

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Пермский государственный аграрно-технологический уни-
верситет имени академика Д.Н. Прянишникова»

Н.Л. Колясникова, И.Н. Кузьменко

ЭМБРИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Учебно-методическое пособие

Пермь
ИПЦ «Прокрость»
2022

УДК 581.3

ББК 28.533

К 629

Рецензенты:

Л.В. Новоселова, доктор биологических наук, профессор кафедры ботаники и генетики растений ФГАОУ ВО ПГНИУ.

О.В. Харитоновна, кандидат биологических наук, доцент кафедры лесоводства и ландшафтной архитектуры ФГБОУ ВО ПГАТУ.

К 629 Колясникова, Н.Л.

Эмбриология растений: учебно-методическое пособие / Н.Л. Колясникова, И.Н. Кузьменко; Министерство сельского хозяйства Российской Федерации, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный аграрно-технологический университет имени академика Д.Н. Прянишникова». – Пермь: ИПЦ «Прокрость», 2022. – 69 с.

В учебно-методическом пособии представлены современные сведения об эмбриологии растений. Приведены разнообразные методы цитозембриологического анализа. Имеется необходимый справочный, табличный материал для лабораторных работ, самостоятельной работы обучающихся.

Учебно-методическое пособие предназначено для обучающихся по направлению подготовки 35.04.04 Агротехнология. А также может быть предназначено для работников и специалистов селекционных и семеноводческих станций, преподавателей, аспирантов сельскохозяйственных вузов.

УДК 581.3

ББК 28.533

Учебно-методическое пособие рекомендовано к изданию методической комиссией факультета агротехнологий и лесного хозяйства ФГБОУ ВО Пермский ГАТУ (протокол № 11 от 14 июня 2022 г.)

©ИПЦ «Прокрость», 2022

©Колясникова Н.Л., 2022

©Кузьменко И.Н., 2022

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	4
1 История эмбриологии растений	6
2 Цветок. Особенности строения и развития цветка	10
3 Андроцей, тычинка, пыльник. Микроспорогенез и развитие мужского гаметофита	14
4 Гинецей, завязь, семязчаток. Макроспрогенез и развитие женского гаметофита	23
5 Опыление и двойное оплодотворение	32
6 Развитие зародыша и эндосперма	38
7 Апомиксис	46
Заключение	53
Список использованных источников	54
Словарь терминов	57
<i>Приложение 1.</i> Степень сформированности андрогенеза	61
<i>Приложение 2.</i> Маркировочные признаки окрашивания рыльца гинецея	62
<i>Приложение 3.</i> Микроспорогенез и микроспорогаметогенез люцерны посевной	63
<i>Приложение 4.</i> Фертильность пыльцевых зерен	64
<i>Приложение 5.</i> Жизнеспособность пыльцевых зерен узамбарской фиалки	65
<i>Приложение 6.</i> Зародышевые мешки ветреницы алтайской (<i>Anemone altaica</i> Fisch. ex С.А. Мей) на разных стадиях развития пестика	66
<i>Приложение 7.</i> Фертильность семязчатков люцерны посевной	67
<i>Приложение 8.</i> Фиксационная ведомость	68
<i>Приложение 9.</i> Окраска срезов растительного объекта гематоксилином по Гейденгайну	69

ВВЕДЕНИЕ

Данное учебно-методическое пособие содержит изложение разделов дисциплины «Эмбриология растений» для обучающихся по направлению подготовки 35.04.04 Агрономия, направленность (профиль) «Селекция и семеноводство полевых культур».

Цель данного учебно-методического пособия – дать представление о строении и развитии репродуктивных органов растений, лежащих в основе селекционно-генетических исследований и практических работ по селекции, а также обеспечение эффективности проведения самостоятельной работы обучающихся, повторения и закрепления изучаемого материала по разделам дисциплины.

Учебно-методическое пособие включает введение, семь основных разделов, заключение, рекомендуемую литературу, словарь терминов, девять приложений. Задания по выполнению лабораторных работ позволят эффективнее подготовиться к занятиям. Контрольные вопросы помогут систематизировать и закрепить полученные знания. Табличный материал приложений иллюстрирует оформление результатов наблюдений и опытов по эмбриологии растений. Учебно-методическое пособие составлено в соответствии с рабочей программой дисциплины «Эмбриология растений».

В практике сельского хозяйства, при генетико-селекционных работах возникает ряд вопросов, связанных с биологией размножения и плодоношения растений. Многие из них не могут быть разрешены без применения эмбриологических исследований.

Эмбриология растений – раздел ботаники, выявляющий основные закономерности возникновения и развития генеративных и эмбриональных структур (спорогенез, гаметогенез, зиготогенез, эндоспермогенез, эмбриогенез, апомиксис). Разнообразие эмбриологических структур и процессов связано с приспособительным разнообразием диплоидной спорофитной фазы и экологической обстановкой. Задачами эмбриологии является выяснение закономерностей процесса размножения и

разработка способов управления этим процессом у культурных растений. Специфичность эмбриологии заключается в том, что она изучает микроскопические структуры: споры, гаметы, зиготы, зародыш и др., используя цитологические методы.

Эмбриология растений занимается изучением спорогенеза и формирования половых клеток, оплодотворения, развития зародыша и эндосперма, а также явлений апомиксиса, полиэмбрионии и партенокарпии. Изучение эмбриологических признаков у культурных и дикорастущих растений дает возможность составить представление о характере развития репродуктивных органов, семян, плодов, используемых как урожай в сельском хозяйстве.

Для разрешения этих вопросов могут быть применены различные эмбриологические методики – изготовление постоянных и временных препаратов, исследование препаратов из живого материала, проведение гистохимических реакций на свежем и фиксированном материале.

Для успешного проведения скрещивания в гибридизаторских работах важно знать качество пыльцы, совместимость ее с тканями рыльца и пестика. Приемы эмбриологического исследования позволяют установить продолжительность процессов опыления и оплодотворения, что является необходимым для успешного внутрисортového и гибридного опыления. На основании эмбриологических данных развития эндосперма и зародыша, их темпах, характерных этапах решают вопросы о стадиях созревания семян и о регулировании сроков посева.

Таким образом, эмбриология имеет непосредственное отношение к проблеме продуктивности и урожайности сельскохозяйственных растений.

1 ИСТОРИЯ ЭМБРИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ

Эмбриология растений как научная ботаническая дисциплина оформилась лишь в XIX в., когда была сформулирована клеточная теория, усовершенствован микроскоп и микроскопическая техника достигла необходимого для эмбриологических исследований уровня.

Предыстория эмбриологии растений своими корнями уходит в глубокую древность. Уже народы Древнего Востока, практически используя искусственное опыление у растений, догадывались о половых различиях у растений. Существование пола у растений было установлено и доказано в XVII-XVIII вв.

Р. Камерариус (1694 г.) – директор ботанического сада в Тюбингене, обнаружил, что женские растения шелковицы не образуют плоды с развитыми семенами без участия пыльцы мужских растений. Пыльникам, по его мнению, принадлежит роль мужских половых органов, тогда как завязь со столбиком он считал женским половым органом. Следующим шагом в изучении роли пыльцы было открытие пыльцевой трубки (Броньяр, 1827 г.). Детальные исследования формирования зародышевого мешка принадлежат Э. Страсбургеру (1877 г.). С.Г. Навашин (1898 г) в своем исследовании *Lilium martagon* и *Fritillaria tenella* установил, что у покрытосеменных обе мужские гаметы используются при оплодотворении: одна из них сливается с яйцеклеткой, а другая – с двумя полярными ядрами. Так было открыто двойное оплодотворение у покрытосеменных.

Классическими исследованиями В. Гофмейстера, Э. Страсбургера, И.Н. Горожанкина, В.И. Беяева, В.М. Арнольди, С.Г. Навашина, Э. Мейера были выяснены специфические особенности репродуктивных органов различных групп высших растений, создано учение о смене поколений – полового и бесполого (Баранов, 1955).

К началу XIX в. был накоплен основной фактический материал о развитии гаметофитов и зародышей. Основной задачей стало сравнительное изучение целых семейств и порядков,

с тем, чтобы установить, какое значение может иметь эмбриология для разрешения проблем систематики. Особое место занимают исследования К. Шнарфа. Две его работы – «Эмбриология покрытосеменных» (1929) и «Сравнительная эмбриология покрытосеменных» (1931) – наиболее важные сводки в этой области. Р. Суэж изучал развитие зародыша у ряда семейств и родов, как двудольных, так и однодольных.

Эмбриология растений получила широкое развитие во многих странах мира. Объединению фитоморфологов способствовала международная ассоциация фитоморфологов (центр ее находился в Дели, Индия, председатель П. Махешвари), издававшая первый международный журнал по морфологии растений – «Phytomorphology». Большую роль в объединении их сыграл также VIII международный ботанический конгресс в Париже (1954 г.), в составе которого работала под руководством крупнейших фитоэмбриологов Р. Суэжа (Франция) и П. Махешвари (Индия) специальная секция по эмбриологии растений (Баранов, 1955).

Одним из первых опыты по эмбриологии растений в России провел основатель и первый директор Петровской земледельческой и лесной академии академик Николай Иванович Железнов. Работа Н.И. Железнова «О развитии цветка и яичка у традесканции» (1842) была посвящена изучению пыльцы, развитию цветка. В ней была высказана точка зрения о развитии зародыша в кончике пыльцевой трубки, что совпадало с мнением М. Шлейдена и др. Среди российских ученых, внесших весомый вклад в формирование эмбриологии и биологии развития растений, следует отметить: И. Кельрейтера, который является основоположником учения о биологии цветения и гибридизации; А.Т. Болотова с работами по биологии цветения и плодообразованию у некоторых культурных растений; И.Н. Горожанкина, выполнившего работы по развитию гаметофитов и оплодотворению у голосеменных; В.И. Беляева, исследовавшего спермиогенез у высших растений (хвощи, папоротники), описавшего редукционное деление у голосеменных и покрытосеменных.

Две основные русские школы фитоэмбриологов: московская (основатель И.Н. Горожанкин) и киевская (основатель

С.Г. Навашин), работавшие в дореволюционное время, продолжили свою деятельность в Московском и Киевском университетах. Глава эмбриологов – академик С.Г. Навашин в 1923 г. возглавил организованный в Москве Государственный Тимирязевский научно-исследовательский институт (Навашин, 1951). Начали возникать эмбриологические лаборатории и в других научных центрах страны. Развернулась работа по эмбриологии растений в Среднеазиатском университете в Ташкенте. В послевоенное время организована крупная лаборатория эмбриологии растений в Ботаническом институте им. В.Л. Комарова Академии Наук СССР. Новым явилось изучение эмбриологических картин у важнейших культурных растений. Была детально изучена эмбриология хлопчатника и винограда (П.А. Баранов с сотрудниками), каучуконосов из семейства астровых (В.А. Поддубная-Арнольди), сахарной свеклы (П.Ф. Овсюк и др.), пшеницы и других злаков (М.С. Яковлев), табака и лука (Я.С. Модилевский с сотрудниками), прядильных растений (Г.Б. Медведева), клевера (В.Ф. Федорчук) и ряда других культурных растений.

Отвечая на практические запросы селекции растений, эмбриологи развернули обширные исследования по биологии цветения культурных растений, по изучению явлений апомиксиса (В.А. Поддубная-Арнольди и др.) и партенокарпии (Е.В. Великанова и др.), по проблеме половой стерильности у растений. Также велись исследования по эволюции типов зародышевого мешка (И.Д. Романов), филогении злаков и связи однодольных с двудольными (М.С. Яковлев), использовались эмбриологические данные в решении филогенетических проблем (В.А. Поддубная-Арнольди).

Т.Б. Батыгина основала уникальную отечественную (Петербургскую) научную школу по эмбриологии и репродукции растений, официально признанную в статусе ведущей научной школы Российской Федерации (с 1996 г.). В 1990г. при ее непосредственном руководстве был проведен один из крупнейших регулярных международных симпозиумов по эмбриологии растений – «Embryology and reproductive biology» (Ленинград), с этого времени, получившего статус международного конгресса по половой репродукции растений.

Прогресс эмбриологии растений в XX в. был связан с использованием новейших методов (электронной микроскопии, автордиографии, моделирования, микрохирургии и др.). Были выявлены специфические особенности мейоза, диморфизм спермиев; изолированы отдельные клетки мужского и женского гаметофитов и осуществлено оплодотворение *in vitro*; получены уникальные данные по цитоскелету репродуктивных структур и т.д.

Контрольные вопросы

1. Что такое эмбриология? Изучением чего занимается эмбриология растений?
2. Какие события привели к возникновению эмбриологии?
3. Этапы развития эмбриологии.
4. Итоги результатов исследований К. Шнарфа.
5. В каком году было открыто двойное оплодотворение у покрытосеменных растений?
6. Значение открытия С.Г. Навашиным двойного оплодотворения у покрытосеменных растений.
7. Российские ученые, внесшие вклад в формирование и развитие эмбриологии растений.
8. Какие ученые изучали эмбриологию важнейших культурных растений: пшеницы, клевера?
9. Научные центры в России по изучению эмбриологии культурных растений.

2 ЦВЕТОК. ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ И РАЗВИТИЯ ЦВЕТКА

Цветок – это репродуктивный орган покрытосеменных растений, совокупность стерильных и фертильных структур. К стерильным относят околоцветник, состоящий из чашечки и венчика. К фертильным – тычинки и плодолистики. Границы между стерильными и фертильными структурами условны и относительны.

Околоцветник выполняет защитную или привлекающую насекомых функцию. Околоцветник, дифференцированный на различные по форме, размерам и окраске чашечку и венчик, называют двойным, а состоящий из одинаковых элементов – простым. Различают простой чашечковидный (обычно зеленый), венчиковидный (чаще всего ярко окрашенный) и пленчатый околоцветники. Цветки, лишенные околоцветника, называют голыми.

Чашечка обычно состоит из зеленых листочков, расположенных в один или два круга. Наружный круг чашелистиков в этом случае именуют подчашием. Чашелистики могут срастаться между собой (сростнолистная чашечка) или оставаться свободными (раздельнолистная чашечка).

Венчик состоит из ярко окрашенных лепестков, которые обычно крупнее чашелистиков. Если лепестки не срослись между собой, венчик называют свободнолепестным. Спайнолепестным называют венчик, у которого лепестки срослись между собой. Обычно у такого венчика различают отгиб, трубку и зев.

Андроцей – это совокупность тычинок. Их количество может колебаться от одной до нескольких сотен. Тычинки могут срастаться между собой нитями, пыльниками или оставаться свободными.

Пестики образуются из плодолистиков. Обычно пестик состоит из завязи, столбика и рыльца. При отсутствии столбика рыльце называют сидячим. Гинецей, образованный несколькими плодолистиками, не сросшимися между собой, называют апокарпным, сросшимися – ценокарпным. Количе-

ство плодолистиков, сформировавших завязь, можно определить по числу бороздок на завязи, столбиков, или лопастей рыльца.

В зависимости от положения завязи на цветоложе относительно прочих частей цветка выделяют три типа завязи: верхнюю или свободную, у которой стенка сростается с цветоложем только основанием, а все части цветка расположены на цветоложе ниже завязи; нижнюю, у которой стенка полностью сростается с цветоложем, а все части цветка расположены на цветоложе выше завязи; и полунижнюю, у которой стенка наполовину сростается с цветоложем, а все части цветка расположены на цветоложе на уровне середины завязи.

Цветок и его части закладываются в виде бугорка (экзогенного выроста): на краю цветочного бугорка возникают бугорки чашечки, затем (между ними) венчика, дальше, также чередуясь, появляются один или два ряда бугорков тычинок, и наконец, в центре – бугорки плодолистиков (рис. 1).

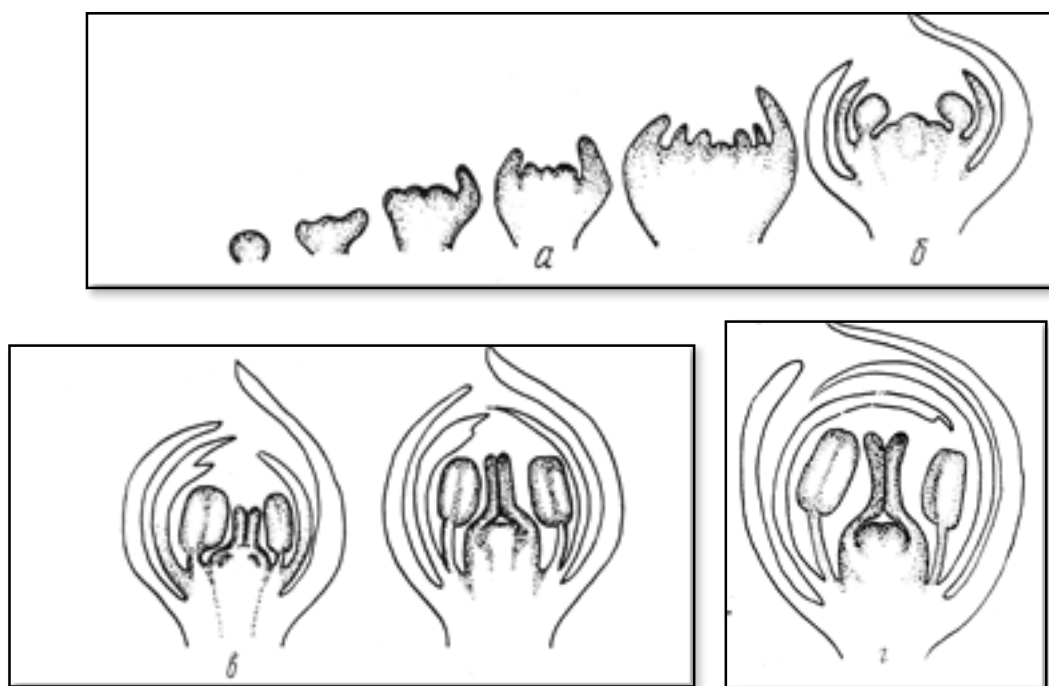


Рис.1. Органогенез цветка у тимьяна Маршалла (*Thymus Marschallianus* Willd.): а– заложение околоцветника; б – заложение бугорков тычинок; в – формирование гинецея, начало роста тычиночной нити; г – строение цветка тимьяна в период заложения материнских клеток микро- и макроспор (Верещагина В.А., 1987)

Если в цветке все бугорки каждого круга развиваются одинаково, равномерно, то возникает актиноморфный цветок (правильный) с лучевой симметрией; если развитие идет неравномерно или неравномерно разрастается само цветоложе, то образуется зигоморфный (неправильный) цветок с двусторонней симметрией.

Задания для выполнения лабораторных работ по теме «Цветок. Особенности строения и развития цветка»:

1. Рассмотреть цветок ветреницы алтайской в биноклярную лупу. Отпрепарировать цветок. Обратит внимание на простой венчиковидный околоцветник; ациклическое расположение частей цветка на цветоложе; неопределенность числа тычинок и пестиков, составляющих апокарпный гинецей. Зарисовать все части цветка.
2. Рассмотреть цветок яблони домашней в биноклярную лупу. Лезвием безопасной бритвы разрезать завязь вдоль. Рассмотреть, найти границы между цветоложем и стенкой завязи. Зарисовать все части цветка. Составить формулу цветка.
3. Рассмотреть цветок гороха посевного в биноклярную лупу. Отделить все его части от цветоложе. Найти самый большой лепесток – парус (флаг), два парных свободных лепестка – весла и лодочку – из 2-х сросшихся лепестков. Внутри лодочки найти андроцей, состоящий из 10-ти тычинок: 9-ти сросшихся основаниями тычиночных нитей и 1-ой свободной (двубратственное срастание) и простой гинецей. Зарисовать все части цветка. Составить формулу цветка.
4. Изучить с помощью биноклярной лупы различные фазы развития цветка из свежесобранного или из фиксированного материала соцветий растений семейства астровые (например, подсолнечника однолетнего, календулы лекарственной и др.). Определить тип цветка (женский или обоеполый). Отсортировать бутоны обоеполых цветков по степени развития, используя таблицу в приложении 1.

5. Изготовить временные препараты гинецея подсолнечника однолетнего. Окрасить препарат 1% раствором перманганата калия. Описать женскую фазу развития обоеполого цветка. Провести анализ бутонов разных фаз развития по степени окрашивания рыльца, согласно маркировочным признакам (приложение 2).

Контрольные вопросы

1. Определение понятия цветков.
2. Строение и функции околоцветника.
3. Какие типы околоцветника Вы знаете?
4. Части цветка листового происхождения.
5. Фертильные части цветка.
6. Из каких частей состоит тычинка?
7. По каким признакам можно различить верхнюю и нижнюю завязь?
8. Последовательность формирования частей цветка в органогенезе.

3 АНДРОЦЕЙ, ТЫЧИНКА, ПЫЛЬНИК. МИКРОСПОРОГЕНЕЗ И РАЗВИТИЕ МУЖСКОГО ГАМЕТОФИТА

Цветок может иметь от одного до множества тычинок, совокупность которых носит название андроцея. Наименьшее число тычинок (одна-две) имеют, например, многие орхидные, ивовые; большое число их встречается у представителей ряда семейств: магнолиевых, лютиковых, лавровых, кувшинковых, липовых и др.

Тычинки появляются на цветоложе в виде обособленных бугорков, одетых эпидермисом. При дальнейшем развитии бугорка сначала возникает пыльник, а затем путем вставочного роста – тычиночная нить. В развитии пыльника различают три периода: предмейотический, мейотический, постмейотический. В первом периоде формируется стенка пыльника, образуются микроспорангии. Во второй период идет дифференциация стенки пыльника и мейоз в микроспороцитах. В третий период происходит созревание пыльцевых зерен (Кордюм, 1978).

На ранних этапах пыльник состоит из эпидермиса и мезостематических клеток. Далее под эпидермисом выделяются тяжи археспориальных клеток. В результате периклиналильных делений этих клеток образуется два слоя: париетальный и спорогенный. Из париетального слоя формируется стенка пыльника, из спорогенного – микроспороциты. В зависимости от направления дифференциации различают 4 типа формирования стенки пыльника:

1. Основной тип. Париетальный слой формирует вторичный париетальный слой. Дальнейшие периклиналильные деления клеток приводят к образованию эндотеция, нескольких средних слоев и тапетума. Этот тип характерен для древних растений, в частности семейства винтеровых.

2. Тип двудольных. Париетальный слой клеток путем деления формирует вторичный париетальный слой и тапетум. Далее вторичный париетальный слой дает эндотеций и средний слой.

3. Тип однодольных. Из первичного париетального слоя путем периклинальных делений образуется эндотеций и вторичный париетальный слой. Далее вторичный париетальный слой клеток формирует средний слой и тапетум.

4. Редуцированный тип. Из париетального слоя образуется эндотеций и тапетум.

Таким образом, стенка молодого пыльника включает, как правило, эпидермис, эндотеций, средний слой (их может быть несколько), тапетум. Материнские клетки пыльцы и их ядра резко выделяются среди окружающих клеток значительной величиной и густой цитоплазмой (рис. 2).

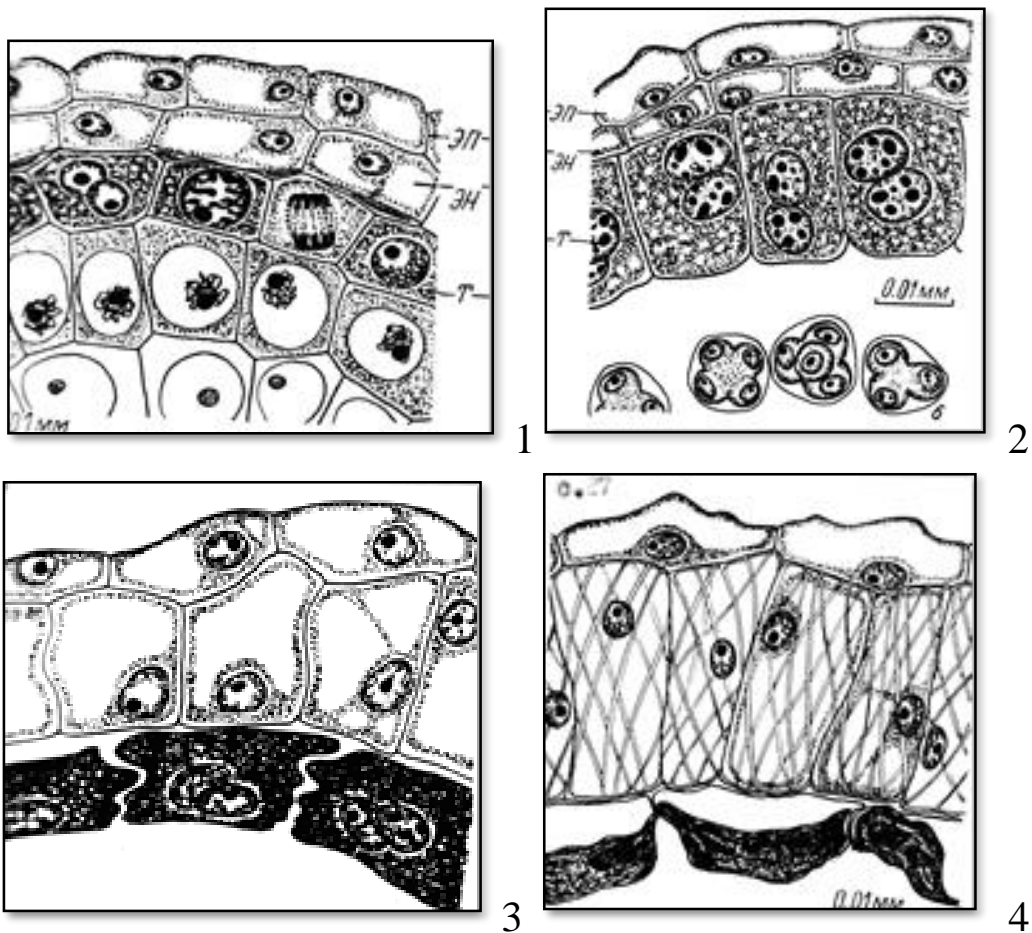


Рис. 2. Развитие стенки пыльника у синяка приятного (*Echium amoenum* F.et M.): 1 – формирование тапетума; 2 – двуядерный тапетум; 3 – дегенерация тапетума, начало развития эндотеция; 4 – стенка зрелого пыльника: т – тапетум; эн – эндотеций; эп – эпидермис (Верещагина В. А., 1983)

Клетки эпидермиса правильной формы, делятся только антиклинального. На поздних этапах покрываются кутикулой, увеличиваются, иногда приобретают зубчатую форму или

сплюсциваются. В клетках может откладываться крахмал или танин. В клетках эндотеция стенки утолщаются, появляются фиброзные тяжи. Эти утолщения способствуют вскрыванию пыльника, когда в гнездах пыльника созрела пыльца.

Количество слоев среднего слоя может быть от 1 до 6. Увеличение происходит за счет дополнительных периклиналильных делений. Средние слои постепенно дегенерируют и к моменту созревания пыльцы полностью исчезают. Тапетум различают наружный (обращен к стенке пыльника) и внутренний (обращен к связнику). Внутренний тапетум формируется за счет деления основной ткани связника. Различают два основных типа тапетума: секреторный и периплазмодиальный. Секреторный сохраняет клеточную структуру до стадии тетрады микроспор. Клетки тапетума могут быть многоядерными, иногда при слиянии ядер полиплоидными. В дальнейшем секреторный тапетум превращается в амебоидный (после стадии тетрады). Оболочки клеток растворяются, и цитоплазма впячивается в гнездо пыльника. Периплазмодиальный тапетум образуется до и во время мейоза в микроспороцитах. Цитоплазма заполняет гнездо пыльника, находящиеся в ней ядра делятся синхронно. К моменту созревания пыльцевых зерен тапетум лизируется. Спорогенные клетки в гнездах пыльника становятся микроспороцитами. Ко времени образования из микроспор мужского гаметофита (зрелых пыльцевых зерен), стенка пыльника обычно представлена только эндотецием с фиброзными тяжами и дегенерирующим эпидермисом. При подсыхании пыльника утолщенные части стенки смыкаются и в месте соприкосновения двух гнезд происходит разрыв стенки пыльника и его вскрывание.

Мейоз – редукционное деление, состоящее из двух делений, следующих друг за другом, приводящее к образованию из одной диплоидной четырех гаплоидных клеток (рис. 3).

Наиболее сложной является профазы первого деления мейоза. Начавшийся в интерфазе синтез ДНК продолжается в профазе I. Профаза включает пять стадий: лептотену, зиготену, пахитену, диплотену и диакинез. На стадии лептотены в ядре появляются тонкие перекрученные нити хромосом. На стадии зиготены происходит конъюгация сначала с концов

хромосом, а затем по всей их длине. Конъюгировавшая пара хромосом называется бивалентом. В нем 4 хроматиды, но они еще не различимы микроскопически. На стадии пахитены хроматиды каждой хромосомы уже хорошо видны. Число бивалентов гаплоидно. Конъюгирующие хромосомы могут обмениваться участками хроматид – происходит кроссинговер. В диплотене четко выявляются структуры бивалентов, состоящие из четырех хроматид. Поэтому бивалент называют хромосомной тетрадой. Гомологи отталкиваются друг от друга. В некоторых точках видны места перекреста в виде греческой буквы χ – хиазмы. На стадии диакинеза уменьшается число хиазм за счет их передвижения к концам хромосом. Биваленты передвигаются в экваториальную плоскость. Исчезают оболочка ядра и ядрышки.

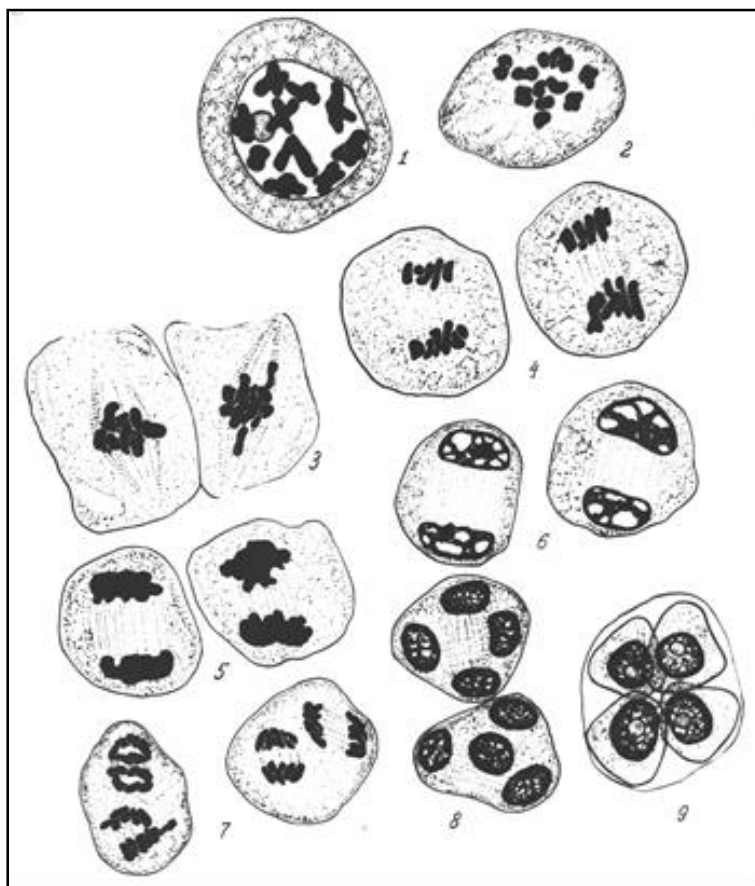


Рис. 3. Микроспорогенез в обоеполюх цветках румянки (*Echium russicum* J.F.Gmel.): 1 – диакинез; 2 – метафаза I, 12 бивалентов; 3-6 – метафаза-телофаза I; 7 – анафаза II; 8 – тетрады ядер; 9 – тетрада микроспор в оболочке материнской клетки (Верещагина В.А., 1983)

В метафазе I биваленты выстраиваются в экваториальной плоскости. Нити веретена деления прикреплены к центромерам и тянутся от одного полюса к другому. В анафазе первого деления мейоза гомологичные хромосомы, состоящие из двух хроматид, отходят к противоположным полюсам клетки. Телофаза I не отличается от телофазы митоза. В результате первого деления мейоза образуются два ядра, содержащие гаплоидный набор хромосом, но каждая хромосома имеет две хроматиды. Второе деление мейоза протекает по типу обычного митоза. Профаза II не продолжительна, так как хромосомы после телофазы первого деления мейоза остаются спирализованными.

В метафазе II хромосомы располагаются в экваториальной плоскости клетки. Процесс идет, как правило, синхронно в диаде клеток. В анафазе II к полюсам отходят хроматиды (дочерние хромосомы). В телофазе II мейоза после цитокинеза одновременно (симультанно) образуются клетки с гаплоидным набором хромосом. Таким образом, в результате двух последовательных делений мейоза из одной диплоидной клетки образуются четыре гаплоидные.

Различают два типа образования тетрад – одновременное – симультанное и последовательное – сукцессивное. Редко встречается промежуточный тип. Различают тетраэдральные, Т-образные, линейные типы тетрад. В постмейотический период происходит разделение тетрад. Пыльцевое зерно и его ядро увеличиваются в размерах. Появляется вакуоль, ядро смещается к стенке. Происходит митоз. Образуется линзовидная генеративная клетка. Она перемещается внутрь вегетативной клетки. Вакуоль исчезает, цитоплазма заполняется запасными питательными веществами. Зрелые пыльцевые зерна могут быть двуклеточными и трехклеточными (рис. 4).

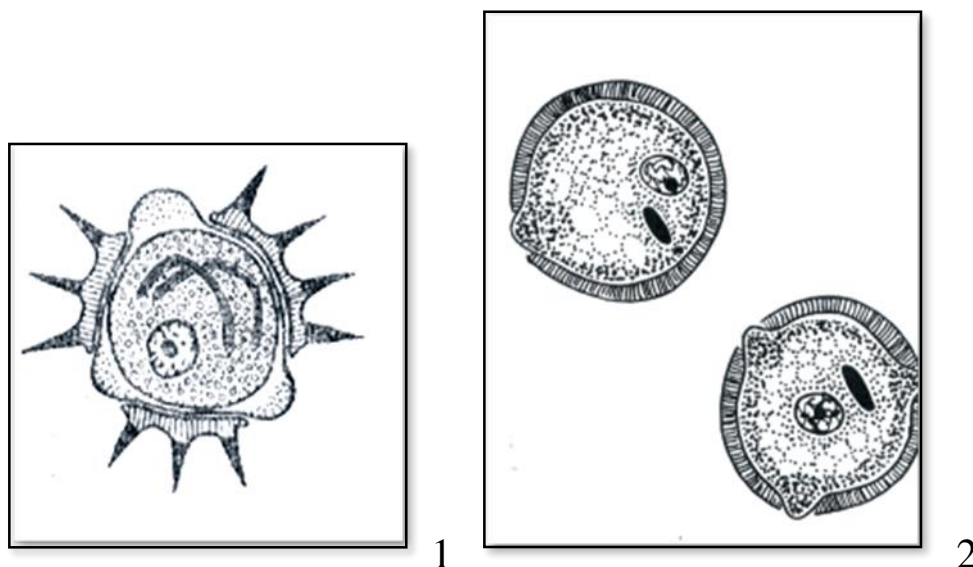


Рис. 4. Зрелые пыльцевые зерна: 1 – трехклеточное у подсолнечника (*Helianthus annuus* L.); 2 – двухклеточные у люцерны (*Medicago sativa* L.)

Пыльцевые зерна к моменту своего окончательного формирования одеты двумя оболочками: внутренней интиной и наружной – экзиной. Интина состоит из целлюлозы и пектина и в дальнейшем после опыления выпячивается и прорастает в пыльцевую трубку. Экзина малопроницаема, отличается высокой химической стойкостью, не растворяясь даже в концентрированной серной кислоте. Она характеризуется определенной скульптурой; на ее поверхности имеются различного вида образования, типичные для различных систематических групп.

Исследование структурных и функциональных показателей пыльцы растений актуально как с точки зрения теоретической (для понимания механизмов повреждения и процессов адаптации растений в условиях техногенеза), так и практической (для определения потенциальной способности растений из зон загрязнения к формированию полноценного потомства), решения проблем биомониторинга, а также селекции и семеноводства. Пыльца, способная произвести оплодотворение, называется фертильной. Используют два основных метода: ацетокарминовый и йодный. Для определения фертильности пыльцевых зерен фиксируют пыльники со зрелой пылью в фиксаторе Кларка (3 части 96% этилового спирта: 1

часть ледяной уксусной кислоты). Продолжительность фиксации колеблется от 30 мин до нескольких часов.

Пыльник переносят на предметное стекло, раздавливают, наносят каплю ацетокармина, препарат накрывают покровным стеклом и осторожно подогревают на спиртовке (Паушева, 1970). У фертильных пыльцевых зерен зернистая цитоплазма и спермии окрашены в густой карминово-красный цвет. Стерильные пыльцевые зерна почти не окрашиваются или окрашиваются неравномерно. Их содержимое часто отходит от оболочки и находится на разных этапах гибели (рис. 5).

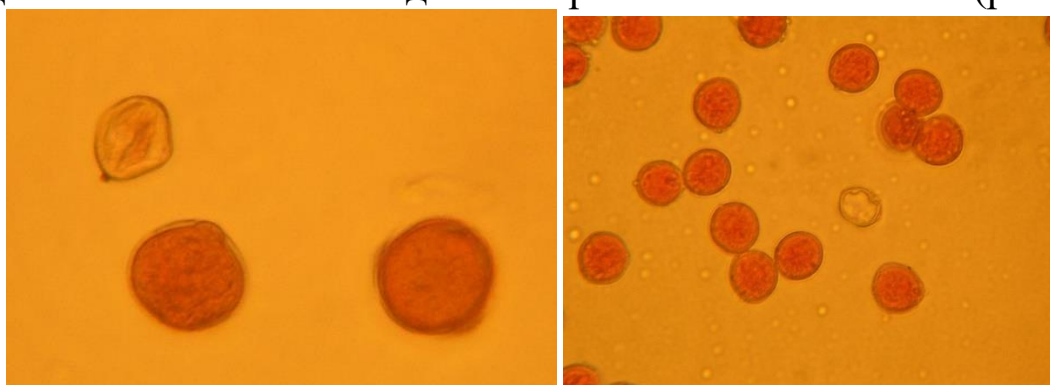


Рис. 5. Фертильные и стерильные (сморщенные, деформированные, мелкие) пыльцевые зерна клевера лугового (*Trifolium pratense* L.)

Для некоторых растений, у которых толстая экзина и трудно увидеть спермии при помощи ацетокарминового метода, можно использовать йодный метод. В основе метода лежит определение крахмала при помощи йодной реакции. Фертильные пыльцевые зерна полностью заполнены крахмалом, а стерильные не имеют его совсем или содержат следы (рис. 6).

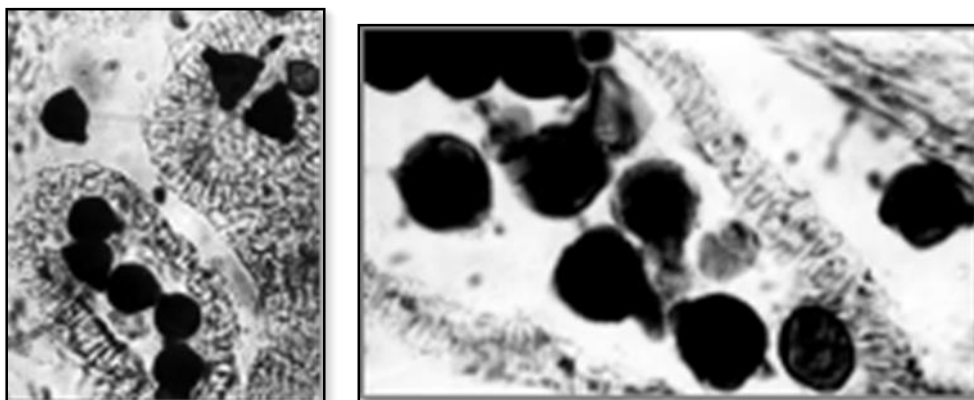


Рис. 6. Фертильные пыльцевые зерна люцерны (*Medicago*)
(Новоселова Л.В., 2004)

С целью определения жизнеспособности пыльцы проводят ее проращивание на искусственной питательной среде. В

качестве питательной среды для роста пыльцевой трубки используют раствор сахарозы (от 2 до 50% в зависимости от вида растения). Для улучшения роста пыльцевых трубок рекомендуется добавить каплю 0,01% раствора борной кислоты. Далее на предметные стекла с лунками капают 2-3 капли среды. В раствор сеют небольшое количество пыльцевых зерен и закрывают лунку покровным стеклом, края которого предварительно смазаны вазелином. Во влажной камере пыльцевые зерна начинают прорастать через 15-30 мин. Контроль роста пыльцевых трубок проводят под бинокулярной лупой. Для анализа пыльцевых зерен с проросшими пыльцевыми трубками их окрашивают ацетокармином. На чистое предметное стекло наносят каплю ацетокармина, покровное стекло с проросшей пылью снимают с лунки и закрывают им каплю кармина на предметном стекле (Юдакова и др., 2012).

Задания для выполнения лабораторных работ по теме «Андроцей, тычинка, пыльник. Микроспорогенез и развитие мужского гаметофита»:

1. Рассмотреть постоянные микропрепараты на разных стадиях развития пыльника от меристематического бугорка до вскрывшегося пыльника со зрелой пылью. Проследить изменение стенки пыльника, формирование спорогенной ткани, микроспорогенез, рост и развитие микроспоры. Зарисовать и обозначить эпидермис, эндотеций, средний слой, тапетум.
2. На постоянных микропрепаратах с помощью микроскопа изучить фазы редукционного деления в пыльниках разных культурных растений. Зарисовать и обозначить биваленты, хроматиды и хромосомы на разных фазах первого и второго деления мейоза. Оформить таблицу «Стадии микроспорогенеза в зависимости от размеров бутона» (приложение 3).
3. Изготовить временные препараты пыльцы культурных растений. Рассмотреть и зарисовать зрелые пыльцевые зерна, отметить вегетативное и генеративное ядро, оболочки: интину и экзину.
4. Определить процент фертильных пыльцевых зерен на временных препаратах пыльцевых зерен, окрашенных

ацетокармином. Оформить таблицу «Фертильность пыльцевых зерен» (приложение 4).

5. Изучить жизнеспособность пыльцевых зерен некоторых видов растений по числу проросших пыльцевых трубок на питательной среде. Оформить таблицу «Жизнеспособность пыльцевых зерен» (приложение 5).

Контрольные вопросы

1. Строение пыльника. Микроспорангий, стенка пыльника, проводящая система.
2. Сколько слоев у стенки молодого пыльника?
3. Какова роль тапетума в формировании микроспор?
4. Строение и назначение клеток эндотеция в стенке пыльника.
5. Классификация типов развития стенки пыльника.
6. Ультраструктурные и функциональные изменения клеток разных слоев стенки пыльника в ходе ее развития.
7. Роль разных слоев стенки пыльника в формировании зрелого пыльцевого зерна и в процессах стерилизации пыльцы.
8. Фазы микроспорогенеза.
9. Чем отличается понятие микроспорогенез от микроспорогаметогенеза?
10. Типы образования тетрад микроспор.
11. Как формируются оболочки мужского гаметофита?
12. Методы окрашивания пыльцевых зерен для определения их фертильности.
13. Состав питательной среды для проращивания пыльцы.
14. Методика подсчета фертильности и жизнеспособности пыльцевых зерен на временных микропрепаратах.
15. Какое практическое значение имеет определение хода микроспорогенеза для селекции?

4 ГИНЕЦЕЙ, ЗАВЯЗЬ, СЕМЯЗАЧАТОК. МАКРОСПОРОГЕНЕЗ И РАЗВИТИЕ ЖЕНСКОГО ГАМЕТОФИТА

Совокупность плодолистиков цветка называется гинецеем. Число их у разных растений различно. Плодолистики развиваются на цветоложе в центре его в виде отдельных или соединенных между собой бугорков. Строение завязи и расположение в ней семязачатков весьма разнообразны в различных семействах и родах покрытосеменных. Число семязачатков в завязях различных растений колеблется от одного до нескольких тысяч.

Апокарпный гинецей состоит из нескольких несросшихся между собой плодолистиков. Ценокарпный гинецей бывает нескольких типов в зависимости от того, каким образом соединяются края его плодолистиков. Если края плодолистиков завернуты внутрь и смыкаются у центра завязи, разделяя ее полость на гнезда, то гинецей называется синкарпным. Если плодолистики, завернувшись краями внутрь, распрямляются и остаются сросшимися только по окружности, без образования гнезд, то гинецей называется паракарпным. Синкарпный гинецей, у которого завернутые края плодолистиков разрушились и от них осталась лишь центральная колонка, называется лизикарпным (Афанасьева, 2021а; Афанасьева, 2021б)).

Места прикрепления семязачатков к плодолистикам называются плацентами, а характер расположения плацент на плодолистиках определяет тип плацентации. Наиболее распространенными являются следующие типы плацентации; у апокарпного гинецея – краевая и диффузная, у синкарпного – центрально-угловая (рис. 7) и диффузная, у паракарпного – постенная, или париетальная, и у лизикарпного – колончатая.

Семязачаток состоит из семяножки (фуникулюса), нуцеллуса, интегументов, халазы, микропиле. Семязачаток имеет один или два интегумента (покровы). У некоторых растений есть третий – ариллус. Он возникает в результате расщепления наружного интегумента. Также встречается интегумент, сформировавшийся за счет разрастания микропилярной зоны – карункула (Савченко, 1973).



Рис. 7. Центральнo-угловая плацентация семязачатков
Iris sanguinea (Новоселова Л.В., 2011)

Микропиле может быть образовано либо внутренним, либо внешним интегументом. Иногда оба интегумента участвуют в образовании микропиле. В зависимости от степени развития нуцеллуса различают крассинуцеллятные и тенуинуцеллятные семязачатки. В первом случае материнские клетки макроспор отделены от эпидермиса несколькими слоями париетальных клеток. У тенуинуцеллятных материнские клетки непосредственно примыкают к эпидермису. Обычно одна из клеток нуцеллуса увеличивается в размерах. Цитоплазма становится густой. Это и есть первичная археспориальная клетка. Она может путем деления образовать париетальную и спорогенную клетки или непосредственно превратиться в материнскую клетку макроспор. Материнская клетка макроспор делится мейозом, образуя 4 гаплоидные макроспоры. Расположение тетрады преимущественно линейное, а также Т-образное, крест-накрест, тетраэдрическое (рис.8).

Как правило, из одной из четырех макроспор формируется зародышевый мешок. К созреванию зародышевого мешка нуцеллус лизируется. Типы зародышевых мешков определяются тремя признаками: 1) числом макроспор, образующих зародышевый мешок; 2) числом митозов; 3) поведением ядер (их распределение). Названия типов зародышевых мешков дают по названию таксонов, где они встречаются. Различают 16 типов. Преобладающий тип – *Polygonum* (рис. 9, 10, 11).

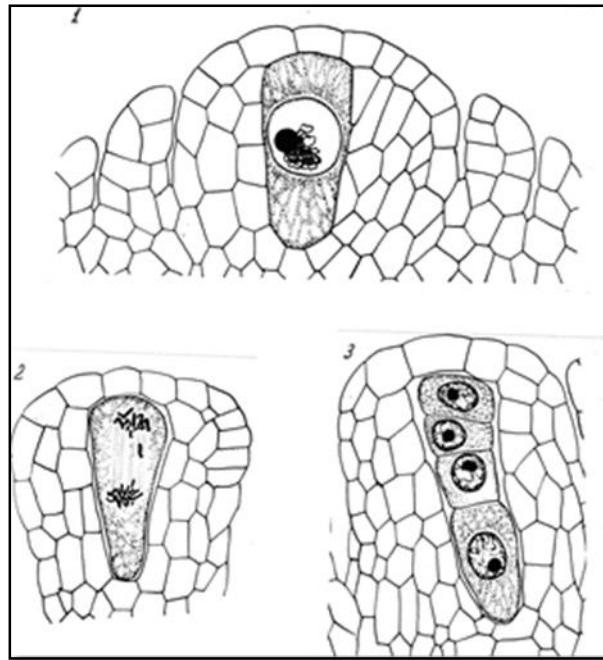


Рис. 8. Макроспорогенез у роговика Хенке (*Ceratochloa haenkeana* C.Presl.): 1 – макроспороцит в семязачатке, начало развития интегументов; 2 – анафаза первого деления, видна отставшая хромосома; 3 – тетрада макроспор (Верецагина В.А., 1987)

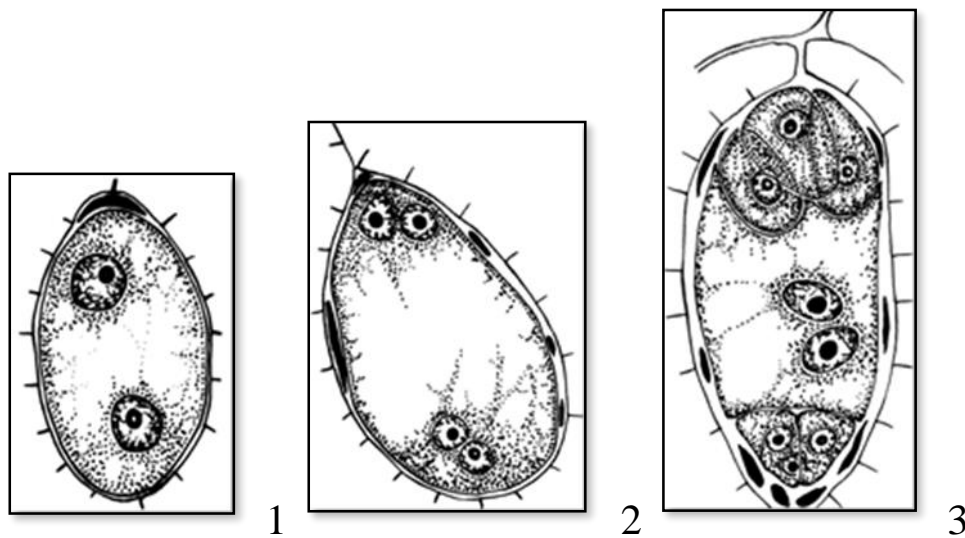


Рис. 9. Развитие зародышевого мешка у люцерны посевной *Medicago sativa* L.: 1–3 – двух-, четырех-, восьмиядерный зародышевые мешки

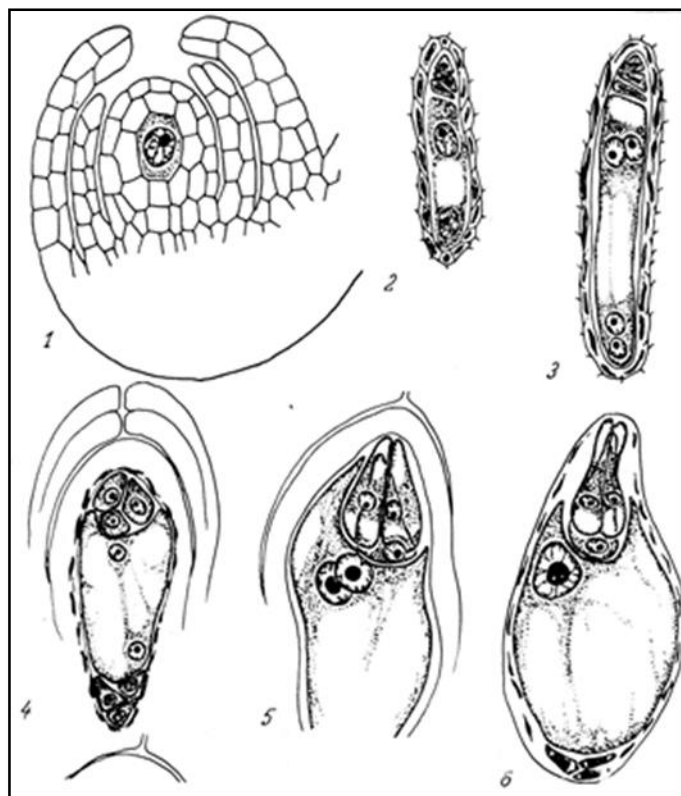


Рис. 10. Развитие зародышевого мешка у дербенника иволистного (*Lythrum salicaria* L.): 1 – макроспора в нуцеллусе семязачатка; 2-4 – двух-, четырех-, зрелый зародышевые мешки; 5 – яйцевой аппарат и полярные ядра; 6 – слияние полярных ядер и дегенерация антипод

Если в образовании зародышевого мешка участвует одна макроспора, то зародышевый мешок моноспорический. Если две – биспорический, четыре – тетраспорический.

Примеры разных типов зародышевых мешков:

Моноспорические: Polygonum-тип (развивается из халазальной макроспоры, трехмитозный) и Oenothera-тип (из микропилярной макроспоры, двухмитозный).

Биспорический: Allium-тип (из диады макроспор, халазальная делится 3 раза).

Тетраспорические: Fritillaria-тип, Tulipa-тип, Perperonia-тип и др. (все четыре макроспоры участвуют в образовании зародышевого мешка) (Паламарчук, 1965, 1970; Сравнительная эмбриология цветковых, 1981).

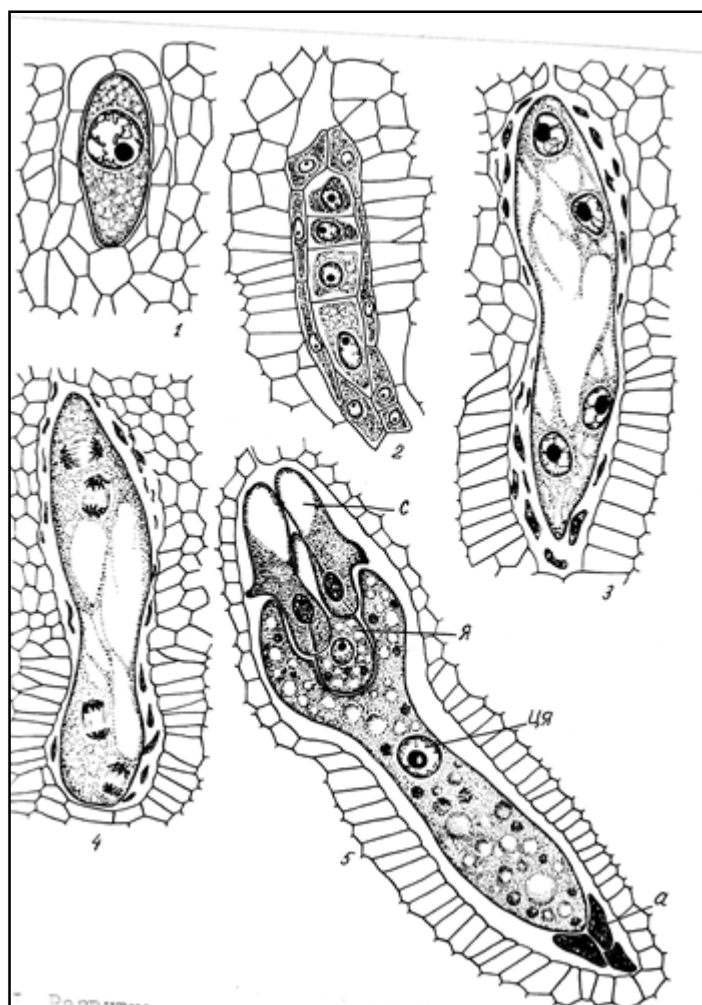


Рис. 11. Развитие зародышевого мешка у душицы обыкновенной (*Origanum vulgare* L.): 1 – материнская клетка макроспор; 2 – тетрада макроспор; 3 – четырехядерный зародышевый мешок; 4 – третье митотическое деление в зародышевом мешке; 5 – зрелый зародышевый мешок: с – синергиды; я – яйцеклетка; ця – ядро центральной клетки; а – дегенерирующие антиподы (Верещагина В.А., 1987)

Строение зрелого зародышевого мешка. Яйцевой аппарат состоит из яйцеклетки и двух синергид. Ядро яйцеклетки более крупное. В базальной части яйцеклетки располагается вакуоль. Целлюлозная оболочка только в базальной части. В синергидах расположение ядер обратное. Вакуоли – в апикальной, ядро и нитчатый аппарат в базальной части. Нитчатый аппарат способствует проникновению пыльцевой трубки. Центральная клетка самая большая и сильно вакуолизирована. Она охватывает яйцевой и антиподальный комплексы. В центре клетки два гаплоидных полярных ядра (рис. 12).

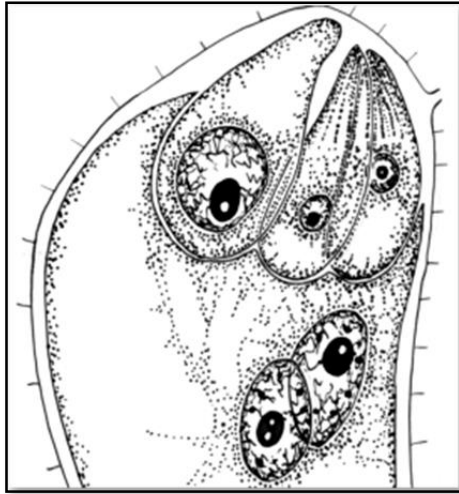


Рис. 12. Зрелый зародышевый мешок люцерны посевной
(*Medicago sativa* L.)

Центральная клетка в дальнейшем после двойного оплодотворения дает эндосперм. Число антипод зависит от типа зародышевого мешка. В основном – три. Антиподы эфемерны. Есть виды, где число антипод может достигать 300. У *Oenothera*-типа антиподы отсутствуют. Антиподы выполняют роль гаусториев. У некоторых растений ядра их полиплоидны.

У люцерны посевной в одном пестике образуется в среднем 9-10 семязачатков, но не все семязачатки фертильны. Наблюдается дегенерация (стерильность) некоторых семязачатков до опыления, их число составляет в среднем 1-2 на завязь. Дегенерация семязачатков в большой степени связана со стерильностью зародышевого мешка. В стерильных семязачатках сохраняются клетки эпидермиса нуцеллуса, содержащие каллозу. После обработки флуорохромом в ультрафиолетовом свете они дают желтовато-зеленое свечение. Фертильные семязачатки флуоресценцией не обладают. По форме и размерам фертильные и стерильные семязачатки не различимы (рис.13) (Колясникова, 1989; Верещагина, Колясникова, Новоселова, 2004).

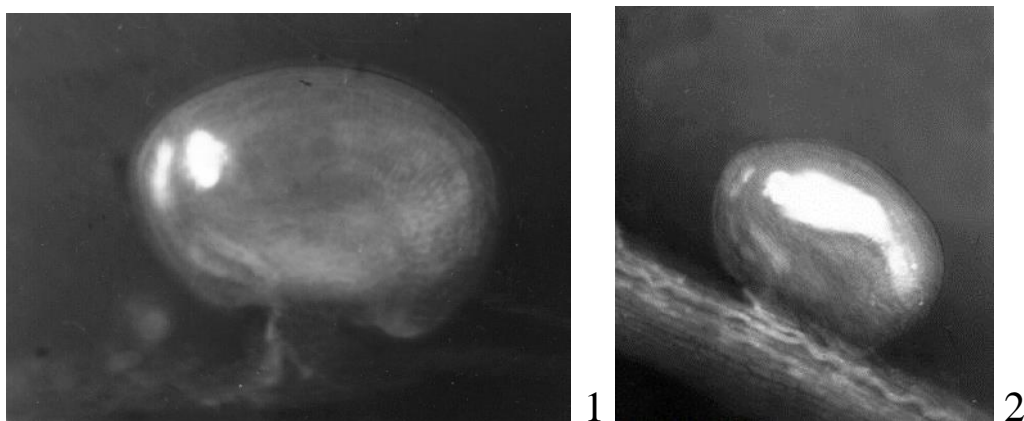


Рис.13. Фертильный (1) и стерильный (2) семязачатки люцерны посевной (*Medicago sativa* L.)

Е.Б. Казачковская (1991) у люцерны посевной и люцерны изменчивой определила критерии фертильности зародышевых мешков. По ее мнению, фертильные зародышевые мешки – это длинные зародышевые мешки, окруженные тонкой углеводной оболочкой. Они почти полностью заполнены крахмальными зернами, имеют хорошо дифференцированный яйцевой аппарат и два полярных ядра до оплодотворения; крахмал занимает не менее двух третей центральной клетки и представлен крупными округлыми или в той или иной степени расчлененными крахмальными зернами. Для определения фертильности зародышевых мешков, их выделяют с помощью ферментативной мацерации и последующей дисекции семязачатков. Сначала завязи обрабатывают растворами ферментов, разрушающих компоненты клеточных стенок, далее с помощью микроигл выделяют из семязачатка зародышевый мешок. В качестве мацерирующего агента можно использовать цитазу, аптечные препараты (мезим форте), концентрированные растворы соляной кислоты, растворы щелочи. Вычленение зародышевых мешков позволяет оценить морфологическую полноценность всех элементов зародышевого мешка и уровень накопления запасного вещества – крахмала. При окрашивании раствором йода в йодистом калии целых зародышевых мешков можно определить процент фертильных семязачатков в завязи (Экспресс-методы..., 1988; Способ выделения..., 1991).

Задания для выполнения лабораторных работ по теме «Гинецей, завязь, семязачаток. Макроспрогеноз и развитие женского гаметофита»:

1. На постоянном препарате поперечного среза завязи лилии рассмотреть с помощью микроскопа трехгнездную завязь с двумя семязачатками в каждом гнезде. Зарисовать и отметить на рисунке стенку завязи, анатропные семязачатки.
2. Изучить строение семязачатка на постоянных препаратах со срезами бутонов люцерны посевной. Зарисовать кампилотропный, красинуцеллятный семязачаток люцерны, отметить на рисунке семяножку, интегументы, микропиле, нуцеллус.
3. Рассмотреть с помощью микроскопа постоянные микропрепараты со срезами семязачатков люцерны на разных стадиях развития зародышевого мешка по Polygonum-типу. Зарисовать строение 2-, 4-, 8-ядерного зародышевых мешков.
4. Изучить на постоянных микропрепаратах строение зрелых зародышевых мешков некоторых культурных растений (люцерна, козлятник, клевер и др.). Зарисовать и отметить яйцеклетку, синергиды, полярные ядра или центральное диплоидное ядро.
5. Рассмотреть рисунки с микропрепаратов зародышевых мешков ветреницы алтайской (приложение 6). Определить стадии развития и детали строения зрелых зародышевых мешков, отмеченных номерами 1-6.
6. Выделить под бинокулярной лупой с помощью микроигл зародышевые мешки некоторых культурных растений. Окрасить их раствором йода в йодиде калия. Рассмотреть с помощью микроскопа, определить процент фертильных зародышевых мешков. Оформить таблицу «Фертильность семязачатков» (приложение 7).

Контрольные вопросы

1. Развитие и строение семязачатков, их типы.
2. Классификация нуцеллуса в зависимости от степени его развития.

3. Ультраструктура, цито- и гистохимия макроспор и зародышевых мешков.
4. Характер и причины нарушений в ходе споро- и гаметогенеза.
5. Чем отличается строение зрелого зародышевого мешка от восьмиядерного?
6. Строение клеток яйцевого аппарата.
7. Характеристика антипод.
8. Классификация типов образования зародышевых мешков.
9. Определение фертильности семязачатков.
10. Последовательность приготовления временных препаратов для изучения фертильности-стерильности семязачатков.
11. В чем отличие метода окрашивания зародышевых мешков йодом от люминесцентной микроскопии?
12. Какое практическое значение имеет определение хода макроспорогенеза для селекции?

5 ОПЫЛЕНИЕ И ДВОЙНОЕ ОПОЛОДОТВОРЕНИЕ

Опыление – процесс переноса пыльцы на рыльце пестика. Различают два типа опыления: самоопыление и перекрестное опыление. У покрытосеменных растений преобладает перекрестное опыление. Реже встречается самоопыление. Постоянное самоопыление считают тупиком эволюции, ведущим к деградации.

При самоопылении пыльца одного растения попадает на рыльце пестика этого же растения. Этот тип свойственен только обоеполым цветкам. Самоопыление характерно для пшеницы, фасоли, гороха, томата и др. культурных растений, из дикорастущих – для седмичника, майника, копытня, одноцветки, голубики, фиалки, кислицы и др. (Верещагина, 1968).

При перекрестном опылении пыльца с цветков одного растения попадает на рыльца пестиков других растений данного вида. Перекрестное опыление широко представлено у покрытосеменных растений. Различают два способа перекрестного опыления: биотическое (с помощью живых агентов – опылителей) и абиотическое (с помощью неживых агентов – ветра и воды).

Прогамная фаза оплодотворения включает следующие события: прилипание пыльцевых зерен к рыльцу, гидратацию пыльцевых зерен, активацию ферментных систем, узнавание пыльцы, набухание и прорастание пыльцевых зерен, рост пыльцевой трубки, излияние содержимого пыльцевой трубки. Экзина и интина пыльцевого зерна являются физиологически активными. Пыльцевые зерна к моменту высыпания из пыльников сильно обезвожены. При попадании на рыльце и прилипанию пыльцевого зерна начинается его гидратация – поступление воды из тканей рыльца (рис.14).

Пыльцевое зерно набухает, начинается рост пыльцевой трубки. Все рыльца делятся на два типа: «влажные» с поверхностным секретом и «сухие», без секрета с папиллами (сосочками). Папиллы покрыты пелликулой, которая участвует во взаимодействии рыльца и пыльцевого зерна. Первые – гладкие с поверхности, характерны для растений семейств: бобовые, пасленовые, лилейные и др. Вторые – встречаются у растений

семейств: астровые, капустные, злаковые и др. (Вопросы частной эмбриологии растений, 1992)

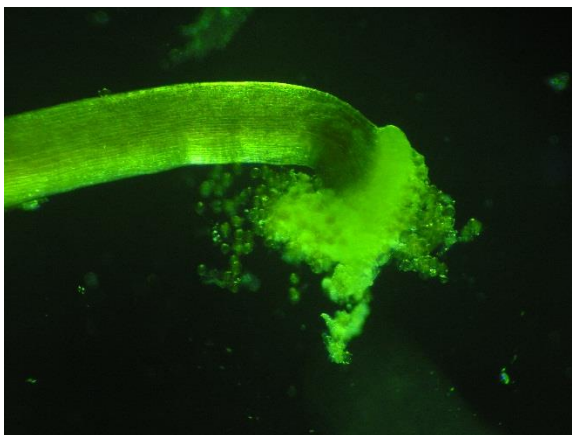


Рис. 14. Пыльцевые зерна на рыльце пестика клевера гибридного (*Trifolium hybridum* L.)

Столбики в пестиках также делятся на два типа: открытые (полые) и закрытые. В закрытых столбиках центральную часть занимает проводниковая ткань. Прорастание пыльцевого зерна начинается с выпячивания интины через проростковую пору. Оболочка пыльцевой трубки состоит из двух слоев: внутреннего (каллозного) и наружного (пектоцеллюлозного). В кончике пыльцевой трубки находится вегетативное и генеративное ядра. По мере роста в пыльцевой трубке образуются каллозные пробки, которые отсекают ее верхушечную часть от остальной (рис. 15).

Сначала пыльцевая трубка растет за счет питательных веществ самого пыльцевого зерна, затем питается за счет веществ рыльца, столбика, завязи. На рыльце гораздо больше растущих пыльцевых зерен, чем число семязачатков. Но скорость роста пыльцевых трубок различна. Некоторые останавливают рост и образуют булабовидные вздутия. В норме только определенное число пыльцевых трубок, которое приблизительно соответствует числу семязачатков в завязи, дорастает до зародышевого мешка. В зародышевый мешок входит только одна пыльцевая трубка (Вишнякова, 1986).

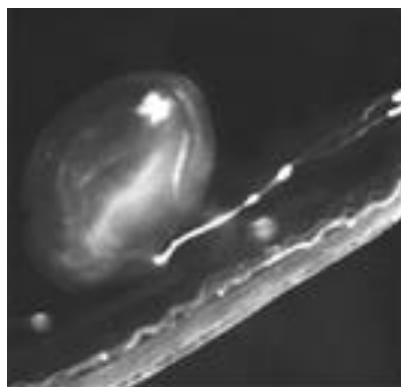


Рис. 15. Проращение пыльцевой трубки в микропиле семязачатка люцерны посевной (*Medicago sativa* L.)

При самонесовместимости пыльца не закрепляется на рыльце, или пыльцевые трубки аномально утолщаются или разветвляются. Вхождение пыльцевой трубки в зародышевый мешок через микропиле наиболее типичное и называется порогамией. Иногда пыльцевая трубка входит через халазу или сбоку (халазогамия, мезогамия). Проникнув в зародышевый мешок, пыльцевая трубка обычно изливает свое содержимое в одну из синергид, которая после этого разрушается. Иногда разрушаются обе синергиды. Принято считать, что синергиды обладают хемотропической функцией и играют роль в привлечении пыльцевых трубок к зародышевому мешку.

Два спермия из пыльцевой трубки попадают в зародышевый мешок. Один спермий сливается с яйцеклеткой (сингамия), образуя диплоидную зиготу. Вторым спермием сливается с полярными ядрами (тройное слияние), давая триплоидное ядро эндосперма (рис. 16, 17).

Время, протекающее между опылением и оплодотворением, различно у разных растений и колеблется от одного часа до нескольких месяцев, чаще всего составляет 1-2 суток. Например, у пшеницы через 5-15 мин. после попадания пыльцы на рыльце видны многочисленные пыльцевые трубки в тканях пестика, которые достигают зародышевого мешка через 20-25 мин. Затем один спермий проникает в яйцеклетку, в цитоплазме которой находится около часа, претерпевая дальнейшие превращения. Весь процесс от контакта ядра спермия с ядром яйцеклетки до выделения одного (или двух) ядрышек занимает пять-шесть часов (Батыгина, 2002).

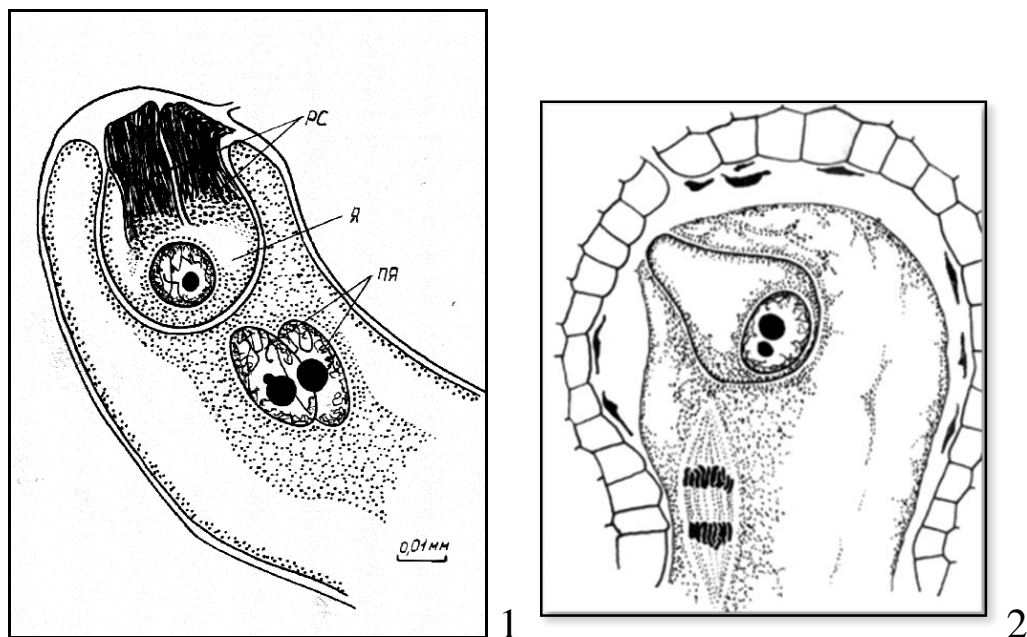


Рис. 16. Двойное оплодотворение: 1 – *Medicago falcata* L. (тройное слияние полярных ядер и ядра спермия); 2 – *M. sativa* L.: рс – разрушенные синергиды, я – яйцеклетка, пя – полярные ядра

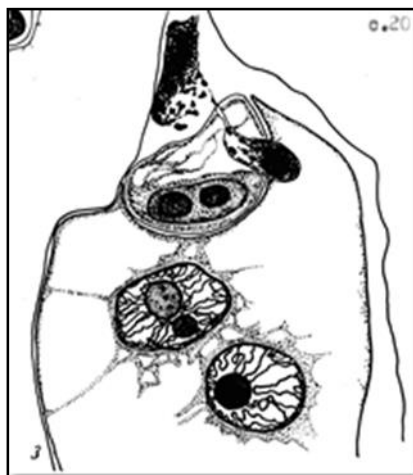


Рис. 17. Двойное оплодотворение румянки (*Echium russicum* J.F.Gmel.): в ядре яйцеклетки видно ядрышко спермия, второй спермий сливается с верхним полярным ядром (Верещагина В.А., 1983)

Е.Н. Герасимова-Навашина (1951) выделила три типа оплодотворения: премитотический, постмитотический и промежуточный. При премитотическом типе оплодотворения ядра спермия и яйцеклетки объединяются до их вступления в митоз. При постмитотическом – слияние ядер происходит после вступления их в митоз. Промежуточный тип оплодотворения характеризуется кариогамией во время митоза. Дж. Кармишель и В. Фридман (1996) выделили три типа кариогамии (слияния ядер) у семенных растений: G_1 (репликация ДНК

происходит после слияния ядер), S (репликация ДНК происходит во время слияния ядер), G₂ (репликация ДНК происходит до начала слияния ядер, в гаметах). Исходя из современной концепции контроля клеточного цикла и учитывая цитэмбриологические данные по процессу оплодотворения у разных видов покрытосеменных растений в случае премитотического типа оплодотворения возможны три типа кариогамии: G₁, S, G₂; а при постмитотическом и промежуточном типах оплодотворения только один – М-кариогамия.

Таким образом, слияние ядер гамет может происходить в разные периоды клеточного цикла, а репликация ДНК – на разных этапах оплодотворения (после слияния ядер, перед концом слияния и до оплодотворения), что и определяет тип кариогамии. Особенности клеточного цикла яйцеклетки-зиготы и тип кариогамии скоррелированы с типами развития зародышевого мешка (16 типов), семязачатка (красси- и тенуинуцеллярный) и эндосперма. Ядра мужских и женских гамет у разных видов растений проходят интерфазу с разной скоростью, чем и обусловлена асинхронность их вступления в периоды клеточного деления.

Задания для выполнения лабораторной работы по теме «Опыление и двойное оплодотворение»:

1. Рассмотреть под бинокулярной лупой отпрепарированные пестики разных культурных растений. Выявить разнообразие строения поверхности рыльца, определить наличие пыльцевых зерен на них. Зарисовать.
2. Изучить постоянные микропрепараты по оплодотворению яйцеклетки и вторичного ядра зародышевого мешка у люцерны посевной и других объектов. Зарисовать зиготу, разрушенные синергиды, тройное слияние полярных ядер со спермием.

Контрольные вопросы

1. Как протекает прогамная фаза оплодотворения?
2. Последовательность событий прогамной фазы оплодотворения.

3. Прорастание пыльцы и рост пыльцевых трубок в тканях пестика и способы вхождения пыльцевых трубок в зародышевый мешок.
4. Типы взаимодействия в системе пыльца – пестик.
5. Ультраструктурные и цитохимические изменения тканей пестика, происходящие в период прорастания пыльцы.
6. Что такое порогамия?
7. Какова роль синергид в оплодотворении?
8. Кто открыл двойное оплодотворение у покрытосеменных растений?
9. Какова биологическая роль двойного оплодотворения?
10. Нарушения нормального процесса двойного оплодотворения.

6 РАЗВИТИЕ ЗАРОДЫША И ЭНДОСПЕРМА

Эндосперм служит источником питания для развивающегося зародыша. По характеру деления первичного ядра эндосперма различают три типа: нуклеарный, клеточный и гелобиаальный.

Нуклеарный (ядерный) эндосперм. Деление ядер не сопровождается образованием перегородок. Образуется ценоцитная фаза. В некоторых случаях – образовавшиеся ядра остаются свободными до конца существования эндосперма. В других случаях – свободные ядра на более поздних стадиях развития разделяются перегородками, и их последующие деления также сопровождаются образованием клеточных стенок. Иногда могут образовываться гаустории – выросты из нескольких одно или многоядерных клеток, выдающиеся за пределы зародышевого мешка. Они предназначены для извлечения нужных развивающемуся зародышу питательных веществ из окружающих тканей. Нуклеарный тип развития эндосперма является наиболее распространенным среди покрытосеменных растений.

Клеточный (клеточный) эндосперм. Деление ядер сопровождается образованием клеточных перегородок. Образуется клеточная фаза (рис.18). При клеточном типе эндосперма гаустории встречаются особенно часто.

Гелобиаальный (промежуточный) эндосперм. Сначала образуется перегородка. Выделяется микропилярная и халазальная части эндосперма. В микропилярной части деление ядер идет по нуклеарному типу с последующим образованием перегородок. В халазальной части – перегородок нет. В халазальной камере часто образуются гаустории.

Независимо от способа образования вполне сформировавшийся эндосперм состоит из довольно крупных клеток, накапливающих запасные вещества в виде крахмала, жиров, алейрона или гемицеллюлозы. У некоторых растений по мере развития зародышевого мешка нуцеллус не полностью расходится, а частично сохраняется, превращаясь в запасную ткань – перисперм, состоящий из диплоидных клеток.

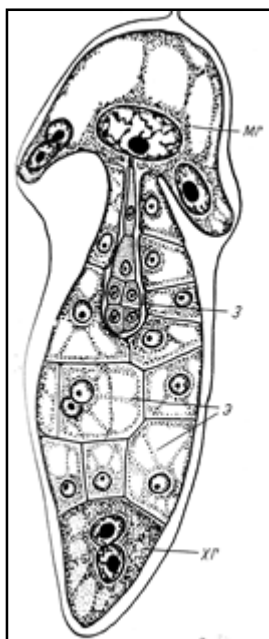


Рис. 18. Зародыш и клеточный эндосперм душицы обыкновенной (*Origanum vulgare* L.): з – зародыш; э – эндосперм; хг – халазальный гаусторий; мг – микропиллярный гаусторий (Верещагина В.А., 1987)

Триплоидный эндосперм покрытосеменных растений является новообразованием по сравнению с эндоспермом голосеменных. Это более экономичный питающий орган, потому что он развивается лишь после оплодотворения яйцеклетки, когда образование зародыша, потребляющего питательные вещества, уже predetermined.

Зигота перед делением проходит фазу созревания или покоя. Первое деление зиготы дает две клетки: апикальную и базальную. Базальная дает суспензор или подвесок. Апикальная – глобулярное тело с радиальной симметрией. В зависимости от числа делений и направления перегородок различают несколько типов развития зародыша. Рассмотрим некоторые из них.

1. Раеoniad тип. Зигота некоторое время развивается как ценоцит путем свободного деления ядер без образования клеточных перегородок.

2. Ріперад тип. Зигота делится продольной перегородкой.

3. Зигота делится поперечной перегородкой.

а) апикальная клетка делится продольно:

- базальная клетка не участвует в построении зародыша

– Onagrad-тип.

- апикальная и базальная клетки участвуют в построении зародыша – Asterad-тип.

б) апикальная клетка делится поперечно:

- базальная клетка не участвует в построении зародыша, превращаясь в подвесок – Caryophyllad-тип (рис. 19, 20).

- базальная клетка делится, образуя подвесок – Solanad-тип.

- базальная клетка участвует в построении зародыша – Chenopodiad-тип.

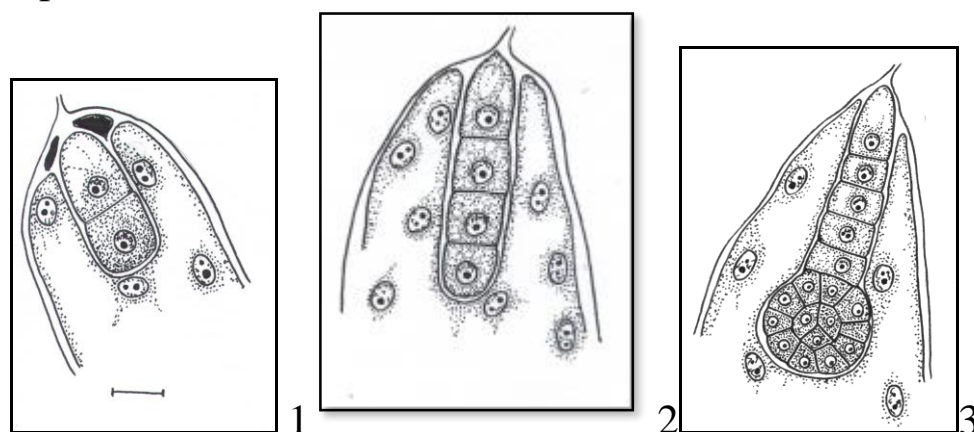


Рис. 19. Развитие зародыша у донника лекарственного (*Melilotus officinalis* (L.) Pall.)

1 – двухклеточный проэмбрио и ядра эндосперма; 2 – четырехклеточный проэмбрио и ядра эндосперма; 3 – шаровидный зародыш и ядра эндосперма

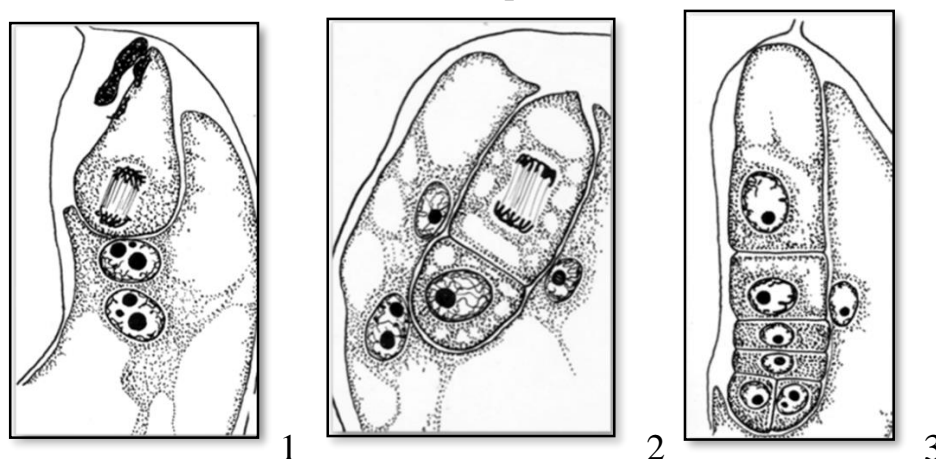


Рис. 20. Развитие зародыша и эндосперма у видов рода *Medicago*: 1 – телофаза зиготы *Medicago caerulea* Less.; 2 – двухклеточный проэмбрио *M. trautvetteri* Sumn., 4 – линейный предзародыш *M. falcata* L.

Процесс эмбриогенеза разделяют на несколько стадий, отражающих изменения морфогенеза: проэмбриональную (от

зиготы до дифференциации эмбриодермы), глобулярную (от дифференциации эмбриодермы до инициации семядолей), сердечковидную (первые этапы формирования семядолей), торпедовидную (активный рост зародыша и формирование первичных структур гипокотилия и зародышевого корешка), стадию сформированного и зрелого зародышей (Батыгина, 2002).

Обычно сформированный зародыш состоит из нескольких основных органов, обеспечивающих развитие проростка: эпикотилия (надсемядольного колена), располагающегося между основаниями семядолей; самих семядолей (зачатков первых листьев), гипокотилия (подсемядольного колена), располагающегося между основанием семядолей и зародышевого корешка, и собственно зародышевого корешка. Если эпикотиль достаточно развит и несет на себе зачатки первых настоящих листьев, его называют почечкой. В зависимости от числа семядолей в зародыше различают дву- и односемядольные зародыши.

Зародыш, эндосперм и окружающие их материнские ткани семязачатка образуют семя. Ткани семени имеют разнообразное происхождение. Зародыш и эндосперм ведут начало от гаметофита (зародышевого мешка), оба образуются в результате оплодотворения, перисперм и интегументы – из тканей спорофита материнского растения.

Приготовление микроскопических срезов является одним из классических методов цитоэмбриологического анализа. Постоянные микротомные препараты имеют практически неограниченный срок хранения и не теряют при этом своего высокого качества.

Приготовление тотальных препаратов растительных клеток включает следующие основные этапы:

- а) сбор материала;
- б) фиксацию;
- в) приготовление срезов и наклеивание на предметные стекла;
- г) окраску объекта;
- д) заключение среза под покровное стекло.

При сборе материала важно учитывать целый ряд факторов: стадию развития бутона, цветка, плода (для изучения разных этапов микро-, макроспорогенеза, развития зародышевого мешка, процессов двойного оплодотворения, формирования зародыша и эндосперма и др.); количество собранного материала (что важно для статистической обработки полученных результатов); погодные условия и пр.

Фиксация – это обработка жидкостью, которая мгновенно убивает живой объект без изменения прижизненной структуры его клеток. Для учебных целей обычно используют фиксатор Кларка, в состав которого входят 3 части этилового спирта (96%) и 1 часть ледяной уксусной кислоты. Он прост по химическому составу, долго хранится, быстро фиксирует растительный объект (от 2 до 12 часов). Фиксировать можно только свежий материал. В сосуд с зафиксированным объектом помещается этикетка с номером. Подробные сведения приводятся в ведомости для фиксации (приложение 8).

После фиксатора материал промывают трижды по 1-2 часа в 80% этаноле до полного исчезновения запаха уксусной кислоты. Обезвоживание и уплотнение материала необходимы для последующей заливки в парафин, чтобы приготовить тонкие микротомные срезы толщиной несколько микрон. Парафин не смешивается со спиртом, но хорошо растворяется в хлороформе. Поэтому растительный объект помещают на 1-2 часа в промежуточные жидкости с разной концентрацией хлороформа и этилового спирта: 1) 1 часть хлороформа + 3 части спирта; 2) 1 часть хлороформа + 1 часть спирта; 3) 3 части хлороформа + 1 часть спирта; 4) чистый хлороформ. Далее растительный материал в хлороформе добавляют к расплавленному парафину и ставят в термостат при температуре 56°.

Для резки на микротоме объект должен быть перенесен на деревянный держатель в виде парафинового блока (рис. 21). После этого его можно резать на микротоме. Салазочный микротом – прибор, предназначенный для получения тонких срезов различных объектов (рис. 22).

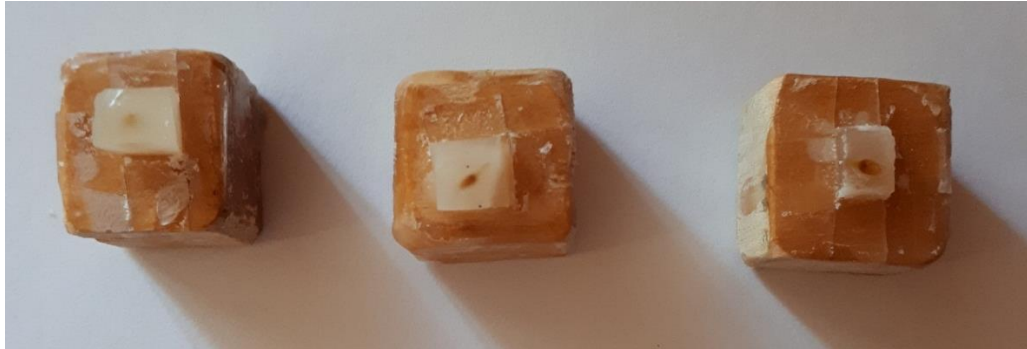


Рис. 21. Последовательные этапы заливки бутонов «методом закапывания» блоков



Рис.22. Салазочный микротом

Нож микротомы свободно перемещается на салазках, а деревянный держатель с парафиновым блоком прочно укреплен в объектодержателе. Микрометрическим винтом устанавливают необходимую толщину срезов в микронах. Для эмбриологических исследований толщина срезов варьируется от 15 до 25 микрон. Срезы снимают с ножа мягкой кисточкой и наклеивают на чистые предметные стекла. Для этого на обезжиренное сухое предметное стекло наносят каплю смеси куриного белка с глицерином, далее капают дистиллированную воду.

Срезы располагают в средней части предметного стекла, удаляют излишки воды и слегка нагревают с тыльной стороны над пламенем спиртовки, чтобы срезы расправились и приклеились (рис.23).

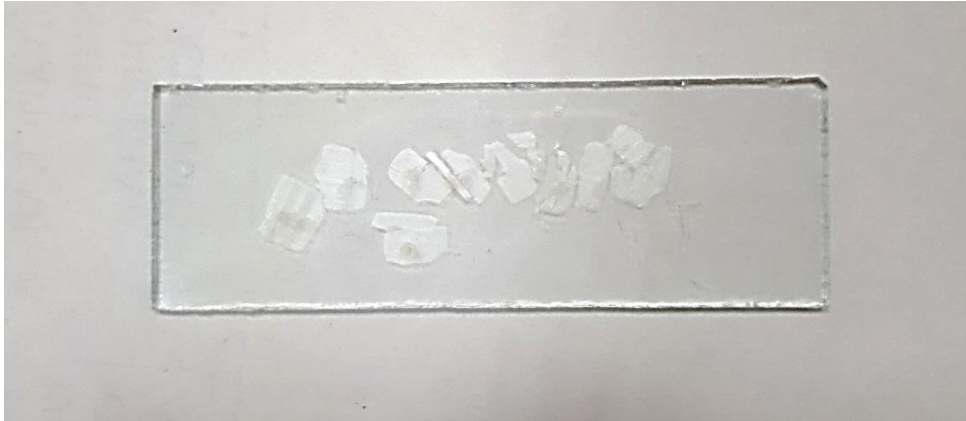


Рис. 23. Срезы бутонов томата съедобного (*Lycopersicon esculentum* L.) на предметном стекле

Парафиновые срезы, наклеенные на предметные стекла, непосредственно изучать под микроскопом трудно. Необходимо срезы освободить от парафина и окрасить. Для этого предметные стекла последовательно погружают в раствор ксилола, затем спирта, затем идет окрашивание. После окраски снова обезвоживание в спирте, замещение спирта на ксилол и заключение в канадский бальзам под покровное стекло (рис.24, приложение 9).



Рис. 24. Постоянный окрашенный микропрепарат бутонов томата съедобного (*Lycopersicon esculentum* L.)

Задания для выполнения лабораторной работы по теме «Развитие зародыша и эндосперма»:

1. Для приготовления постоянных микротомных препаратов, провести обезвоживание зафиксированного материала (цветки культурных растений) путем замены воды спиртом. Поместить объект в растворитель парафина – путем замены спирта растворителем (хлороформом). Заключить объект в парафин путем замещения растворителя парафином (при нагревании в термо-

стате). Далее изготовить парафиновые блоки с бутонами растений. Получить микротомные срезы объекта. Наклеить парафиновые срезы с объектом на предметные стекла. Провести окрашивание срезов гематоксилином по Гейденгайну. Заключение окрашенных срезов в канадский бальзам под покровное стекло (приложение 9).

2. Изучить с помощью микроскопа готовые постоянные микропрепараты с разными стадиями развития зародышей люцерны посевной. Зарисовать и отметить двуклеточный проэмбрио, линейный проэмбрио, предзародыш, шаровидный зародыш.
3. Рассмотреть с помощью микроскопа на постоянных препаратах оплодотворенных цветков люцерны нуклеарный и клеточный эндосперм. Выполнить рисунки строения эндосперма.
4. Рассмотреть с помощью микроскопы постоянные препараты поперечного и продольного срезов зерновки пшеницы. Зарисовать зародыш и эндосперм. Отметить на рисунке зародышевый корешок, колеоптиль, колеоризу, корневой чехлик, почечку, щиток, эндосперм.

Контрольные вопросы

1. Взаимодействие между зародышем и эндоспермом.
2. Типы эндосперма.
3. Ультраструктура эндосперма и зародыша.
4. Примеры растений с клеточным эндоспермом.
5. У растений каких семейств встречается нуклеарный эндосперм?
6. Какова последовательность формирования гелобиального эндосперма?
7. Последовательные этапы развития зародыша.
8. Что лежит в основе классификации типов развития зародыша?
9. Характеристика Caryophyllad-типа развития зародыша.
10. На какой стадии развития зародыша нуклеарный эндосперм люцерны преобразуется в клеточный?
11. Нарушения развития эндосперма и зародыша как причина стерильности семян.
12. Последовательные этапы приготовления постоянных микропрепаратов.
13. Устройство микротомы. Техника безопасности при работе на микротоме.

7 АПОМИКСИС

Апомиксис у покрытосеменных растений означает неполовое размножение семенами. Он приводит к формированию матроклинного потомства, представленного в норме точными генетическими копиями материнского растения. Амфимиксис – это половое размножение.

До настоящего времени среди исследователей нет единого мнения в понимании термина «апомиксис», отсутствует и общепринятая классификация форм апомиксиса. Многообразие путей осуществления ключевых эмбриологических процессов – гаметофитогенеза, эмбриогенеза и эндоспермогенеза, осложняют построение простой и лаконичной классификации апомиксиса.

Вводя термин «апомиксис», Винклер придавал ему широкий смысл, причисляя сюда также вегетативное размножение, например, бульбочками, усиками, ризомами и т.д. Позднее многие авторы ограничивали апомиксис только формами семенной репродукции, исключая из него вегетативное размножение.

Апомиксис может быть наследственным или ненаследственным, индуцированным, например, воздействием пыльцевой трубки при опылении, и автономным, т.е. не зависящим от воздействия пыльцевой трубки. В пределах одной систематической группы, например, вида, апомиктическим способом размножения могут обладать все особи (полный апомиксис) или не все (частичный апомиксис). Как правило, в пределах одного семейства и даже рода апомиксис встречается наряду с амфимиксисом.

Согласно одной из классификаций апомиксиса (В.А. Поддубная-Арнольди, 1964) различают 4 категории: партеногенез – образование зародыша из яйцеклетки (диплоидной, реже гаплоидной); апогаметия – образование зародыша не из яйцеклетки, а из других клеток гаметофита; апоспория – образование зародыша из клеток гаметофита, возникшего не из споры, а из клеток спорофита (диплоидной или гаплоидной);

эмбриония – нуцеллярная или интегументальная – образование зародыша вне гаметофита из клеток нуцеллуса или из клеток интегументов семязачатка.

Партеногенез. Нередуцированный является как правило постоянным и характеризуется полной плодовитостью. Развитие зародышевого мешка идет с выпадением редукционного деления и с заменой его митозом. Случаи псевдогамии – стимуляции опылением и прорастанием пыльцевой трубки – очень редки. Пыльца, как правило, бывает стерильна, однако встречаются роды (например, лапчатка), апомиктические виды которых дают семена лишь после оплодотворения вторичного ядра зародышевого мешка (без оплодотворения яйцеклетки).

Интересная особенность отмечена у манжетки: задолго до формирования зародышевого мешка микропиле у семязачатков зарастает, что препятствует проникновению пыльцевой трубки. Зародыш и эндосперм начинают развиваться раньше цветения.

Нередуцированный партеногенез отмечен у представителей нескольких десятков семейств, в том числе у лютиковых, розоцветных, капустных, астровых, лилейных, злаков.

У отдельных видов лапчатки, мятлика, ежевики, лютика и др. нередуцированный партеногенез связан с псевдогамией (стимуляция опылением и прорастанием пыльцевой трубки).

Редуцированный партеногенез характеризуется тем, что зародыш образуется из яйцеклетки гаплоидного зародышевого мешка. Этот зародышевый мешок образовался нормальным путем из макроспоры, возникшей в результате обычного мейоза. При этом зародыш образуется не в результате оплодотворения яйцеклетки спермием, а в результате стимуляции пыльцевой трубкой и спермием. Возникают гаплоидные зародыши, развивающиеся в гаплоидные растения.

Редуцированный партеногенез всегда связан с псевдогамией. Войдя в яйцеклетку, спермий дегенерирует в ней. Редуцированный партеногенез проявляется непостоянно, по наследству не передается. Гаплоидные растения, возникшие в результате редуцированного партеногенеза, как правило, бывают стерильными. Редуцированный партеногенез обнаружен

во многих семействах покрытосеменных – у представителей пасленовых, астровых, злаков.

Апогаметия – образование зародыша не из яйцеклетки, а из других клеток зародышевого мешка. Различают два вида апогаметии – нередуцированную и редуцированную.

При нередуцированной апогаметии, также, как и при нередуцированном партеногенезе, диплоидные клетки, из которых развивается зародышевый мешок, образуются в результате мейоза, в котором не состоялась редукция числа хромосом, или в результате заменившего мейоз митоза. Возникшие из таких клеток зародышевые мешки и развивающиеся из их клеток зародыши могут быть названы апоспорическими.

Нередуцированная апогаметия связана с нередуцированным партеногенезом, апоспорией и нуцеллярной эмбрионией. Апогаметические зародыши при этом способе размножения возникают как добавочные к партеногенетическому зародышу; таким образом, здесь проявляется полиэмбриония. Этот тип апогаметии был отмечен у нескольких видов растений (например, манжетки, лука, ястребинки).

Редуцированная апогаметия связана с образованием дополнительных гаплоидных зародышей наряду с диплоидным зародышем, возникшим из нормально оплодотворенной яйцеклетки, обнаружена у ряда видов из разных семейств.

Случаи апогаметии описаны среди покрытосеменных растений очень редко. По мнению некоторых авторов (Хохлов, Зайцева, Куприянов, Шишкинская, Юдакова и др.), в зародышевом мешке возможно развитие вместо синергид и антипод «яйцеклеткоподобных» клеток. Для обозначения подобных клеток В.С. Тырнов (2000) предлагает термин «гаметоиды» и вместо термина «апогаметия» – «гаметоидный партеногенез».

Апоспория характеризуется образованием зародыша из яйцеклетки зародышевого мешка, возникшего не из споры (и не из диплоидной клетки, образовавшейся в результате деления, подменившего типичный мейоз), и из клетки спорофита и, возможно, в некоторых случаях из клеток нуцеллуса, сходных с археспориальными клетками.

Апоспория связана с диплоидным числом хромосом, так как апоспорические зародышевые мешки возникают из вегетативных клеток спорофита без редукционного деления и без образования макроспор, в результате деления обычного митоза. Изредка образуются типичные восьмиядерные мешки, а чаще всего возникают уклоняющиеся формы, дегенерирующие, стерильные.

Апоспория редко встречается у покрытосеменных, она обнаружена в небольшом числе семейств, главным образом у астровых.

Эмбриония – образование зародыша вне зародышевого мешка, из клеток нуцеллуса – нуцеллярная эмбриония – или из клеток интегументов семязачатка – интегументальная эмбриония. Нуцеллярная и интегументальная (адвентивная эмбриония) – тип апомиксиса, при котором в нуцеллусе (при крассинуцеллярных семязачатках) и во внутреннем интегументе (при tenuinuцеллярных семязачатках) дифференцируются инициальные клетки (эмбриоциты), способные дать начало адвентивным зародышам, т.е. зародышам, приходящим в зародышевый мешок извне. У большинства растений этот тип апомиксиса сочетается с амфимиксисом, и адвентивные зародыши развиваются в зародышевом мешке, возникшем вследствие мейоза. Известны растения, у которых адвентивная эмбриония встречается совместно с апоспорией (яблоня, груша и др.). В этих случаях возникают проблемы в развитии семени, связанные большей частью с формированием эндосперма. Адвентивные зародыши проникают в зародышевый мешок на начальных этапах их развития, но чаще после завершения процесса двойного оплодотворения и начала развития эндосперма. Появление в семязачатке и активация эмбриоцитов не связаны ни с опылением, ни с оплодотворением. Присутствие в развивающемся семени одновременно полового зародыша и адвентивных вполне возможно. Полиэмбриония – развитие в семени нескольких зародышей, характерная черта адвентивной эмбрионии. Зародыши неполовой природы могут возникать как в микропиллярной зоне семени, так и в халазальной, и расти в противоположных направлениях, навстречу

друг другу. Вероятно, конкуренция между зародышами решает вопрос об их выживании. Зародыши полового происхождения оказываются менее конкурентоспособными, чем адвентивные, они погибают часто на стадии проэмбрио (Наумова, 2008). Адвентивная эмбриония – один из наиболее распространенных в природе типов апомиксиса. Встречается это явление спорадически по всему филогенетическому древу цветковых. Наиболее характерно оно для деревьев, кустарников и многолетних травянистых, произрастающих в области тропиков и субтропиков, большинство имеют высокие числа хромосом и эволюционно представляют собой полиплоиды.

Н.А. Шишкинская (1991) предложила классификацию апомиксиса, в которой три типа развития нередуцированного зародышевого мешка, что полнее отражает суть процессов, имеющих место при его формировании (рис. 25).

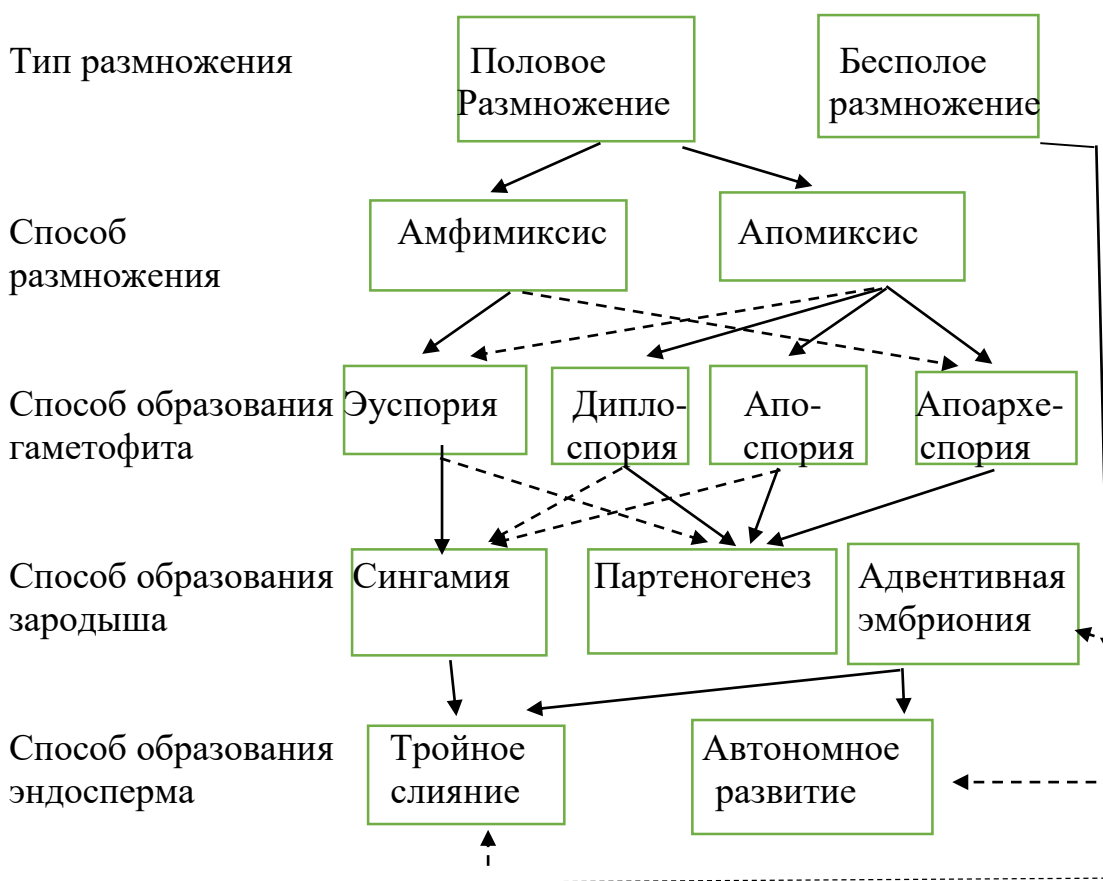


Рис. 25. Система семенного размножения покрытосеменных растений (Шишкинская, 1991)

Согласно классификации этого автора: диплоспория – развитие женского гаметофита из нередуцированной макроспоры, апоспория – из материнской клетки макроспор, апоархеспория – из соматической клетки семязачатка. В пределах каждого из типов развития зародышевого мешка, в свою очередь, можно выделить еще несколько подтипов, различающихся по ряду критериев, например, по механизмам нередукции и по числу митотических делений, имеющих место в онтогенезе зародышевого мешка (Юдакова, 2017).

Таким образом, апомиксис представляет собой очень сложное и многообразное явление. Различные типы апомиксиса могут совмещаться в особях одного и того же вида.

В некоторых случаях апомиксис имеет ряд преимуществ перед половым размножением – отсутствие зависимости от опыления, более константное потомство, легкое закрепление новых форм. Нередуцированные и редуцированные формы апомиксиса имеют принципиально различное прикладное значение.

Одна из главных перспектив нередуцированного партеногенеза состоит в закреплении гетерозиса у гибридов в силу отсутствия у апомиктов расщепления в последующих поколениях. Многие неблагоприятные факторы (жара, засуха, дожди) отрицательно влияют на пыльцу и ход опыления. Для ряда растений (бобовые, гречиха и др.) потери урожая могут быть вызваны недостатком насекомых – опылителей. В этих случаях из-за отсутствия оплодотворения апомиксис может существенно повысить их семенную продуктивность. У некоторых видов наиболее продуктивны несбалансированные полиплоиды. В частности, у сахарной свеклы наибольший урожай корнеплодов с высокой сахаристостью наблюдается у триплоидных форм. Поэтому закрепление триплоидного уровня на основе апомиксиса позволит обеспечить семеноводство таких форм. С помощью апомиксиса можно предотвратить обмен генами между культивируемыми и дикими видами (Эмбриология растений, 1990).

Практическое использование редуцированного партеногенеза достаточно разнообразно: возможность быстрого (уже

в первом поколении) создания гомозиготных линий; повышение эффективности работ по отбору, клеточной и генетической инженерии; преодоление несовместимости.

Контрольные вопросы

1. Классификации апомиксиса по эмбриологическим признакам.
2. Облигатный и факультативный апомиксис.
3. Соотношение апомиксиса и амфимиксиса.
4. Особенности эмбриологии мужской и женской генеративной сферы апомиктов.
5. Гипотезы о причинах возникновения апомиктов.
6. Эволюционное значение апомиксиса.
7. Гаплоидия и полиэмбриония.
8. Примеры растений с регулярным апомиксисом.
9. Определение термина партеногенез.
10. Закономерности распространения апомиксиса у покрытосеменных растений.
11. Прикладные аспекты гаметофитного апомиксиса.
12. Методы диагностики апомиксиса у покрытосеменных растений.
13. Редуцированный партеногенез, его характеристика.
14. Редуцированный партеногенез, его особенности.

Заключение

В настоящее время, когда все более остро встает вопрос о создании высокопродуктивных сортов, использовании новых видов полезных растений, получении полноценных семян у гибридов, выявлении критических периодов в жизненном цикле растений, необходима подготовка профессиональных кадров, способных на высоком современном научном уровне проводить фундаментальные и прикладные исследования.

В учебно-методическом пособии рассмотрены современные сведения об эмбриологии растений, а именно спорогенез и формирование половых клеток, оплодотворение, развитие зародыша и эндосперма, а также явления апомиксиса, полиэмбрионии и партенокарпии. Приведены разнообразные методы цитоэмбриологического анализа, которые позволяют составить представление о характере развития репродуктивных органов, семян, плодов, используемых как урожай в сельском хозяйстве.

В данном пособии представлены только основные разделы различных аспектов семенного размножения растений. Эмбриология растений включает гораздо более широкий круг проблем, чем отражено в данном учебно-методическом пособии, что делает необходимым использование лекционного материала, а также изучение рекомендуемых основных и дополнительных источников информации. Использование данного учебно-методического пособия позволит обучающимся структурировать полученные знания, интерпретировать необходимую информацию по дисциплине «Эмбриология растений». Теоретический материал, размещенный в каждой главе, является основой для выполнения лабораторных работ, реализуемых во время изучения дисциплины.

Список использованных источников

1. Афанасьева, Н.Б. Ботаника. Экология растений в 2 ч. Часть 1: учебник для вузов / Н. Б. Афанасьева, Н. А. Березина. — 2-е изд., испр. и доп. — Москва : Юрайт, 2021а. — 352 с. // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. — URL: <https://urait.ru/bcode/469173>. — Режим доступа: для авториз. пользователей. — Текст : электронный.
2. Афанасьева, Н. Б. Ботаника. Экология растений в 2 ч. Часть 2: учебник для вузов / Н. Б. Афанасьева, Н. А. Березина. — 2-е изд., испр. и доп. — Москва : Юрайт, 2021б. — 336 с. // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. — URL: <https://urait.ru/bcode/471383>. — Режим доступа: для авториз. пользователей. — Текст : электронный.
3. Баранов, П.А. История эмбриологии растений / П.А. Баранов. — Москва-Ленинград: Изд-во АН СССР, 1955. — 439 с.
4. Батыгина, Т.Б. Размножение растений: учебник / Т.Б. Батыгина, В.Е. Васильева. — СПб: Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2002. — 232 с.
5. Великанова, Е.В. К вопросу искусственного вызывания полиплоидии при регенерации / Е.В. Великанова // Селекция плодово-ягодных растений. М.-Л., 1937. — С. 210-213.
6. Верещагина, В.А. Антэкология растений темнохвойной тайги / В.А. Верещагина // Вопросы биологии семенного размножения: ученые записки. — 1968. — Т. XXIII, вып. 3. — С. 25-28.
7. Верещагина, В.А. Семейство Violaceae / В.А. Верещагина // Сравнительная эмбриология цветковых растений. — Л.: Наука, 1983. — С. 111-115.
8. Верещагина, В.А. Семейство Boraginaceae / В.А. Верещагина // Сравнительная эмбриология цветковых растений. — Л.: Наука, 1987. — С. 211-217.
9. Верещагина, В.А. Репродуктивная биология видов рода *Medicago* L. / В.А. Верещагина, Н.Л. Колясникова, Л.В. Новоселова. — Пермь: Изд-во Перм. ун-та, 2004. — 226 с.
10. Вишнякова, М.А. Исследование прогамной фазы оплодотворения у люцерны в связи с самонесовместимостью / М.А. Вишнякова // Тр. по прикл. ботанике, генетике и селекции. — Л., 1986. — С. 17-22.
11. Вопросы частной эмбриологии растений: учеб. пособие по спецкурсу / Ред. В.А. Верещагина, Л.И. Орел. — Пермь: Перм. ун-т, 1992. — 84 с.
12. Герасимова-Навашина, Е.Н. К цитолого-эмбриологическому пониманию процесса опыления / Е.Н. Герасимова-Навашина // Тр. БИН АН СССР. — 1952. — Сер. 7, вып. 3. — С. 165-211.
13. Магешвари, П. Эмбриология покрытосеменных / П. Магешвари. — М.: Изд-во иностранной лит-ры, 1954. — 439 с.
14. Казачковская, Е.Б. Морфология зародышевых мешков у люцерны и методы ее оценки / Е.Б. Казачковская // Науч.-техн. бюл. /

- ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова; ВАСХНИЛ. – Л., 1991. – Вып. 207. – С.70-71.
15. Колясникова, Н.Л. О росте пыльцевых трубок в завязях люцерны в зависимости от типа опыления и возраста цветка / Н.Л. Колясникова // Экология цветения и опыления растений: межвуз. сб. науч. тр. / Перм. ун-т. – Пермь, 1989. – С. 89-94.
 16. Кордюм, Е.Л. Эволюционная цитозембриология покрытосеменных растений / Е.Л. Кордюм. – Киев: Наук. думка, 1978. – 220 с.
 17. Куприянов, П.Г. Диагностика систем семенного размножения в популяциях цветковых растений / П.Г. Куприянов. – Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 1989. – 94 с.
 18. Модилевский, Я.С. Эмбриология покрытосеменных растений / Я.С. Модилевский. – Киев: Изд-во АН Украинской ССР, 1953. – 224 с.
 19. Навашин, С.Г. Избранные труды: в 2 томах. – М., Л.: Изд-во АН СССР, 1951. – Т.1. – 363 с.
 20. Наумова, Т.Н. Апомиксис и амфимиксис у цветковых растений / Т.Н. Наумова // Цитология и генетика. – 2008. – №3. – С. 51-63.
 21. Дорофеева, М.М. Особенности семенной продуктивности *Iris sibirica* L. / М.М. Дорофеева, Л.В. Новоселова // "Iris-2011": материалы II Московского международного симпозиума по роду Ирис / Отв. ред. В.С. Новиков. – 2011. – С. 61-63.
 22. Паламарчук, И.А. Большой практикум по высшим растениям. Вып. 3. Эмбриология: методическое руководство / И.А. Паламарчук. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1965. – 73 с.
 23. Паламарчук, И.А. Эмбриология растений: курс лекций / И.А. Паламарчук. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1970. – 136 с.
 24. Паушева, З.П. Практикум по цитологии растений / З.П. Паушева. – М.: Изд-во «Колос», 1970. – 255 с.
 25. Поддубная-Арнольди, В.А. Цитозембриология покрытосеменных растений / В.А. Поддубная-Арнольди. – М.: Наука, 1976. – 507 с.
 26. Романов, И.Д. Типы развития зародышевого мешка покрытосеменных растений / И. Д. Романов // Проблемы эмбриологии. – 1976. – С. 72-113.
 27. Савченко, М.И. Морфология семязачатка покрытосеменных растений / М.И. Савченко. – Л.: Наука. Ленинград. отд, 1973. – 110 с.
 28. Сравнительная эмбриология цветковых растений. Winteraceae-Juglandaceae / Отв. ред. М.С. Яковлев. – Л.: Наука, 1981. – 264 с.
 29. Способ выделения и характеристика типов растений люцерны с полной женской стерильностью: метод. указ. / Ред. В.Г. Смирнова. – Л.: Всесоюзный НИИ растениеводства имени Н.И. Вавилова, 1991. – 27 с.

30. Тырнов, В. С. Партеногенез / В.С. Тырнов // Эмбриология растений: Терминология и концепции: в 3 т. – СПб: Изд-во «Мир и семья», 2000. – Т.3. – С. 158-165.
31. Хохлов, С. С. Полиплоидия и апомиксис у покрытосеменных растений / С.С. Хохлов // Апомиксис и селекция. – М.: Наука, 1965. – С. 62-69.
32. Хохлов, С.С. Происхождение гинодиэичных видов в свете исследования эволюции цветка при апомиксисе / С.С. Хохлов // Апомиксис и цитоэмбриология растений. – Саратов, 1978. – С. 3-30.
33. Шишкинская, Н.А. Классификация апомиксиса / Н. А. Шишкинская, О.И. Юдакова // Эмбриология растений: Терминология и концепции: в 3 т. – СПб: Изд-во «Мир и семья», 2000. – Т.3. – С. 158-165.
34. Экспресс-методы определения фертильности зародышевых мешков люцерны: метод. Указ. / Сост.: Л.И. Орел и др; под ред. А.И. Иванова. – Л.: Изд-во ВИР, 1988, – 27 с.
35. Эмбриология растений: использование в генетике, селекции, биотехнологии: в 2 томах. Т.2 / Ред. И.П. Ермакова. – М.: Агропромиздат, 1990. – 463 с.
36. Юдакова, О.И. Методы исследований репродуктивных структур и органов растений: уч.-метод. пособие для студентов биол. фак. / О.И. Юдакова, О.В. Гуторова, Ю.А. Беляченко. – Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 2012. – 44 с.
37. Юдакова, О.И. Системы репродукции растений. Апомиксис: учеб. пособие / О.И. Юдакова. – Саратов, 2017. – 48 с.
38. Яковлев, М.С. Принципы выделения основных эмбриональных типов и их значение для филогении покрытосеменных / М.С. Яковлев // Проблемы ботаники. – 1958. – Вып. 3. – С. 169-195.

Словарь терминов

Актиноморфный цветок – цветок, через который можно провести несколько осей симметрии.

Амфимиксис – сингамия, слияние мужских и женских гамет при самоили перекрестном оплодотворении.

Анафаза – третья фаза деления ядра клетки.

Андроцей – совокупность тычинок (микроспорофиллов) цветка.

Антиподы – клетки зародышевого мешка, которые занимают по отношению к яйцеклетке и синергидам противоположный полюс.

Апомиксис – одна из форм полового размножения растений, при котором семена образуются без полового процесса.

Археспорий – группа клеток в ткани нуцеллуса, которые дифференцируются в макроспороциты; группа клеток в пыльнике, которые дифференцируются в микроспороциты.

Бивалент – две спаренные гомологичные хромосомы, конъюгирующие в профазе I мейоза. Их число в клетке равно числу хромосом в гаплоидном наборе.

Вегетативная клетка пыльцевого зерна – одна из двух клеток мужского гаметофита, контролирующая рост пыльцевой трубки.

Гаметофит – половое поколение в цикле развития растения.

Гаметофит женский – зародышевый мешок или макрогаметофит (4-, 8- или 16-ядерный), формирующийся в семязачатке цветка из макроспоры (археспориальный зародышевый мешок) или соматической клетки (апоспорический зародышевый мешок).

Гаметофит мужской – пыльцевое зерно, образовавшееся из микроспоры; незрелый, в состав входит генеративная и вегетативная клетки и зрелый – состоит из вегетативного ядра и двух спермиев.

Генеративная клетка пыльцевого зерна – одна из двух клеток в пыльцевом зерне, из которого в результате митоза образуются два спермия.

Гинецей – совокупность плодолистиков, производящих семязачатки.

Гипокотиль – подсемядольное колено, часть стебля у проростка цветковых между корешком и семядолями.

Диакинез – заключительная стадия профазы I мейоза.

Диплотена – предпоследняя стадия профазы мейоза I.

Завязь – нижняя часть пестика, из которой развивается плод; вместилище семязачатков, развивающихся в семена.

Зародышевый мешок – женский гаметофит.

Зигоморфный цветок – цветок, через который можно провести одну ось симметрии.

Зигота – диплоидная клетка, образующаяся в результате оплодотворения.

Интегумент – наружный покров нуцеллуса семязачатка, образующий микропиле и формирующий впоследствии семенную кожуру.

Интерфаза – стадия покоя клетки между двумя делениями.

Интина – внутренняя целлюлозная стенка пыльцевого зерна, из которой образуется пыльцевая трубка.

Каллоза – растительный полисахарид, который состоит из остатков глюкозы, соединенных через β -1,3-связи, и относится к β -гликанам.

Карункула – мясистый вырост наружного интегумента в микропилярной части семени.

Колеоризе – специальный многослойный чехол, окружающий зародышевый корешок.

Корпус – внутренний слой клеток верхушечной (апикальной) меристемы.

Лептотена – первая стадия профазы I мейоза.

Макроспора – крупная гаплоидная клетка разноспоровых высших растений, образующаяся в результате мейотического деления материнской клетки и дающая начало женскому гаметофиту.

Макроспорогенез – процесс образования макроспор из материнских клеток макроспор.

Мейоз – совокупность двух последовательных делений ядра клетки генеративной ткани, в ходе которых происходит лишь одно удвоение хромосом.

Метафаза – вторая стадия деления клетки.

Микропиле – канал, образованный интегументами в апикальной части семязачатка.

Микроспороцит – материнская клетка, из которой в результате мейоза образуется тетрада микроспор.

Микроспорогенез – образование микроспор в пыльниках.

Нуцеллус – центральная часть семязачатка, в которой дифференцируются мейоциты, образуются макроспоры и развивается зародышевый мешок.

Оплодотворение – слияние двух половых клеток с образованием зиготы.

Пахитена – стадия профазы I мейоза.

Пелликула – тонкий белковый слой.

Пестик – часть гинецея цветка, закрытоеместилище для семязачатков, образованное срастанием нескольких плодолистиков. Состоит из завязи и рыльца, часто приподнятого с помощью стилодия или столбика.

Предзародыш – первые степени развития зародыша, от момента деления оплодотворенной яйцеклетки до образования шарообразной стадии и заложения небольшой бороздки, т. е. начала дифференциации органов.

Проэмбрио – ряд клеток, которые образуются после оплодотворения до формирования зародыша.

Пыльцевые зерна – мужские гаметофиты. Развиваются из микроспор и содержат вегетативное и генеративное ядра.

Ризомы – корневища растения, видоизмененные побеги.

Семенное размножение – процесс слияния мужской и женской половых клеток с образованием зиготы, которая образует новое растение.

Семязачаток, или семяпочка – многоклеточное образование у семенных растений, из которого развивается семя. Представляет собой женский спорангий (макроспорангий). Состоит у покрытосеменных растений из нуцеллуса, содержащего макроспороцит, двух или одного интегументов (покровов), образующих при неполном смыкании узкий канал – микропиле, через который пыльцевая трубка проникает к зародышевому мешку. Снаружи семязачаток прикреплен семяножкой к плаценте. Противоположную микропиле часть семязачатка называют халазой.

Синергиды – две клетки зародышевого мешка (спутницы яйцеклетки), образующие в зародышевом мешке вместе с яйцеклеткой единый комплекс – яйцевой аппарат. Основная их роль состоит в привлечении пыльцевых трубок к зародышевому мешку, в высвобождении содержимого пыльцевой трубки и точного попадания спермиев к яйцеклетке и центральному ядру зародышевого мешка.

Суспезор – клетки, которые помогают протолкнуть эмбрион в эндосперм.

Тапетум – внутренний, выстилающий слой клеток в пыльниках.

Телофаза – четвертая заключительная стадия митоза или мейоза.

Тетрада – четыре объединенные в определенном порядке клетки споры, образующиеся по завершении мейотического деления.

Туника – периферическая меристема, которая обычно состоит из нескольких слоев клеток.

Тычинка – андроцейная часть цветка, состоящая из несущей нити (тычиночная нить) и пыльника.

Фуникулюс или семяножка – часть семязачатка, соединяющая его с макроспорофиллом.

Халаза – базальная часть семязачатка, которая находится напротив микропиле, открывая интегумент.

Центромера – участок хромосомы, удерживающий вместе две ее нити (хроматиды).

Экзина – наружная целлюлозная стенка пыльцевого зерна.

Эндосперм – специализированная ткань для питания зародыша.

Эндотеций – слой клеток в стенке пыльника, обуславливающий собой его раскрытие для освобождения пыльцы.

Эпикотиль – надсемядольное колено, участок стебля (междоузлие) проростка растения между семядольным узлом и узлом первого настоящего листа.

Степень сформированности андроеца

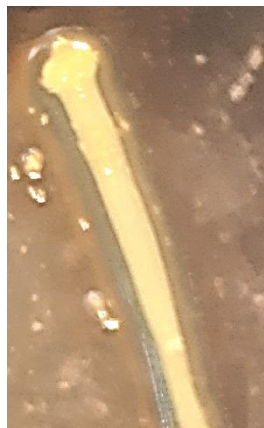
Бутон	Рост завязи и увеличение столбика в бутоне
Плотный бутон	Тычиночная трубка находится внутри бутона
Начало раскрытия бутона (расхождение лепестков венчика)	Начало роста тычиночной трубки
Полное расхождение лепестков венчика	Активный рост тычиночной трубки, раскрытие пыльников, высыпание пыльцы



В центре корзинки дороникума плотные бутоны, по краю полное расхождение лепестков венчика трубчатых цветков

Маркировочные признаки окрашивания рыльца гинецея

Морфология рыльца гинецея	Неокрашенное рыльце	Точечное окрашивание	Частичное окрашивание	Полное окрашивание
Сомкнутое рыльце	+			
Начало расхождения лопастей рыльца		+	+	
Полное расхождение лопастей рыльца				+
Закручивание лопастей рыльца				+



Сомкнутое рыльце



Полное расхождение лопастей рыльца календулы

Микроспорогенез и микроспорогаметогенез люцерны посевной

Вид	Длина бутона, мм	Стадии микроспорогаметогенеза											
		Археспорий	П I	М I	А I	Т I	П II	М II	А II	Т II	Тетрады микроспор	ОПЗ	ДПЗ
Люцерна посевная	3,2	+											
	4,5		+										
	4,7			+	+								
	5,1					+							
	5,5						+						
	6,0							+	+				
	6,5									+	+		
	6,7											+	+

Примечание: П I – профазы I; М I – метафазы I; А I – анафазы I; Т I – телофазы I; П II – профазы II; М II – метафазы II; А II – анафазы II; Т II – телофазы II; ОПЗ – одноядерное пыльцевое зерно; ДПЗ – двухклеточное пыльцевое зерно.

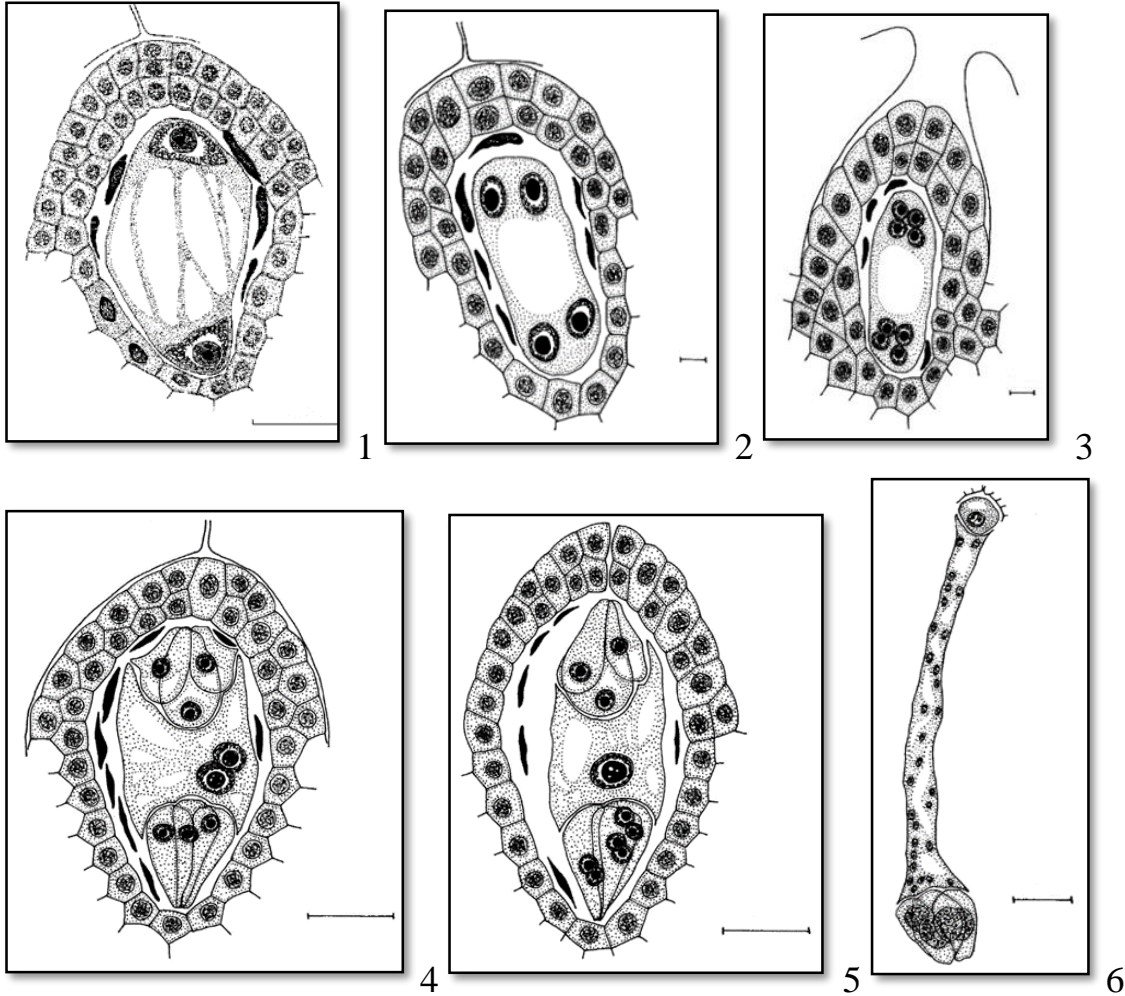
Фертильность пыльцевых зерен

Вид	Общее число пыльцевых зерен	Фертильные пыльцевые зерна	Стерильные пыльцевые зерна			
			неокрашенные	мелкие	сморщенные	прочие
Узамбарская фиалка свежесобранный материал	16	15	-	-	1	-
	14	12	1	-	1	-
	15	14	1	-	-	-
	10	8	1	1	-	-
	14	11	1	-	2	-
	19	17	-	1	1	-
	11	10	-	-	1	-
	16	14	2	-	-	-
	10	9	-	-	1	-
	15	13	1	-	1	-
Сумма	140	123	7	2	8	-
Фертильность, %	87,9					
Клевер луговой фиксированный материал	10	6	3	-	1	-
	12	8	4	-	-	-
	10	9	-	1	-	-
	11	7	3	-	1	-
	15	10	2	3	-	-
	9	7	1	1	-	-
	10	9	-	1	-	-
	12	8	2	-	2	-
	11	10	-	1	-	-
	10	8	1	1	-	-
Сумма	110	82	16	8	4	-
Фертильность, %	74,5					

Жизнеспособность пыльцевых зерен узамбарской фиалки

№ п/п	Общее число пыльцевых зерен	Пыльца с прорастающими пыльцевыми трубками	Нежизнеспособная пыльца		
			пыльцевые трубки отсутствуют	несколько пыльцевых трубок	прочее
1	13	8	4	1	-
2	9	6	3	-	-
3	10	7	1	2	-
4	8	3	4	1	-
5	12	8	4	-	-
6	11	8	2	1	-
7	12	7	5	-	-
8	10	7	2	1	-
9	8	5	3	-	-
10	9	3	4	2	-
Сумма	102	62	32	8	0
Жизнеспособность, %		60,8			

Зародышевые мешки ветреницы алтайской (*Anemone altaica*
Fisch. ex С.А. Мей) на разных стадиях развития пестика



Масштабные линейки, мм: 1 – 0,04. 2 – 0,01.
3. – 0,01. 4. – 0,1. 5. – 0,1. 6. – 0,1.

Фертильность семязачатков люцерны посевной

№ п/п	Число семязачатков в завязи, шт.	Число зародышевых мешков			
		фертильных с крупными крахмальными зернами	стерильных		
			с мелкими крахмальными зернами	с пылевидными крахмальными зернами	с толстой оболочкой
1	12	7	4	1	-
2	10	5	3	2	-
3	14	6	8	-	-
4	17	12	5	-	-
5	15	9	6	-	-
6	10	5	2	3	-
7	12	5	5	1	1
8	11	6	4	1	-
9	12	4	7	1	-
10	16	9	5	1	1
Сумма	129	68	49	10	2
Фертильность, %	52,7				

Фиксационная ведомость

№ п/п	Дата сбора	Место сбора	Объект	Материал	Фиксатор	Примечание
1	23.08.2021	Теплица УНЦ Липогорье	томат	цветки	Кларка	Солнечный день, 9.00 час. Температура 20,5 °С
2	10.09.2021	Опытное поле ПГАТУ	календула	соцветия	Кларка	Пасмурный день, 12.00 час. температура 8,5 °С
3	23.07.2021	Опытное поле ПГАТУ	календула	соцветия	Кларка	Соцветия после изоляции
4	20.07.2021	Опушка соснового бора	манжетка	соцветия	Кларка	Цветки на разных стадиях развития от бутона до начала формирования плодов
5	27.07.2021	Поляна Черняевского леса	люцерна хмелевая	цветки	Кларка	Темпоральная фиксация цветков после самоопыления

Окраска срезов растительного объекта гематоксилином
по Гейденгайну

1. Ксилол I – 15-30 мин.
2. Ксилол II – 15-30 мин.
3. Спирт 96% (I) – 15 мин.
4. Спирт 96% (II) – 15 мин.
5. Дистиллированная вода - два раза по 30 мин.
6. Квасцы железоаммонийные 4% 40 мин. В термостате.
7. Гематоксилин по Гейденгайну – от 30 мин.
8. Проточная водопроводная вода – 20 мин.
9. Дистиллированная вода – два раза по 5 мин.
10. Дифференцировка в 2% растворе железоаммонийных квасцов.
11. Проточная водопроводная вода – 30 мин.
12. Спирт 96% (I) – 10 мин.
13. Спирт 96% (II) – 10 мин.
14. Ксилол I – 10 мин.
15. Ксилол II – 10 мин.
16. Канадский бальзам.

Изготовление красителя. 1 гр. гематоксилина растворяют в 10 мл 96% этилового спирта и добавляют 90 мл дистиллированной воды, выдерживают на свету 3-4 недели, затем фильтруют и разводят перед использованием для окрашивания срезов.