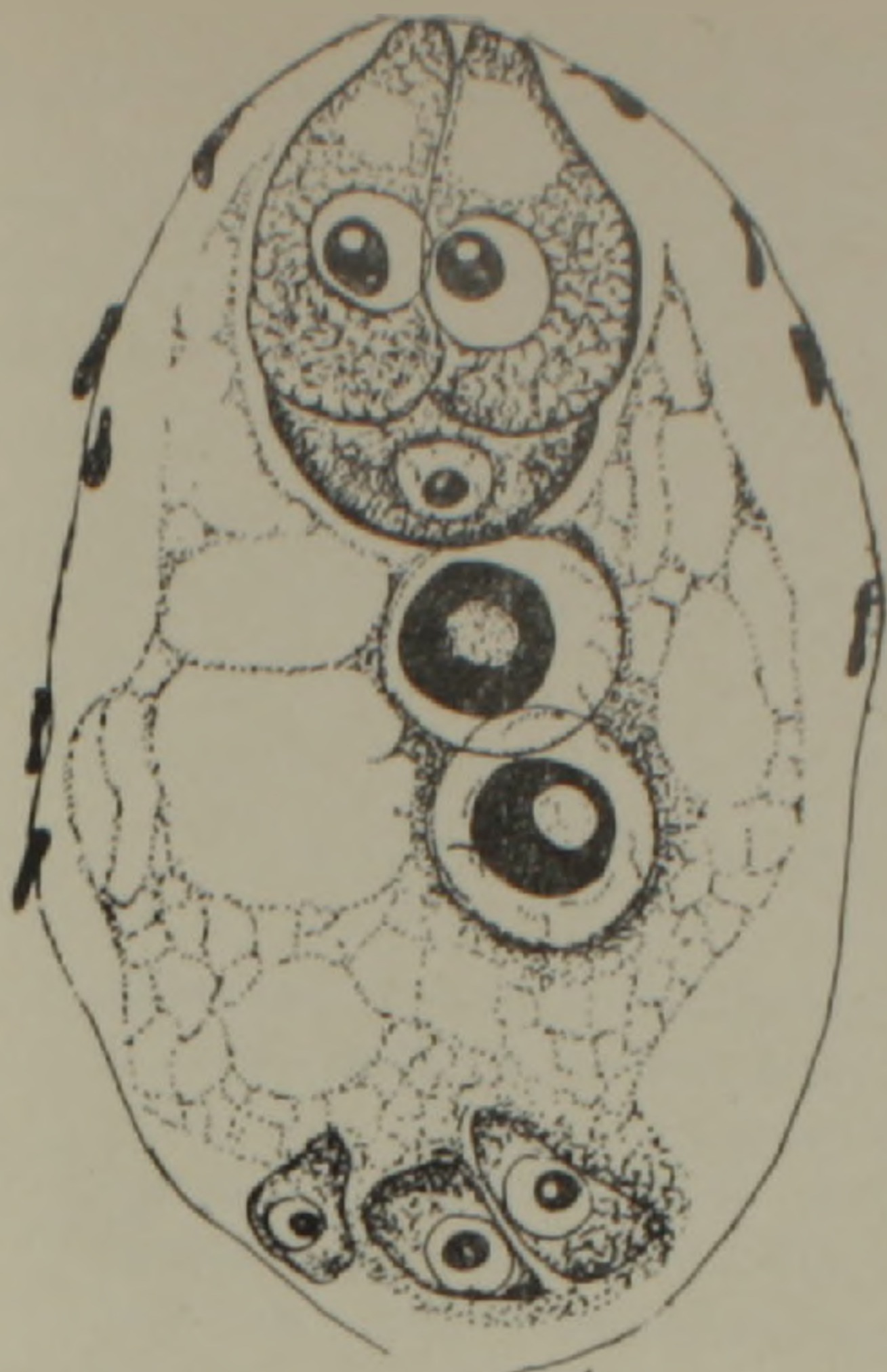
2



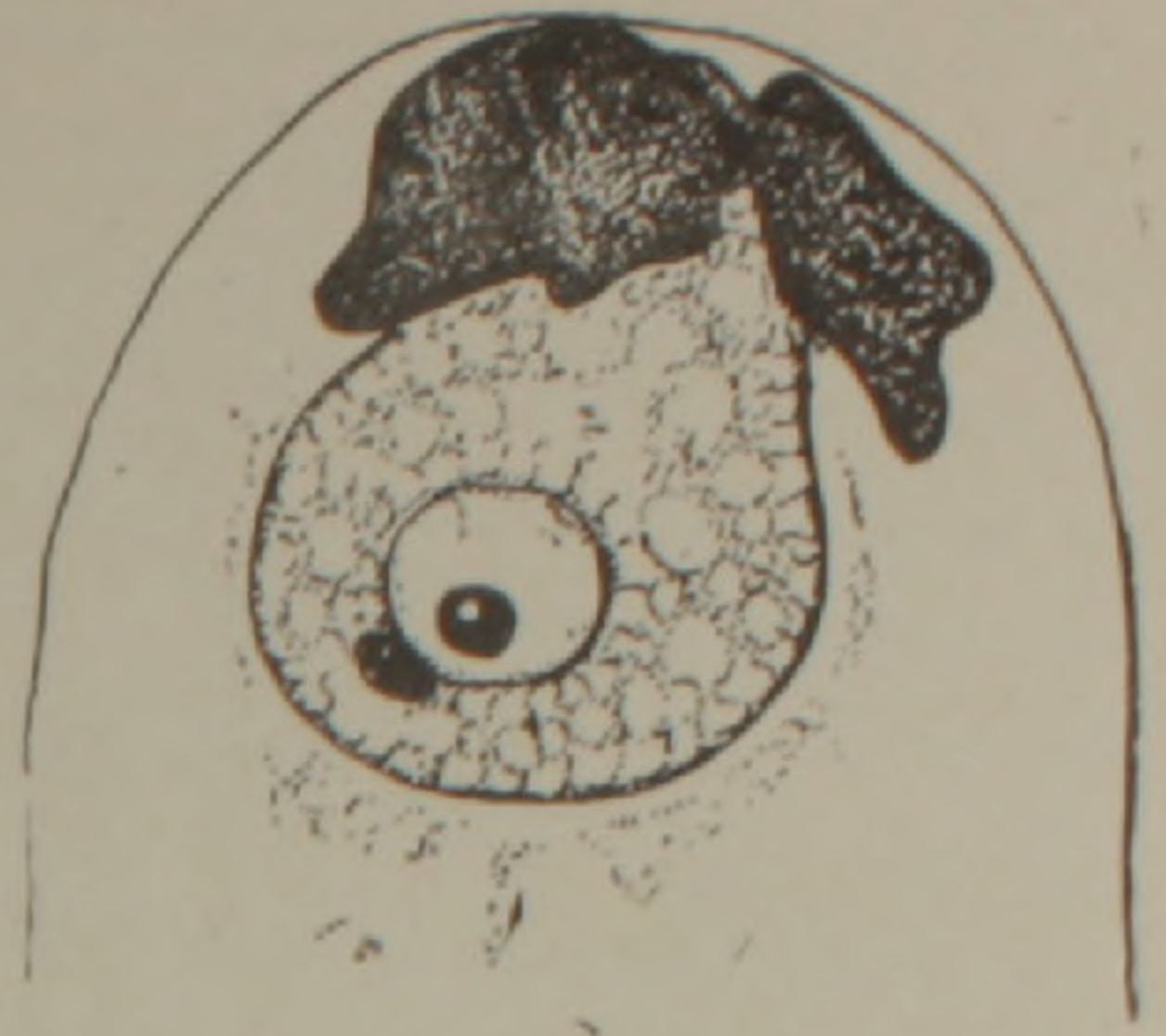
3

Табл. 3. Зародышевые мешки сорта Дрсгана желтая на различных стадиях развития.

Рис. 1. Дифференцированный восьмиядерный зародышевый мешок. Яйцевой аппарат с крупной яйцеклеткой, синергиды с крючковидными отростками, полярные ядра слились, в халазальной части расположены крупные антиподы ($\times 360$). Рис. 2. Видны крупная оплодотворенная яйцеклетка, в ядре которой расположен спермий, часть полуразрушенной синергиды, мелкие полуразрушенные полярные ядра ($\times 300$). Рис. 3. Крупный удлинненный зародышевый мешок, где видны остатки полуразрушенных и деформированных синергид и спермий. В нижней части синергид расположены многочисленные лейкопласты. Одно полярное ядро не оплодотворилось ($\times 280$). Рис. 4. Один из спермиев проник в цитоплазму яйцеклетки, другой расположен около полярного ядра. Видны остаток одной синергиды и ядро другой синергиды ($\times 280$). Рис. 5. В яйцевом аппарате нет изменений, один из спермиев расположен в центральном ядре. Мелкие антиподы с халазальной части переместились в боковую часть зародышевого мешка ($\times 280$).



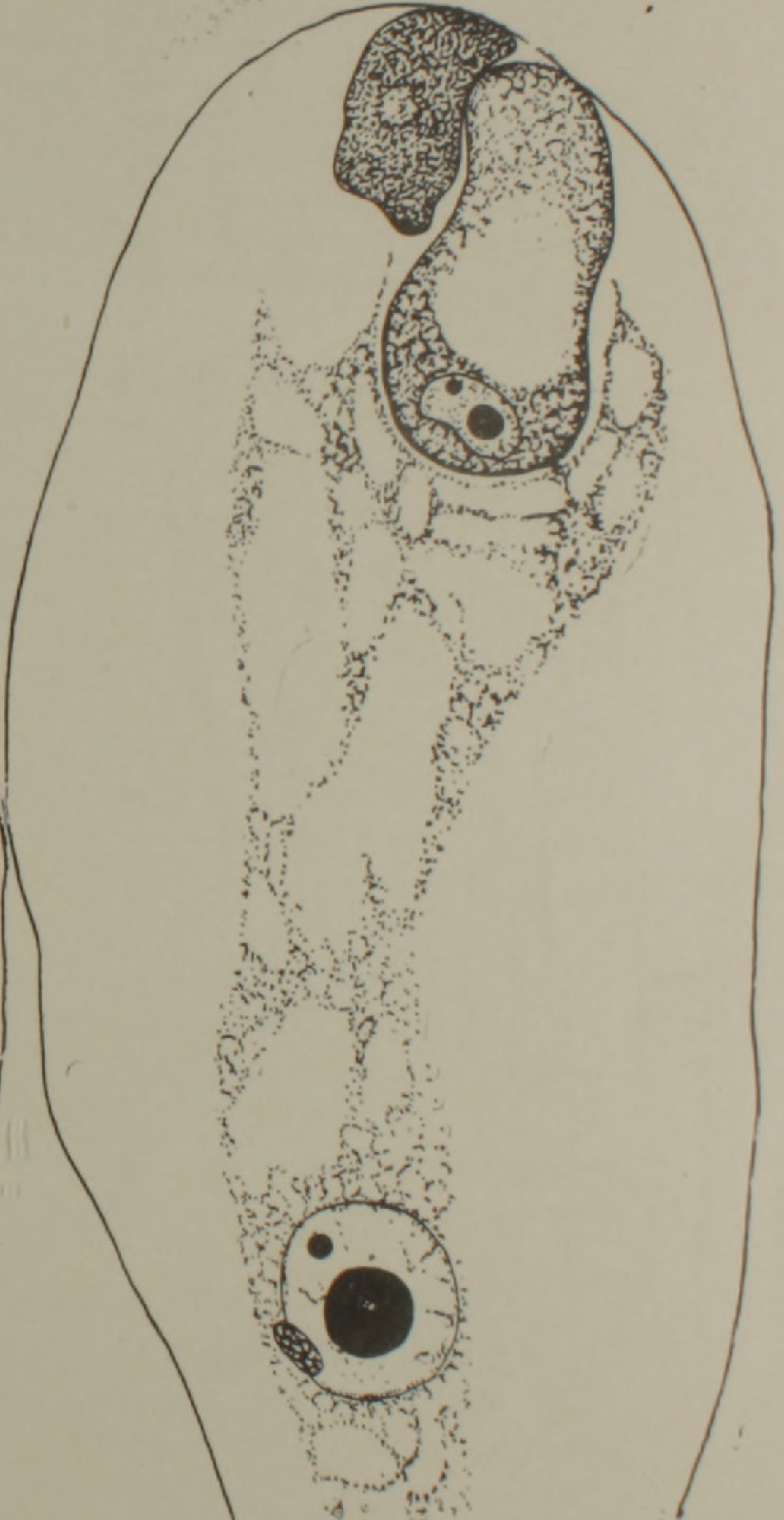
1



2



3



4

Табл. 4. Зародышевые мешки сорта Приусадебная на различных стадиях развития. Рис. 1. Дифференцированный восьмиядерный зародышевый мешок (X450). Рис. 2. Яйцеклетка в момент проникновения спермия. Спермий расположен около ядра яйцеклетки (X300). Рис. 3. Видна оплодотворенная яйцеклетка. В ядре яйцеклетки расположен спермий. В верхней части синергид выделяется нитчатый аппарат. Полярные ядра расположены рядом (X450). Рис. 4. Зигота с дополнительным ядрышком. Второй спермий расположен на центральном ядре (X300).

ях почему-то их количество увеличивается [4]. Притом, судя по нашим наблюдениям, это происходит за счет уменьшения других групп клеток зародышевого мешка (табл. 1, рис. 6; табл. 2, рис. 9), например, за счет клеток яйцевого аппарата или антипод. Обычно в зародышевых мешках бутонов они еще не в слившемся состоянии. Часто так продолжается до дифференциации клеток яйцевого аппарата и даже во время оплодотворения.

Антиподы у данного вида довольно неустойчивые и быстро разрушаются. При дифференциации ядер зародышевого мешка они сначала становятся треугольными (табл. 3, рис. 1; табл. 4, рис. 1), а затем подвергаются постепенной деформации и растворению (табл. 2, рис. 6). Притом у исследуемых нами сортов их разрушение происходит как до цветения, так и после него, а в отдельных случаях и после завершения оплодотворения. Чаще это явление наблюдается до цветения, и в момент опыления зародышевые мешки фактически являются 5- или 4-клеточными образованиями, хотя иногда не исключена возможность сохранения их в неизменном виде. В некоторых случаях у сорта Дрогана желтая отмечается перемещение антипод в боковую часть зародышевого мешка, где они сохраняются даже во время процесса оплодотворения (табл. 3, рис. 5). В халазальной части зародышевого мешка в отдельных случаях отмечалось интересное явление. Антиподы здесь не только в течение определенного времени сохраняются, но заметно увеличивается и их количество (табл. 1, рис. 9; табл. 2, рис. 4, 5). Это явление наблюдалось как до процесса оплодотворения, так и в момент излияния содержимого пыльцевой трубки в зародышевый мешок и оплодотворения. Интересно, какого же происхождения эти лишние антиподы? Можно ли считать, что они образовались в результате вторичного деления антипод, как это имеет место у представителей других семейств. Или может быть они являются клетками активно действующего археспория? В зародышевых мешках исследуемых сортов черешни они обнаруживаются лишь в отдельных случаях. Примечательно также, что в одних случаях группа дополнительных ядер довольно специфична и отличается от антипод (табл. 2, рис. 5), в других же—они морфологически не отличаются от них (табл. 1, рис. 9; табл. 2, рис. 4).

Нас интересовал также вопрос: как и когда происходит процесс оплодотворения у исследуемых сортов черешни в условиях Араратской равнины.

К сожалению, в просмотренной нами литературе относительно черешни мы не нашли аналогичных данных. Некоторые авторы [5] оплодотворенную яйцеклетку у черешни обнаруживали через 3 дня после цветения, но отдельные моменты двойного оплодотворения не прослежены. Нами у сортов Ялтинская, Ленинградская ранняя и Наполеон черный при просмотре многочисленного материала не было установлено процесса оплодотворения. У сортов Дрогана желтая и Приусадебная оплодотворение яйцеклетки завершается через 30—36 часов после опыления.

Наши многолетние исследования показали, что у данного вида, в

отличие от других видов рода *Cerasus* Juss, даже при наличии морфологически нормально развитого зародышевого мешка в большинстве случаев по различным причинам процесс двойного оплодотворения либо отсутствует, либо протекает с разными отклонениями. Как это можно объяснить? Возможно, по каким-то причинам яйцевой аппарат в зародышевом мешке не дифференцирован [5, 6], что наблюдалось и при наших исследованиях. Некоторые исследователи причиной этого явления считают дегенерацию яйцевого аппарата [13, 14], другие полагают, что бесплодность вишне-черешневых гибридов часто бывает связана с дефективностью яйцеклетки [15, 16]. Установлено также, что существует специальный ген, обуславливающий стерильность яйцеклетки черешни [9]. Исходя из наших наблюдений, мы полагаем, что у исследуемого вида этот процесс в отдельных случаях протекает с отклонениями, в других — нарушается именно двойное слияние спермия с женскими клетками и образуется либо зародыш, либо эндосперм. Вследствие всего этого формируются неполноценные семена, часто с очень низкой всхожестью, что приводит в различные периоды вегетации к опаданию плодов. Это явление наблюдалось нами также у сортов Дрогана желтая, Приусадебная и Наполеон черный (табл. 3, 4). У сорта Дрогана желтая, например, хотя спермий и проникает в ядро яйцеклетки (табл. 3, рис. 2), однако полярные ядра часто бывают мелкими и почему-то не сливаются. У сорта Приусадебная даже после оплодотворения яйцеклетки полярные ядра также долгое время не сливаются. Нами наблюдалось и другое явление, когда центральное ядро оплодотворено, но в яйцевом аппарате не происходит никаких изменений (табл. 3, рис. 5). Из всех исследуемых сортов только у двух мы изредка отмечали нормальное течение процесса оплодотворения: у Дрогана желтая и Приусадебная. Причем интересно, что слияние спермия с яйцеклеткой происходит гораздо раньше (табл. 4, рис. 4), а с полярными ядрами несколько задерживается (табл. 3, рис. 4). Кроме того, видимо, не всегда проникшие в зародышевый мешок спермии участвуют в процессе оплодотворения, даже при наличии дифференцированных элементов зародышевого мешка [13]. Такое нами наблюдалось также у сорта Дрогана желтая (табл. 3, рис. 3), где спермии с апикальной части зародышевого мешка не передвигались к женским клеткам, а как бы округлялись, набухали и постепенно дегенерировали.

Спермии у вида *Cerasus avium* (L.) Moench мелкие, округло-удлиненной формы, напоминают спермии представителей вида *Cerasus vulgaris* Mill.

Можно ли предположить, что данному виду свойственно образование семян путем апомиксиса? В литературе отмечается очень слабая завязываемость плодов без опыления у сорта сердцевидной черешни Ранняя майская [9]. Нами такое явление не наблюдалось.

При сравнении двух видов рода *Cerasus* Juss, *Cerasus vulgaris* Mill и *Cerasus avium* (L.) Moench, можно сказать, что мегagamетогенез, а также дифференциация женского гаметофита протекает с гораздо

Поступило 7.IV 1975 г.

1. Айрапетян М. А. Сб. научн. тр. Арм. СХН. 13, 1963.
2. Айрапетян М. А. Изв. с/х наук МСХ АрмССР, Ереван, 1964.
3. Айрапетян М. А. Канд. дисс., Ереван, 1966.
4. Березенко Н. П. и Радионенко А. Я. Укр. бот. журнал, 12, 6, 1965.
5. Бекетовская А. А. Изв. с/х наук (Мин. произ. и заг. с/х продуктов АрмССР), 2, 1965.
6. Бекетовская А. А. Канд. дисс. Ереван, 1968.
7. Бекетовская А. А. Биологический журнал Армении, 22, 5, 1969.
8. Вермишян А. Изв. Арм. филлала АН СССР, 7, (21), 1942.
9. Кобель Ф. Плодоводство на физиологической основе. М., 1957.

10. Константинова Л. Н. Сб. асп. и мол. научн. сотр., ВНР, 1960.
11. Минасян С. М. и Санагян М. Б. Изв. АН АрмССР (биол. и с/х науки), 5, 11, 1952.
12. Морилян Э. С. Изв. АН АрмССР (биол. и с/х науки), 7, 11, 1954.
13. Спицин И. П. Научн. докл. высш. шк. (биол. науки), 4, 1966.
14. Рябов И. Н., Рябова А. Н. Сельскохозяйственная биология, 1, 3, 1966.
15. Харитонova Е. Н. Сб. работ по вопросам плодoводства. Тр. ЦГЛ им. Мичурина, 5, 1953.
16. Харитонova Е. Н. Тр. ЦГЛ, 6, 1957.
17. Чолахян Д. П., Даниелян А. Х., Самвелян Г. Е. Биологический журнал Армении, 27, 9, 1974.
18. Чолахян Д. П., Самвелян Г. Е. Биологический журнал Армении, 28, 3, 1975.