

О. Н. Воронова

Некоторые особенности формирования семязачатка у подсолнечника и топинамбура (*Helianthus annuus* L. и *H. tuberosus* L., Asteraceae)

O. N. Voronova

Some peculiarities of ovule development in sunflower and Jerusalem artichoke (*Helianthus annuus* L. and *H. tuberosus* L., Asteraceae)

Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург
o_voronova@binran.ru

Исследовались ранние стадии развития семязачатка у *Helianthus annuus* L. (культурная форма — сорт «Передовик» и линии ВИР 114, ВИР 116) и *H. tuberosus* L. Описан определенный порядок клеточных делений, приводящий к формированию археспориальной клетки, а затем мегаспороцита. Из субэпидермальной клетки формируется инициальная клетка (*ик*) и первая базальная клетка (*бк1*). Инициальная клетка откладывает сверху археспориальную клетку, а снизу вторую базальную клетку (*бк2*). В дальнейшем археспориальная клетка дифференцируется в мегаспороцит (*мсп*). У культурного подсолнечника вторая клетка базальной области нуцеллуса претерпевает еще одно митотическое деление и образует две клетки таблитчатой формы (*тк1* и *тк2*). Для топинамбура пока не удалось обнаружить четкой картины формирования подобных клеток, хотя такая возможность не исключается. В семязачатке подсолнечника выделены апикальная, латеральная и базальная области нуцеллуса, следовательно, он может рассматриваться не как tenuinuцеллярный, а скорее как медионуцеллярный (синдермальная вариация, однослойная субвариация) по классификации И. И. Шамрова (2008) или неполностью tenuinuцеллярный («incompletely tenuinuцеллярный») по классификации Р. К. Enderss (2011).

Ключевые слова: развитие семязачатка, *Helianthus annuus* L., *Helianthus tuberosus* L.

Род *Helianthus* L. относится к семейству Asteraceae L., трибе Heliantheae, подтрибе Helianthinae (Robinson, 1981). Это довольно обширный и полиморфный род, включающий, по разным оценкам, от 10 (Анащенко, 1979) до сотни (Watson, 1928–1929) и более видов, разных по жизненной форме и уровню ploидности (Сацыперов, 1913). Наиболее распространенной является классификация рода по Шиллингу и Хейзеру (Schilling, Heiser, 1981), где 13 однолетних и 36 многолетних видов распределены в 5 секций. Большинство видов *Helianthus* эмбриологически мало изучено, исключение составляют хозяйственно ценные виды: культурный подсолнечник — *Helianthus annuus* L. (подсолнечник однолетний, или п. масличный) среди однолетних видов и топинамбур — *H. tuberosus* (п. клубненосный) среди многолетников.

Исследование эмбриологии культурного подсолнечника было начато еще в XIX в.: М. Goldflus (1899) и С. Г. Навашин (1900) описали общее строение зародышевого мешка. В дальнейшем формирование и развитие женской репродуктивной системы подсолнечника изучалось с использованием световой и электронной микроскопии (Устинова, 1955, 1964, 1970; Дзюбенко, 1959; Newcomb, 1973; Беляева, 1975; Тодерич, 1988; Yan et al., 1991; Воронова, Гаврилова, 2007; Gotelli et al., 2008; Voronova, 2013; и др.).

Внимание исследователей было обращено в основном на культурные формы однолетнего подсолнечника и топинамбура. Попытка цитоэмбриологического сравнения нескольких видов подсолнечника (в основном *H. annuus* и *H. rigidus*) была предпринята в диссертации К. Н. Тодерич (1988), но в ее работе упор был сделан на исследование мужской репродуктивной сферы, материал по формированию и развитию женской сферы менее подробен и связан с описанием непосредственно мегаспоро- и гаметогенеза, а генезис других структур семязачатка практически не рассматривался.

Подсолнечник однолетний — основная масличная культура России, а топинамбур используется, кроме прочего, в межвидовой гибридизации в качестве донора генов, имеющих значение для селекции культурного подсолнечника (Breton et al., 2010). Для успеха межвидового скрещивания важно знать особенности эмбриологии, в том числе развития семязачатка, у обоих видов.

Материал и методы

Материал для исследований собирался в парке Ботанического института им. В. Л. Комарова РАН (топинамбур) и на Кубанской опытной станции Всероссийского института растениеводства им. Н. И. Вавилова (подсолнечник однолетний сорт «Передовик», линии ВИР 114, ВИР 116).

Растения сорта «Передовик» росли на свободном (перекрестном) опылении. Корзинки растений ЦМС-линий ВИР 114 и ВИР 116 были до цветения изолированы пергаментными изоляторами и опылялись вручную. Целые корзинки (на ранней стадии — 0.5–2 см в диам.) или отдельные трубчатые цветки (из корзинок

от 2 до 20 см в диам.) были собраны на разных стадиях развития и зафиксированы в растворе FAA (формалин, уксусная кислота и 70%-ный этанол в отношении 7 : 7 : 100).

Материал дегидрировали через серию спиртов, который затем замещался с помощью этанол-хлороформных серий, и заключали в Histomix®. Постоянные препараты для световой микроскопии окрашивали толуидиновым синим или Гематоксилином по Эрлиху с подкрашиванием эозином или алциановым синим, или Гематоксилином по Гейденгайну с подкрашиванием алциановым синим (Жинкина, Воронова, 2000). Препараты анализировались и фотографировались с помощью микроскопа Zeiss Axioplan 2 Imaging.

Результаты и обсуждение

У исследованных видов примордий семязачатка формируется за счет периклиальных делений в субэпидермальном слое плаценты примерно за 7–9 дней до начала цветения. Обычно указывают, что у подсолнечника закладываются 1–2 (3–4 для диких видов) археспориальные клетки в субэпидермальном слое плаценты напрямую без митотических делений (Устинова, 1964; Дзюбенко, 1959; Newcomb, 1973a; Тодерич, 1988; и др.). При подробном исследовании нами обнаружен несколько более сложный порядок формирования мегаспороцита у подсолнечника.

На продольном срезе семязачатка хорошо видны одна-две (реже три) рядом лежащие субэпидермальные клетки (*сэж*). Путем периклиальных делений из каждой субэпидермальной клетки формируется инициальная клетка (*ик*) и клетка, которую мы условно называем первая базальная клетка (*бк1*). В результате под эпидермой наблюдаются две-три пары клеток (инициальная и под ней базальная), которые располагаются вдоль будущей продольной оси семязачатка (рис. 1, 1, 2; 2, 1, 2).

Инициальная клетка, расположенная ближе к центру семязачатка, делится еще раз периклиально и откладывает сверху археспориальную клетку, а книзу еще одну базальную клетку — вторую базальную клетку (*бк2*). Изредка могут поделиться две рядом лежащие инициальные клетки, и тогда формируются две археспориальные клетки. На этой стадии топинамбур отличается от подсолнечника более вытянутым примордием семязачатка (рис. 1, 3, 4, 5; 2, 3, 4).

В работе К. Н. Тодерич (1988) отмечалось формирование до 8 археспориальных клеток для диких видов подсолнечника, но, поскольку генезис археспориальных клеток подробно не рассматривался, то, возможно, под археспориальными клетками автор понимала те клетки, которые рассматриваются нами как инициальные, или даже весь пул клеток — инициальные вместе с расположенными под ними базальными клетками.

Единственный интегумент закладывается в эпидерме семязачатка у топинамбура к моменту формирования инициальных клеток, у культурного под-

солнечника несколько позднее — одновременно с формированием археспориальной клетки (рис. 1, 4; 2, 2). От уровня инициалей интегумента просматривается слой клеток гипостазы, над которыми и располагаются базальные клетки. В центре семязачатка можно проследить осевой ряд: археспориальная клетка — 2-я базальная клетка — 1-я базальная клетка — клетка гипостазы (*ак* — *бк2* — *бк1* — *эж*) (рис. 1, 4, 5; 2, 3, 4).

Базальные клетки, особенно те, которые отделились первыми (*бк1*) и располагаются внизу осевого ряда, увеличиваются в размерах. По своим размерам они даже превосходят растущую археспориальную клетку. Ядро в них увеличивается и обычно слабо окрашивается. Поскольку всего подобных клеток бывает 2–3 в каждом семязачатке, то из них формируется своеобразная светлая зона. Особенно она заметна у культурного подсолнечника и под световым микроскопом обычно хорошо просматривается в центре семязачатка.

В дальнейшем археспориальная клетка дифференцируется в мегаспороцит (*мсп*). У культурного подсолнечника вторая клетка базальной области нуцеллуса претерпевает еще одно митотическое деление и образует две клетки таблитчатой формы (*тк1* и *тк2*). В семязачатке формируется осевой ряд: мегаспороцит — 1-я таблитчатая клетка — 2-я таблитчатая клетка — 1-я базальная клетка — клетка гипостазы (*мсп* — *тк1* — *тк2* — *бк1* — *эж*) (рис. 1, 5, 6). Для топинамбура пока не удалось обнаружить четкой картины формирования подобных клеток, хотя такая возможность не исключается.

Крупные вакуолизированные базальные клетки, а при наличии и таблитчатые клетки вместе с ними, формируют базальную область нуцеллуса.

Формирование так называемых «таблитчатых» клеток — не уникальная особенность культурного подсолнечника. Например, еще в 1958 г. Я. С. Модилевский с соавторами (1958) отмечал, что у пшеницы «расположение клеток нуцеллуса под археспориальной клеткой указывает на то, что она, прежде чем стать материнской клеткой макроспор, отделяет от себя «париетальные» клетки, но не в сторону эпидермиса, как это бывает обычно в краcсинуцеллятных семяпочках, а книзу, в сторону халазы». А на рисунке изображена как раз материнская клетка мегаспор и под ней две клетки таблитчатой формы, хотя они не охарактеризованы в тексте. Описан и подобный процесс отделения книзу 2–3 клеток у ячменя, и 1–2 клеток у ржи (Модилевский и др., 1958), но на рисунках эти клетки особо не выделяются. К сожалению, на более поздних этапах судьба этих клеток не прослежена, и рисунки ограничены только собственно тетрадой мегаспор и зародышевым мешком.

Формирование не только отдельных таблитчатых клеток, а целых их рядов (клеток гипостазы, в широком смысле понимания термина), располагающихся под мегаспороцитом, характерно для ряда цветковых растений, в частности для злаков — пшеницы и кукурузы. Например, для пшеницы в работе Т. Б. Батыгиной (1974) отмечалось, что археспориальная клетка

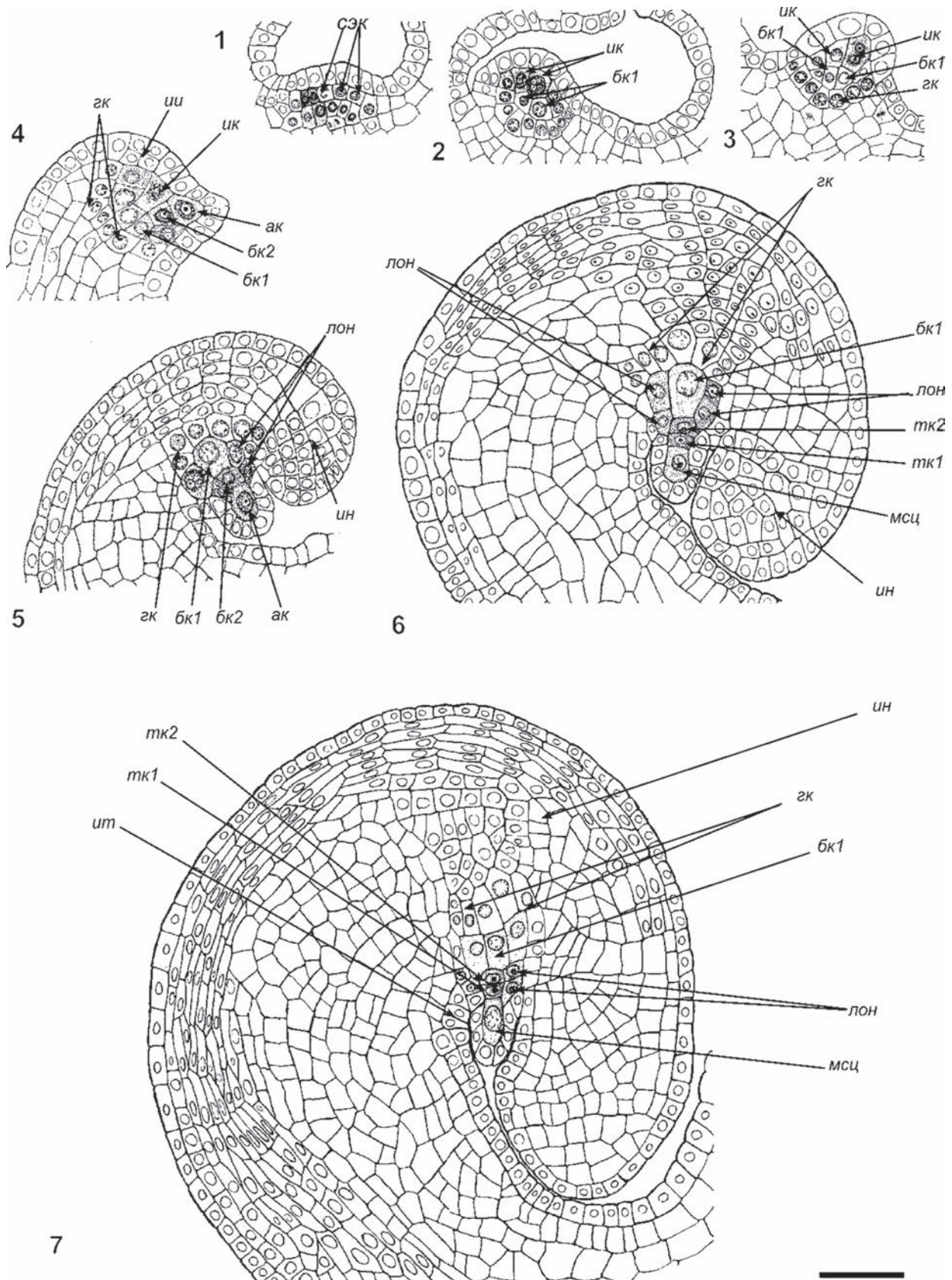


Рис. 1. Ранние стадии развития семязачатка культурного подсолнечника.

1 — заложение примордия семязачатка; 2 — формирование инициальной и базальной клеток; 3 — деление в инициальной клетке; 4 — выделение инициалей интегумента, формирование археспориальной и второй базальной клеток; 5 — формирование интегумента, выделение латеральной области нуцеллуса; 6 — формирование мегаспороцита, рост интегумента, выделение двух табличчатых клеток; 7 — переход мегаспороцита к мейозу, удлинение всех клеток базальной области нуцеллуса. ак — археспориальная клетка, бк1 — первая базальная клетка, бк2 — вторая базальная клетка, бон — базальная область нуцеллуса, гж — клетки гипостазы, ик — инициальная клетка, ин — интегумент, ит — интегументальный тапетум, лон — латеральная область нуцеллуса, мсц — мегаспороцит, мс — мегаспора, сэж — субэпидермальна клетка, тк1 — первая табличчатая клетка, тк2 — вторая табличчатая клетка. Шкала — 50 мкм.

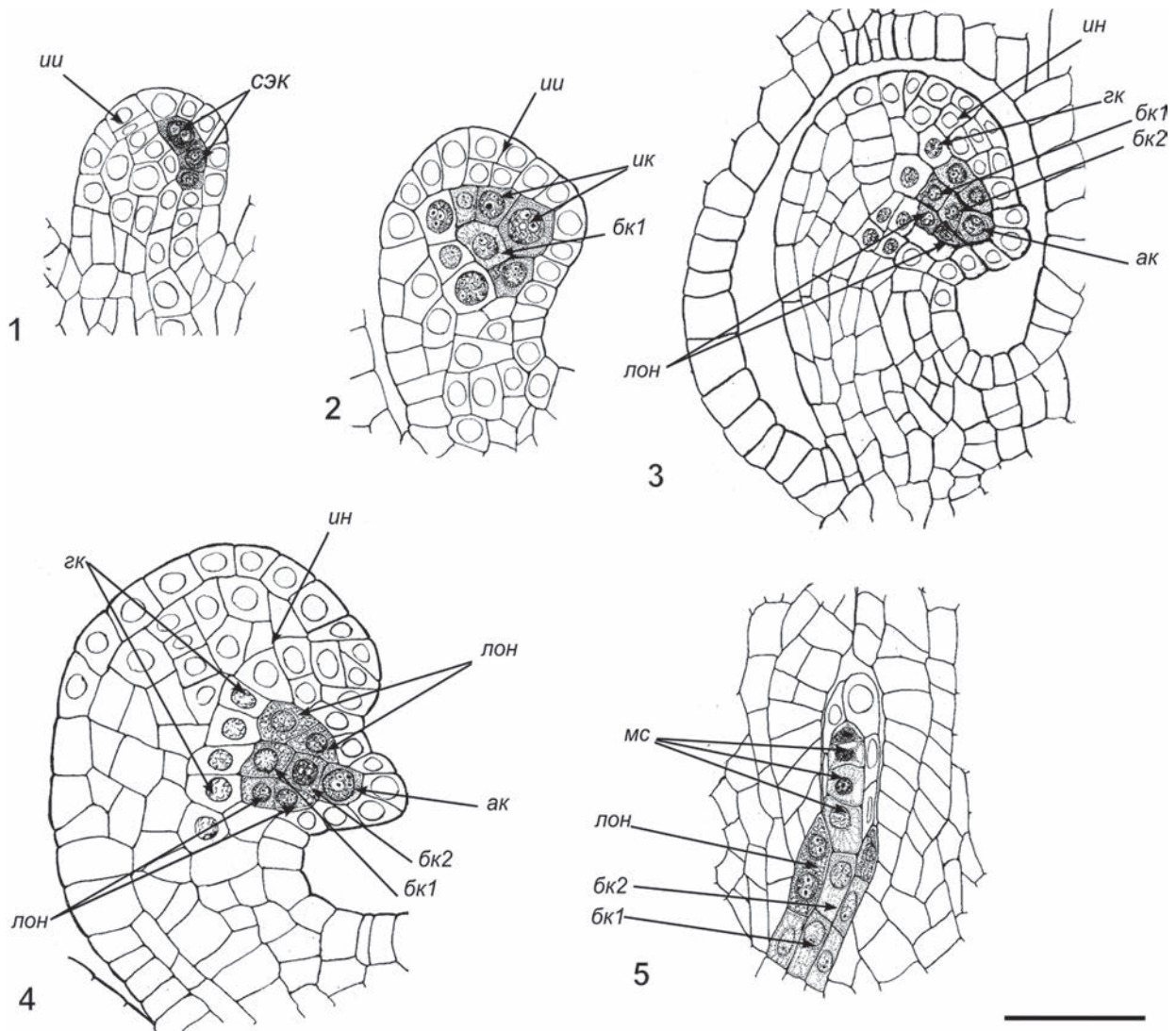


Рис. 2. Ранние стадии развития семязачатка топинамбура.

1 — заложение примордия семязачатка; 2 — выделение инициалей интегумента, формирование инициальной и базальной клеток; 3 — формирование археспориальной и второй базальной клетки, выделение латеральной области нуцеллуса; 4 — рост интегумента; 5 — формирование тетрады мегаспор (верхние мегаспоры сразу после отделения дегенерируют), удлинение всех клеток базальной области нуцеллуса. Обозначения см. рис. 1. Шкала — 50 мкм.

«является конечной уже существующего ряда клеток, расположенных вдоль полярной оси нуцеллуса». У кукурузы формирование рядов таблитчатых клеток очень ярко выражено у мутанта *mas1*, который характеризуется заложением множественного археспория, и под каждым развивающимся мегаспороцитом формируется свой ряд таблитчатых клеток (Воронова, 1999; Воронова и др., 2002).

Отделение базальных клеток у подсолнечника не надо сопоставлять с формированием париетальных клеток не только из-за их расположения (не над, а под мегаспороцитом), но и из-за времени их формирования — отделение базальной клетки происходит на самых ранних этапах развития семязачатка, и с него начинается дифференциация археспориальной клетки, а не мегаспороцита.

В отличие от вышеупомянутых злаков, у подсолнечника ясно выраженных рядов таблитчатых клеток не наблюдается. Клетки базальной области нуцеллу-

са по мере развития видоизменяются. Уже к моменту формирования мегаспороцита они начинают вытягиваться в продольном направлении (рис. 1, 7). Также вытягиваются клетки собственно гипостазы. Под функционирующей мегаспорой и далее под зародышевым мешком формируется своеобразный клеточный тяж в виде узкой колонки, состоящей из клеток, вытянутых вдоль продольной оси семязачатка (рис. 2, 5).

Для культурного подсолнечника ранее было отмечено формирование апоспорических зародышевых мешков именно в пределах этой осевой структуры (Воронова, 2006, 2008; Воронова, Гаврилова, 2007; Voronova, 2013, 2014). Анализ ранних этапов развития семязачатка показал, что инициальные клетки апоспорических зародышевых мешков дифференцируются из клеток базальной области нуцеллуса и, вероятнее всего, происходят из той же субэпидермальной клетки примордия семязачатка, что и археспориальная клетка (рис. 3).

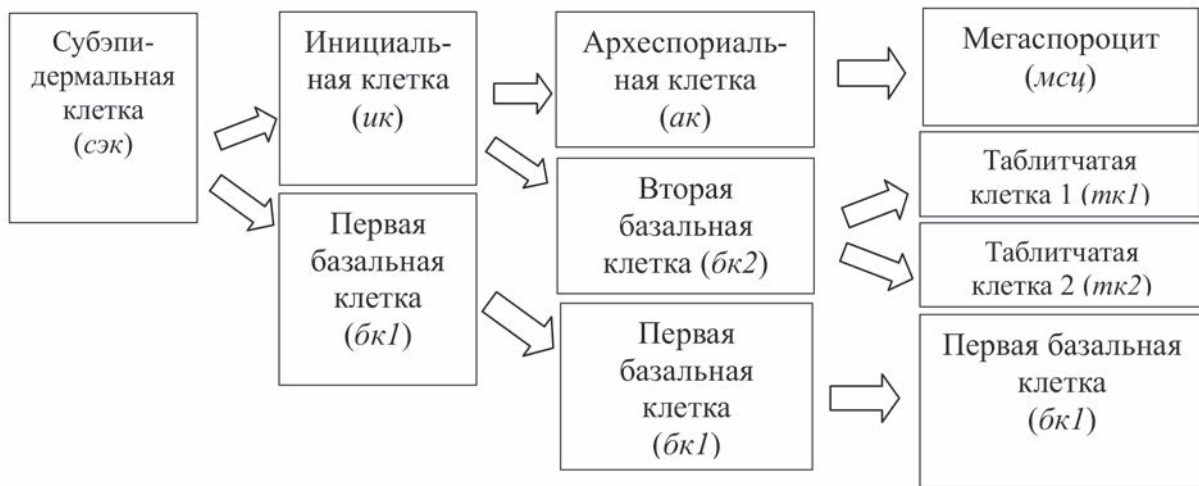


Рис. 3. Порядок клеточных делений, предшествующий формированию мегаспороцита у подсолнечника.

Археспориальная клетка (и далее мегаспороцит) представляет собой апикальную область нуцеллуса. Клетки, расположенные вокруг археспориальной клетки, формируют латеральную область нуцеллуса.

Клетки латеральной области нуцеллуса существуют только на ранних стадиях развития семязачатка. Они также представляют собой производные тех субэпидермальных клеток, которые поделились только один раз и дали пару инициальная + базальная клетки (ик + бк1), а дальнейшего деления инициальной клетки и формирования археспориальной клетки в этой паре не произошло. Такие пары изначально располагаются вокруг археспориальной клетки на одном с ней уровне, но по мере ее роста вытесняются книзу, а сама археспориальная клетка, наоборот, смещается выше. Развивающийся мегаспороцит, а позже и мегаспора, продолжают оказывать давление на клетки латеральной области нуцеллуса, они сжимаются, но остаются различимыми вплоть до стадии одноядерного зародышевого мешка (рис. 1, 5, 6, 7; 2, 3, 4, 5).

Интересно отметить, что по мере роста археспориальной клетки заметно увеличивается в размерах и эпидермальная клетка, расположенная над ней. Формируется своеобразное клювообразное выпячивание поверхности семязачатка (рис. 1, 4; 2, 4).

Таким образом, в развивающемся семязачатке подсолнечника можно выделить апикальную, латеральную и базальную области нуцеллуса (о выделении зон в нуцеллусе см. Шамров, 2008), и он может рассматриваться не как tenuinucellatный, а скорее как mediinucellatный (синдермальная вариация, однослойная субвариация) по классификации И. И. Шамрова (2008) или неполностью tenuinucellatный («incompletely tenuinucellar») — «семязачаток без гиподермального клеточного слоя между мегаспороцитом и верхушкой нуцеллуса, но с гиподермальной тканью по боковым сторонам нуцеллуса и под мегаспороцитом» по классификации Р. К. Enderss (2011).

Список литературы

- Анащенко А. В. Филогенетические связи в роде *Helianthus* L. // Тр. по прикладной ботанике, генетике и селекции. 1979. Т. 64, вып. 2. С. 146–156.
- Батыгина Т. Б., Виноградова Г. Ю. Феномен полиэмбрионии. Генетическая гетерогенность семян // Онтогенез. 2007. Т. 38, № 3. С. 166–191.
- Беляева Н. С. К вопросу стерильности топинамбура (развитие женского гаметофита) // Изв. АН Туркменской ССР. Сер. биол. наук. 1975. Вып. 4. С. 37–43.
- Воронова О. Н. Морфогенетические потенции семязачатка *Zea mays* L.: Дис. канд. ... биол. наук. СПб., 1999. 168 с.
- Воронова О. Аномалии в развитии генеративной сферы у некоторых ЦМС линий подсолнечника // Conf. științ. intern. “Invățământul superior și cercetarea — piloni ai societății bazate pe cunoaștere” ded. jubil. 60 Univ. de Stat din Moldova (28 septembrie 2006, Chișinău, Moldova). Chișinău, 2006. P. 335–336.
- Воронова О. Н. Особенности развития генеративной сферы у некоторых ЦМС линий подсолнечника // Генет. ресурсы растений. 2008. Т. 6. С. 76–81.
- Воронова О. Н., Шамров И. И., Батыгина Т. Б. Морфогенез семязачатка *Zea mays* (Poaceae) // Ботан. журн. 2002. Т. 87, № 9. С. 10–26.
- Воронова О. Н., Гаврилова В. А. Аспоспория у подсолнечника // Ботан. журн. 2007. Т. 92, № 10. С. 1535–1544.
- Дзюбенко Л. К. Цитоембриологічне дослідження жіночої генеративної зони в насінному зачатку соняшника (*Helianthus* L.) // Укр. ботан. журн. 1959. Т. 16, № 3. С. 8–19.
- Жинкина Н. А., Воронова О. Н. К методике окраски эмбриологических препаратов // Ботан. журн. 2000. Т. 85, № 6. С. 168–171.
- Модилевский Я. С., Оксюк П. Ф., Худяк М. И., Дзюбенко Л. К., Бейлис-Выврова Р. А. Цитоембриология основных хлебных злаков. Киев, 1958. 335 с.
- Навашин С. Г. Об оплодотворении у сложноцветных и орхидных // Изв. Имп. Акад. наук. 1900. Т. 13, № 3. С. 335–340.
- Сацыперов Ф. А. К вопросу о классификации сортов подсолнечника // Тр. Бюро по прикладной ботанике. 1913. Т. 6. С. 95–110.

- Тодерич К. Н. Эмбриология подсолнечника (*Helianthus annuus*, *H. rigidus* и другие): Дис. ... канд. биол. наук. Л., 1988. 256 с.
- Устинова Е. Н. Явление апоспории у подсолнечника // Докл. АН СССР. 1955. Т. 100, № 6. С. 1163–1166.
- Устинова Е. Н. Изменчивость женского гаметофита у подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) // Бюл. Моск. о-ва испытателей природы. Отд. биол. 1964. Т. 69, вып. 4. С. 111–117.
- Устинова Е. Н. Апомиксис у подсолнечника // Апомиксис и селекция. М., 1970. С. 110–116.
- Шамров И. И. Семязачаток цветковых растений: строение, функции, происхождение. М., 2008. 350 с.
- Breton C., Serieys H., Berville A. Gene transfer from wild *Helianthus* to sunflower: topicalities and limits // Oléagineux, Corps Gras, Lipides. 2010. Vol. 17, № 2. P. 104–114.
- Endress P. K. Angiosperm ovules: diversity, development, evolution // Ann. Bot. 2011. Vol. 107. P. 1465–1489.
- Goldfuss M. Sur la structure et les fonctions de l'assise épithéliale et des antipodes // J. Bot. (Morot). 1899. T. 13. P. 87–96.
- Gotelli M. M., Galati B. G., Medan D. Embryology of *Helianthus annuus* (Asteraceae) // Ann. Bot. Fenn. 2008. Vol. 45, № 2. P. 81–96.
- Newcomb W. The development of the embryo sac of sunflower *Helianthus annuus* before fertilization // Canad. J. Bot. 1973a. Vol. 51. P. 863–878.
- Newcomb W. The development of the embryo sac of sunflower *Helianthus annuus* after fertilization // Canad. J. Bot. 1973b. Vol. 51. P. 879–890.
- Robinson H. A revision of the tribal and subtribal limits of the *Heliantheae* (Asteraceae) // Smithsonian Contr. Bot. 1981. № 51. P. 1–102.
- Schilling E. E., Heiser C. B. Infrageneric classification of *Helianthus* (Compositae) // Taxon. 1981. № 30. P. 393–403.
- Yan H., Yang H.-Y., Jensen W. A. Ultrastructure of the developing embryo sac of sunflower (*Helianthus annuus*) before and after fertilization // Canad. J. Bot. 1991. Vol. 69, № 1. P. 191–202.
- Watson E. E. Contributions to a monograph of genus *Helianthus* L. // Pap. Michigan Acad. Sci. 1928–1929. Vol. 9. P. 305–475.