

РЕПРОДУКТИВНАЯ БИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 582.573.76:581.33

**СОПРЯЖЕННОСТЬ СТАДИИ РАЗВИТИЯ И РАЗМЕРОВ ПЫЛЬНИКОВ
У НЕКОТОРЫХ СОРТОВ *HEMEROCALLIS* X *HYBRIDA* HORT.****Татьяна Николаевна Кузьмина**

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр
298648, Республика Крым, г. Ялта, пгт. Никита
tnkuzmina@rambler.ru

У диплоидных (*Pandora's Box*, *Wally Nance*) и тетраплоидных (*Anna Warner*, *Cherry Eyed Pumpkin*) сортов *Hemerocallis* x *hybrida* Hort. определены основные этапы генезиса микроспорангия и элементов мужской генеративной сферы в ходе формирования пыльника.

Ключевые слова: *пыльник; пыльцевое зерно; микроспорогенез; микроспоры; плоидность; Hemerocallis x hybrida hort.*

Введение

Согласно современной концепции, пыльник покрытосеменных растений рассматривается как целостная саморегулирующаяся система, в которой последовательно протекают скоординированные процессы, обуславливающие его формирование и образование мужского гаметофита [2, 11]. Наличие сопряженности в процессах генезиса стенки пыльника и мужского гаметофита [12, 15] позволяет предположить взаимосвязь между ростом и развитием структур мужской генеративной сферы у цветковых растений. Исследования подобной направленности, как правило, связаны с определением оптимальной стадии введения пыльников в культуру *in vitro* с целью получения гаплоидных растений [1, 4, 8, 10, 14], что часто используется в селекционной практике [4, 6]. Однако не менее важны данные периодизации развития мужских генеративных структур с учетом генезиса элементов цветка и пыльника для цитологического анализа микроспорогенеза и прогнозирования качества пыльцы, что требуется при отборе родительских форм селекционного материала, а также в связи с расширением теоретических данных морфогенеза пыльника и корреляции процессов его развития. Одной из ведущих декоративных культур, с которыми проводится селекционная работа в Никитском ботаническом саду, является лилейник гибридный (*Hemerocallis* x *hybrida* Hort.), что определяет важность изучения закономерностей и особенностей генезиса сортового материала. Целью данной работы было определение взаимосвязи между морфометрическими параметрами пыльников и стадией развития мужских генеративных структур у ряда сортов *H. x hybrida* с различной плоидностью.

Объекты и методы исследования

В качестве объекта исследования были взяты четыре сорта *Hemerocallis* x *hybrida* Hort., культивируемые в генофондовой коллекции лилейника гибридного Никитского ботанического сада (куратор коллекции И.В. Улановская), среди которых диплоидными являются *Pandora's Box* и *Wally Nance* и тетраплоидными – *Anna Warner* и *Cherry Eyed Pumpkin*. Для определения морфометрических параметров пыльников и стадии развития элементов мужской генеративной сферы у исследуемых сортов брали бутоны различных размеров, начиная с 0,1 см. Стадию развития пыльника определяли на временных препаратах, окрашенных 1% ацетоорсеином. Анализ препаратов

проводили на микроскопах “Jenaval” (Carl Zeiss) и AxioScope A.1 (Carl Zeiss) методом светлого поля. Статистическую обработку данных осуществляли с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0. Достоверность различий между вариантами оценивали с помощью t-критерия Стьюдента на 5%-ном уровне значимости, обеспечивающем 95%-ную доверительную вероятность.

Результаты и обсуждение

Генезис стенки микроспорангия и пыльцевого зерна подробно описаны нами ранее [7], в данном исследовании мы выделяли лишь ключевые этапы преобразования структур пыльника. Морфометрические данные пыльников четырех сортов *H. x hybrida* в соответствии с периодизацией развития микроспорангия и основных этапов формирования мужского гаметофита представлены в таблице. В соответствии с общепринятой периодизацией развития пыльника, выделены три периода: премейотический, мейотический и постмейотический [5, 12]. В премейотический период в результате активных митотических делений происходит формирование стенки микроспорангия и закладывается спорогенная ткань с последующим формированием микроспороцитов. В мейотический период наблюдается дифференциация клеточных слоев стенки пыльника, а микроспороциты переходят к мейотическому делению, завершающемуся образованием тетрад с гаплоидными микроспорами. Постмейотический период начинается с распада тетрад микроспор и завершается процессом гаметофитогенеза, т.е. образования пыльцевого зерна, и созреванием пыльника.

У исследованных нами сортов *H. x hybrida* начальные этапы формирования микроспорангия отмечаются в пыльниках высотой около 0,1 см. Характерно, что в этот период пыльники диплоидных и тетраплоидных сортов по высоте практически не различаются. Однако достоверные различия морфометрических параметров пыльников у диплоидных и тетраплоидных сортов отмечаются в мейотический период ($t=3,12$).

Таблица

Морфометрическая характеристика пыльников некоторых сортов *Hemerocallis x hybrida* в ходе формирования мужского гаметофита

Период развития микроспорангия	Этапы развития пыльника и мужского гаметофита	Высота пыльника, см			
		Диплоидные сорта		Тетраплоидные сорта	
		Pandora's Vox	Wally Nance	Anna Warner	Cherry Eyed Pumpkin
1	2	3	4	5	6
Премейотический	Образование микроспорангия, закладка спорогенной ткани	$\frac{0,15 \pm 0,02}{0,1-0,2}$	$\frac{0,15 \pm 0,01}{0,1-0,15}$	$\frac{0,15 \pm 0,02}{0,1-0,2}$	$\frac{0,15 \pm 0,01}{0,1-0,2}$
	Сформированная стенка микроспорангия; микроспороциты	$\frac{0,3 \pm 0,04}{0,25-0,4}$	$\frac{0,31 \pm 0,05}{0,20-0,35}$	$\frac{0,35 \pm 0,04}{0,25-0,5}$	$\frac{0,33 \pm 0,03}{0,2-0,45}$
Мейотический	Дегенерация среднего слоя стенки микроспорангия и тапетума; Мейоз, образование тетрад микроспор	$\frac{0,51 \pm 0,02}{0,38-0,6}$	$\frac{0,41 \pm 0,05}{0,36-0,45}$	$\frac{0,64 \pm 0,02}{0,6-0,69}$	$\frac{0,59 \pm 0,04}{0,5-0,7}$

Продолжение таблицы

1	2	3	4	5	6
Постмейотический	Образование фиброзных утолщений в эндотеции Микроспоры, образование спородермы, Дифференцирующий митоз	$\frac{0,69 \pm 0,01}{0,6-0,75}$	$\frac{0,63 \pm 0,03}{0,5-0,7}$	$\frac{0,8 \pm 0,03}{0,7-0,9}$	$\frac{0,89 \pm 0,03}{0,8-0,97}$
	Зрелая стенка пыльника Двуклеточные пыльцевые зерна	$\frac{0,83 \pm 0,01}{0,79-0,9}$	$\frac{0,79 \pm 0,01}{0,78-0,8}$	$\frac{1,00 \pm 0,02}{0,9-1,1}$	$\frac{1,1 \pm 0,02}{1-1,2}$

Примечание: над чертой указано среднее арифметическое и стандартная ошибка ($m \pm x$); под чертой – пределы варьирования признака (min-max)

Так, мейоз и образование тетрад микроспор у диплоидных сортов Pandora's Vox и Wally Nance происходит, когда пыльники достигают в высоту в среднем 0,4–0,5 см, а у тетраплоидных сортов – Anna Warner Cherry Eyed Pumpkin этот период приходится на пыльники высотой 0,5–0,7 см.

Известно, что оптимальной стадией введения пыльников в культуру *in vitro* является стадия микроспор [3, 9, 14], когда проявляется автономность микроспор и они переходят к реализации детерминированной программы гаметофитогенеза, или же, в условиях культуры *in vitro* – спорофитогенеза [1, 12, 13, 15]. В этот период высота пыльников диплоидных сортов лилейника гибридного находится в пределах 0,5–0,75 см, а тетраплоидных сортов – 0,7–1 см.

Установлено достоверное различие в высоте пыльников диплоидных и тетраплоидных сортов в постмейотический период ($t=9,24$). У диплоидных сортов пыльцевые зерна достигают зрелости, когда пыльник в высоту составляют в среднем 0,8 см, у тетраплоидных сортов зрелые пыльники высотой 1–1,2 см. Таким образом, у сортов *H. x hybrida* с увеличением степени пloidности прослеживается увеличение морфометрических параметров пыльников в мейотическом и постмейотическом периодах – у тетраплоидов пыльники более крупные.

Анализ высоты пыльника и стадии его формирования показывает, что рост пыльника и его развитие происходят сопряженно, что позволяет идентифицировать критические стадии его развития, учитывая морфометрические параметры пыльника. Использование наиболее доступных морфометрических методов в оценке стадии развития мужской генеративной сферы у сортового материала лилейника гибридного оптимизирует процесс взятия материала для цитологического анализа микроспорогенеза с целью выявления аномалий в ходе формирования пыльцы, так и при введении пыльников в культуру *in vitro*.

Выводы

Установлены морфометрические параметры пыльников диплоидных (Pandora's Vox, Wally Nance) и тетраплоидных (Anna Warner, Cherry Eyed Pumpkin) сортов *H. x hybrida* в основные периоды и этапы закладки спорогенной ткани и формирования мужских генеративных структур.

Показано, что высота пыльника в мейотический период у исследованных нами диплоидных сортов в среднем составляет 0,4–0,5 см, а тетраплоидных около 0,6 см. Фаза микроспор происходит, когда высота пыльников достигает 0,6 см и 0,8 см, соответственно для исследованных диплоидных и тетраплоидных сортов.

Установлено достоверное различие между пыльниками диплоидных и тетраплоидных сортов в мейотический и постмейотический период.

Полученные данные позволяют рассматривать высоту пыльника исследованных сортов *H. x hybrida* как косвенный признак стадии развития пыльника, необходимый для визуальной оценки при отборе материала для цитологического анализа микроспорогенеза у сортового материала, а также при введении пыльников в культуру *in vitro*.

Список литературы

1. Аветисов В.А. Получение гаплоидных растений *Arabidopsis thaliana* (L.) Neunh. при культивировании пыльников // Апомиксис и цитоэмбриология растений. – Вып. 4. – 1978. – С. 5–7.
2. Батыгина Т.Б. Пыльник как модель изучения морфогенетических потенций и путей мейозогенеза / Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Т. 1.: Генеративные органы цветка / Ред. Батыгина Т.Б. – Спб: Мир и семья, 1994. – Т. 1. – С. 120–121.
3. Грищенко Е.В. Эмбриогенная детерминация развития *in vitro* пыльцы *Brassica napus* (Brassicaceae) // Бот. журнал. – 2001. – Т. 86, № 1. – С. 1–9.
4. Игнатова С.И. К вопросу индукции гаплоидов из спорозитов у томата // Апомиксис и цитоэмбриология растений. – Вып. 4. – 1978. – С. 49.
5. Камелина О.П. Пыльник // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Т. 1.: Генеративные органы цветка / Ред. Батыгина Т.Б. – Спб: Мир и семья, 1994. – Т. 1. – С. 39–41.
6. Круглова Н.Н. Морфогенез в культуре пыльников пшеницы: эмбриологический подход. – Уфа: Гилем, 2001. – 175 с.
7. Кузьмина Т.Н., Шевченко С.В. Развитие и биоморфологическая характеристика мужского гаметофита некоторых сортов *Heimerocallis hybrida* Hort (Heimerocallidaceae) // Интродукция растений. – 2012. – № 3. – С. 22–27.
8. Левенко Б.А., Кунах В.А., Юркова Г.Н. Культивирование пыльников томата *in vitro*. Сообщение II. Цитологический анализ на первых этапах культивирования // Апомиксис и цитоэмбриология растений. – Вып. 4. – 1978. – С. 69–70.
9. Методические рекомендации по культуре изолированных пыльников и микроспор / [сост. Шевченко С.В.] – Ялта: ГНБС, 1981. – 24 с.
10. Набиева А.Ю. Сохранение и размножение в культуре *in vitro* генотипов редких видов лилий Азиатской части России. – Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Новосибирск, 2008. – 17 с.
11. Никифоров Ю.Л., Шевченко С.В. Цитологический анализ развития пыльцевых зерен некоторых цветковых растений (в связи с проблемой гаплоидии) // Апомиксис и цитоэмбриология растений. – Вып. 4. – 1978. – С. 85–86.
12. Резникова С.А. Цитология и физиология развивающегося пыльника. – М.: Наука, 1984. – 266 с.
13. Резникова С.А., Погорельская А.Н., Попов П.С. Взаимопревращение запасных веществ в развивающемся пыльнике лилии // Физиология растений. – 1982. – Т. 29, вып. 6. – С. 1155–1163.
14. Сельдимирова О.А., Круглова Н.Н. Андроклиный эмбриогенез как биотехнологический подход к сохранению биоразнообразия // Вестник ОГУ. – 2009. – № 6. – С. 335–336.
15. Теплицкая Л.М., Назаров В.В., Астапенко Н.А., Соломыкина А.М. Изучение этапов формирования пыльника *Cephalanthera damasonium* (Mill.) Druce. (Orchidaceae) в связи с введением в систему *in vitro* // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология. Химия». – 2010. – Т. 23 (62), № 2. – С. 163–169.

16. Экспериментальная цитозембриология растений / Ред. Коварский А.Е. – Кишинев: Штиинца, 1971. – 147 с.

Статья поступила в редакцию 17.11.2014 г.

Kuzmina T.N. Correlation of developmental stage and anthers size of some *Hemerocallis x hybrida hort. cultivars* // Bull. of the State Nikit. Botan. Gard. – 2015. – № 115. – P. 57-61.

Main genesis stages of microsporangium and elements of male generative sphere were determined for diploid (Pandora's Box, Wally Nance) and tetraploid (Anna Warner, Cherry Eyed Pumpkin) species of *Hemerocallis x hybrida Hort.* during anther's development.

Key words: *anther; pollen-grain; microsporogenesis; microspore; ploidy; Hemerocallis x hybrida hort.*