

Список литературы

1. Багрикова Н.А., Крайнюк Е.С. Асфоделина желтая *Asphodeline lutea* (L.) Rchb. / Красная книга Республики Крым. Растения, водоросли, грибы. Отв. ред. д.б.н., проф. А.В. Ена и к.б.н. А.В. Фатерыга. – Симферополь, ИТ «Ариал», 2015. – 480 с., в.илл., С.156.
2. Батыгина Т.Б., Васильева В.Е. Размножение растений. – Изд-во С.Петербургского ун-та, 2002. – 232 с.
3. Голубев В.Н. Биологическая флора Крыма. – Ялта: НБС-ННЦ, 1996. – 126 с.
4. Ена Ан. В. Природная флора Крымского полуострова. – Симферополь: Орианда, 2012. – 232 с.
5. Камелина О.П. Таксономическая и филогенетическая оценка отдельных эмбриологических признаков // Морфологическая эволюция высших растений. – М.: Наука, 1981. – С. 53–56.
6. Корженевский В.В., Н.А. Багрикова, Л.Э. Рыфф, Л.В. Бондарева. Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды и проблемы их сохранения в Севастополе (Крым) // Сб. трудов ГНБС – Ялта, 2004. – Т. 123. – С.196-210.
7. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. М.: Колос, 1990. – 283 с.
8. Поддубная-Арнольди В.А. Цитозембриология покрытосеменных растений. Основы и перспективы. – М.: Наука, 1976. – 508 с.
9. Ромейс Б. Микроскопическая техника. – М.: Изд-во ин. лит-ры, 1954. – 718 с.
10. Шевченко С.В., Кузьмина Т.Н., Марко Н.В., Ярославцева А.Д. Репродуктивная биология некоторых редких видов флоры Крыма. – К.: Аграрна наука, 2010. – 392 с.
11. Шевченко С.В., Ругузов И.А., Ефремова Л.М. Методика окраски постоянных препаратов метиловым зеленым и пиронином // Бюл. Гос. Никит. бот. сада. – 1986. – Вып. 61. – С. 99-101.

Статья поступила в редакцию 07.08.2017 г.

Shevchenko S.V. Formation of the male generative structures *Asphodeline lutea* (L.) Rchb (family *Asphodelaceae*) // Bull. of the State Nikita Botan. Gard. – 2017. – № 124. – P. 97–103.

The article presents the research results of the genesis of the elements of the male generative sphere *Asphodeline lutea* (L.) Rchb. The types of formation of the microsporangium wall and the male gametophyte of asphodelinous fierce (centripetal type, successive type of microsporogenesis, 2-cell of pollen grains) are shown. The morphophysiological features of the male gametophyte, indicating their high potential for pollination and fertilization under natural habitat conditions, have been established.

Key words: *Asphodeline lutea* (L.) Rchb.; microsporangium; male gametophyte

УДК 582.916.6:581.33

ГЕНЕЗИС МИКРОСПОРАНГИЯ *JASMINUM OFFICINALE* L. (OLEACEAE)

Татьяна Николаевна Кузьмина

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

Представлены результаты исследования формирования пыльника и мужского гаметофита *Jasminum officinale* L. (Oleaceae). В ходе анализа постоянных препаратов бутонов показано, что стенка микроспorangия развивается центростремительно. В сформированном состоянии стенка пыльника образована

эпидермисом, эндотецием, средним слоем и двумя или тремя слоями клеток секреторного тапетума. Спорогенная ткань образована одним слоем клеток. Стенка зрелого пыльника представлена двумя слоями клеток: эпидермисом и нерегулярно двухслойным эндотецием. Микроспорогенез идет по симультанному типу. Зрелые пыльцевые зерна *J. officinale* трехклеточные. В средних образцах пыльцы преобладают морфологически нормальные пыльцевые зерна, доля которых составляет около 80%

Ключевые слова: *Jasminum officinale*; *Oleaceae*; пыльник; микроспорангий; генезис; тапетум; микроспорогенез; пыльцевое зерно

Введение

Jasminum officinale L., или жасмин лекарственный, кустарник из семейства *Oleaceae* (маслиновые), является декоративным и эфиромасличным растением. В естественной флоре вид произрастает в Закавказье и Азии. В Никитском ботаническом саду *J. officinale* культивируется с 1816 года [2]. В целом род *Jasminum* насчитывает более 200 видов [1]. Однако сведения по цитоэмбриологии данного рода ограничиваются описанием основных признаков строения пыльников и семязачатков трех видов *J. sambac* Ait., *J. calophyllum* Wall, *J. pubescens* Willd. [11, 15]. Целью данного исследования было описание формирования пыльника *J. officinale*, что позволит дополнить сведения о цитоэмбриологических особенностях представителей рода *Jasminum* и семейства *Oleaceae*.

Объекты и методы исследования

Для приготовления постоянных цитоэмбриологических препаратов брали бутоны *J. officinale* с апреля по июнь в течение 2014-2016 гг. В качестве фиксатора использовали смесь Ф.А.А. После фиксации материал переводили в 70% водный раствор этилового спирта.

Для обезвоживания бутонов использовали изопропиловый спирт который, как известно, является оптимальным заменителем этилового спирта в гистологической практике. Изопропиловый спирт, или изопропанол ($\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$, температура кипения $82,4^\circ\text{C}$), обладает всеми свойствами вторичных спиртов жирного ряда и хорошо смешивается с водой и органическими растворителями в любых соотношениях, что позволяет осуществлять качественное обезвоживание биологического материала, минуя использование этилового спирта и даже ряда промежуточных жидкостей (ксилол, хлороформ), являющихся растворителями парафина [6, 7]. Однако, в нашей работе мы не исключали использование ксилола в качестве промежуточной среды, но в целом сократили время нахождения материала в каждом реагенте. Таким образом, обезвоживание объектов перед завивкой их в парафин (гранулированная парафиновая смесь PLK EXTRA, Россия) проводили по следующей схеме с экспозицией в каждом реагенте по 2 часа:

1. Изопропанол I
2. Изопропанол II
3. Изопропанол III
4. Смесь изопропанола и ксилола в соотношении 1:1
5. Ксилол I
6. Ксилол II

Таким образом, весь процесс обезвоживания и проведение через промежуточные среды занимает до 12 часов, что значительно ускоряет предварительную обработку материала по сравнению с методами, в которых используется этиловый и бутиловый спирты, а также промежуточные жидкости. Продолжительность инфльтрации парафином в применяемом нами способе составляла не более 7 суток.

Серийные срезы бутонов и пыльников выполнены на ротационном полуавтоматическом микротоме RMD-3000 (ООО «МедТехникаПоинт», Россия).

Окраску постоянных препаратов проводили гематоксилином и алциановым синим [4]. Препараты анализировали с помощью микроскопов “Jenaval” (Carl Zeiss, Германия) и AxioScope A.1 (Carl Zeiss, Германия). Микрофотографии сделаны с помощью системы анализа изображения AxioCamERc5s (Carl Zeiss, Германия). Морфометрические измерения и цитоморфологическую оценку пыльцевых зерен проводили на 10 постоянных препаратах, которые окрашивали метилгрюнпиронином [9]. Пыльцевые зерна анализировали в 100 полях зрения, используя программное приложение AxioVision Rel. 4.8.2 и программу ImageJ 1.48v (<http://imagej.nih.gov/ij>). Размер пыльцевых зерен представлен в виде $M \pm SE$, где M – среднее арифметическое, SE – стандартная ошибка.

Результаты и обсуждение

Андроцей *J. officinale* представлен двумя тычинками, пыльники которых имеют по две теки. В сформированном состоянии каждая тека представлена двумя гнездами. В зрелом пыльнике перегородка между гнездами тек облитерирует, и они объединяются.

Развитие стенки пыльника идет в центробежном направлении, при этом тапетум является производным первичного париетального слоя. Также париетальный слой клеток дает начало вторичному париетальному слою, деление клеток которого приводит к образованию эндотеция и среднего слоя (рис. 1, 1,2). Клетки тапетума также претерпевают еще одно или два деления (рис. 1, 3). Таким образом, в стенке сформированного пыльника четко выделяются однослойные эпидерма, эндотеций и средний слой, а так же, как правило, два или три слоя клеток секреторного тапетума, представленным изодиаметрическими клетками (рис. 1, 4). Плотные слои последнего окружают спорогенную ткань со всех сторон. Со стороны связника клетки тапетума более крупные и представлены большим числом слоев. В мейотический период, когда происходит микроспорогенез, эпителиальные клетки увеличиваются в размерах, что особенно заметно в сравнении с уплощением в этот период клеток эндотеция и началом облитерации среднего слоя. Клетки тапетума в период образования тетрад микроспор приобретают радиальную направленность, а их ядра смещаются к внутреннему полюсу клетки, ориентированному к центру микроспорангия (рис. 1, 5). Следует отметить, что аналогичное преобразования тапетума ранее было описано для *Olea europaea* [10]. В постмейотический период, на стадии одиночных микроспор, тапетальный слой дезинтегрирует, а в дальнейшем его клетки лизируют.

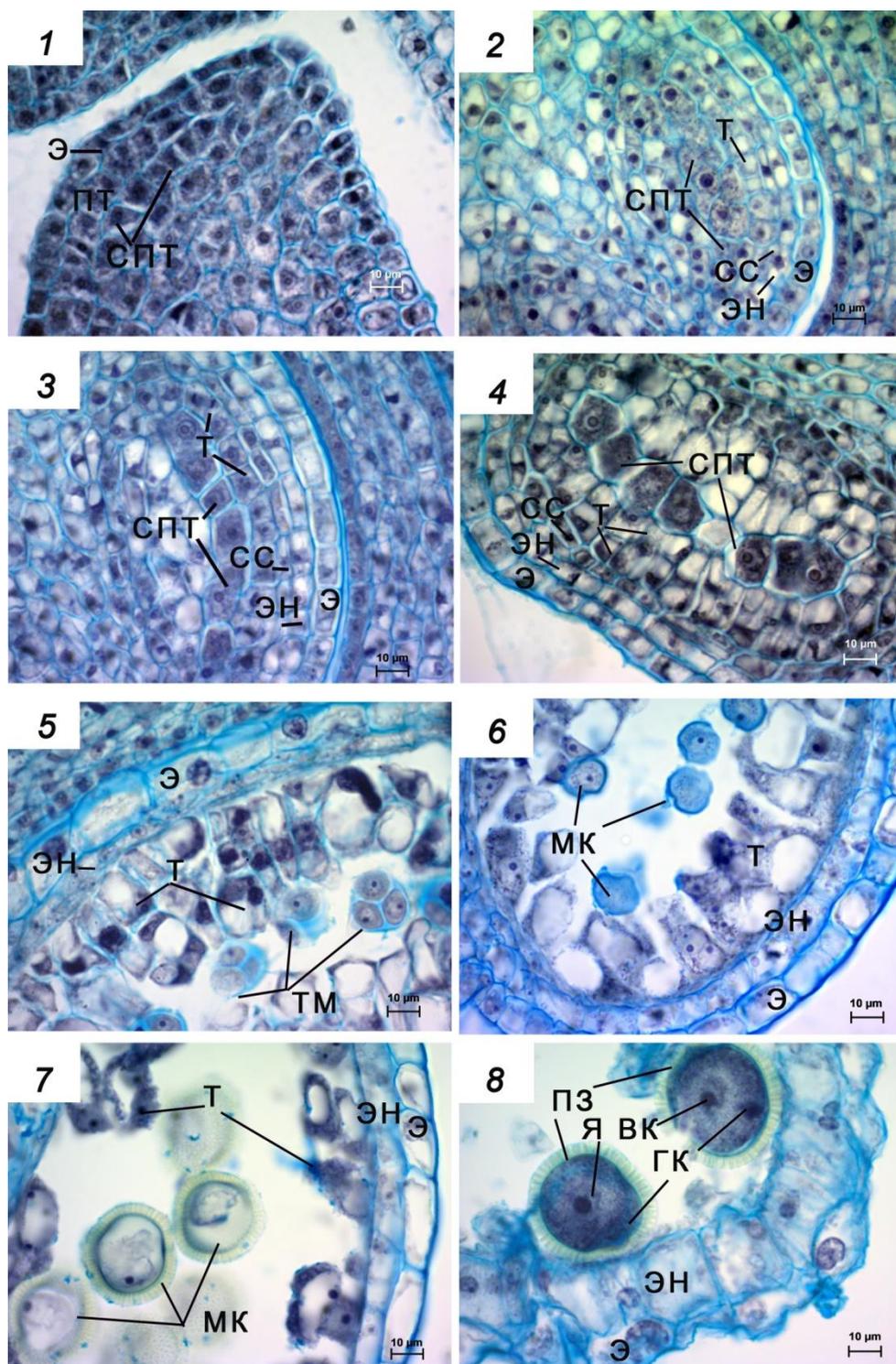


Рис. 1 Фрагменты микроспорангия *Jasminum officinale* на различных стадиях его развития: 1 - 3 – дифференциация клеточных слоев стенки микроспорангия; 4 – сформированный микроспорангий со спорогенной тканью; 5 – тетрады микроспор; 6 – молодые микроспоры; 7 – поздние вакуолизованные микроспоры; 8 – двухклеточные пыльцевые зерна (гк – генеративная клетка; мк – микроспоры; мкц – микроспороцит; пз – пыльцевое зерно; пт – парietальная ткань; спт – спорогенная ткань; сс – средний слой; т – тапетум; тм – тетрады микроспор; э – эпидерма; эн – эндотеций; я вк – ядро вегетативной клетки)

В постмейотический период клетки эндотеция становятся изодиаметрическими. В некоторых случаях в этот период отмечается их повторное деление, что приводит к образованию нерегулярно двухслойного эндотеция. В дальнейшем в слоях эндотеция образуются фиброзные утолщения. Клетки эпидермы в течение постмейотического периода уплощаются (рис. 1, 6 – 8).

Таким образом, стенка зрелого пыльника *J. officinale* представлена уплощенными клетками эпидермиса и нерегулярно двухслойным эндотецием с крупными клетками и фиброзными утолщениями (рис. 2, 1).

Спорогенная ткань *J. officinale* образована, как правило, одним слоем крупных густоплазменных клеток с крупным ядром. Микроспорогенез у *J. officinale* идет по симультанному типу с образованием тетрад, в которых микроспоры преимущественно расположены тетраэдрически. В результате дифференцирующего деления в микроспоре формируется вегетативная и генеративная клетки. В дальнейшем генеративная клетка претерпевает еще одно митотическое деление с образованием двух спермиев. Таким образом, зрелое пыльцевое зерно *J. officinale* является трехклеточным. Оно имеет столбчатую структуру и сетчатую поверхность спородермы. Экваториальный диаметр пыльцевых зерен *J. officinale* варьирует от 41,13 до 59,04 μm и в среднем составляет $50,05 \pm 0,25 \mu\text{m}$ (рис. 2, 2).

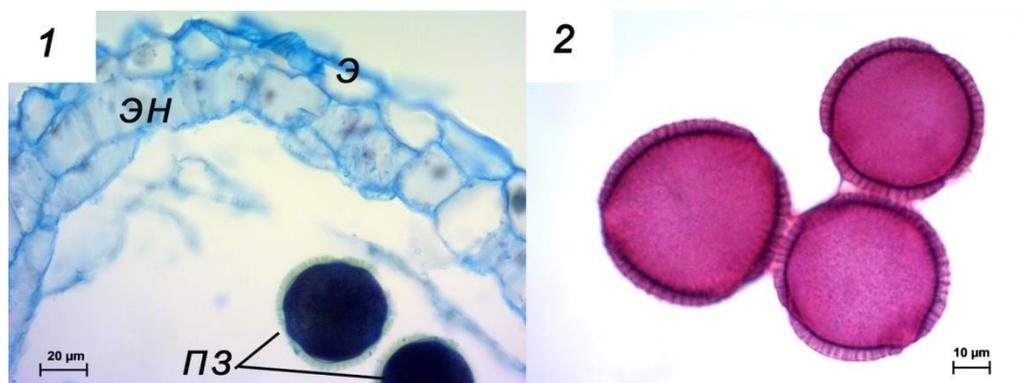


Рис. 2 Фрагмент зрелого пыльника (1) и пыльцевые зерна (2) *Jasmimum officinale*

Установлено, что в средних образцах пыльцы *J. officinale* морфологически нормальные пыльцевые зерна составляют 81,4%. Доля пыльцевых зерен с различного рода аномалиями ядер и структуры цитоплазмы около 7%, а стерильные пыльцевые зерна – составляют около 11% от общего числа проанализированных пыльцевых зерен.

Следует отметить, что основные черты и процессы развития микроспорангия у *J. officinale* соответствует характеристикам, описанным у других представителей семейства Oleaceae и рода *Jasminum* [5, 13]. Особенностью строения пыльника *J. officinale* является наличие иррегулярного многослойного тапетума, двухслойного эндотеция и закладка одного слой спорогенных клеток. Однако некоторые из этих признаков отмечаются и у других представителей семейства Oleaceae. Так, иррегулярный многослойный тапетум отмечен у *J. pubescens* [11] и видов рода *Fraxinus* [12]. А формирование нерегулярно двухслойного эндотеция было описано для *J. angustifolium*, *J. sambac* [15], а так же у *Syringa vulgaris* L. и у *S. villosa* Vahl. [3, 13].

Выводы

Анализ строения пыльника *J. officinale* в ходе его развития показал, что дифференциация клеточных слоев стенки микроспорангия идет в центробежном направлении, при котором тапетум является производным первичного париетального слоя.

Стенка сформированного пыльника образована 4-5 слоями клеток: эпидермой, эндотецием и средним слоем, а также несколькими слоями клеток тапетума. В зрелом состоянии стенка микроспорангия представлена эпидермисом и нерегулярно двухслойным эндотецием с фиброзными утолщениями. Особенности строения микроспорангия *J. officinale* являются наличием нерегулярно многослойного тапетума в сформированном пыльнике и нерегулярно двухслойный эндотеций, образующий стенку зрелого пыльника, и увеличение клеток эпидермы в постмейотический период.

Спорогенная ткань представлена одним слоем клеток. Микроспорогенез идет по симультанному типу. Зрелые пыльцевые зерна у *J. officinale* трехклеточные с сетчатой структурой и столбчатой поверхностью спородермы. В средних образцах преобладают морфологически нормальные пыльцевые зерна (более 80%).

Список литературы

1. Гладкова В.Н. Семейство маслиновые (Oleaceae) // Жизнь растений Т. 5, Ч. 2. Цветковые растения / Ред. А.Л. Тахтаджян. - М.: Просвещение, 1980. - С. 371 – 375.
2. Голубева И.В., Кузнецова С.И. Никитский ботанический сад: Путеводитель. – Симферополь: Таврия, 1981. – 96 с.
3. Жакова С.Н., Новоселова Л.В. Строение и развитие мужских репродуктивных структур некоторых видов и культиваров рода *Syringa* (Oleaceae) // Бот. журнал. – 2015. – Т. 100, № 11. – С. 1161 – 1666.
4. Жинкина Н.А., Воронова О.Н. О методике окраски эмбриологических препаратов // Бот. журнал – 2000. – Т. 85, № 6. – С. 168 – 171.
5. Литвиненко Н.М. Семейство Oleaceae // Сравнительная эмбриология цветковых растений. Davidiaceae – Asteraceae. Л., 1987. – С. 154 – 158.
6. Микротехника: практикум / сост. И. П. Комарова; Яросл. гос. ун-т им. П. Г. Демидова. – Ярославль : ЯрГУ, 2013. – 60 с.
7. Пешков М.В., Дыгало И.И. Метод гистологической проводки тканей с использованием изопропанола и минерального масла // Архив патологии. – 2009. – Т. 71, № 3. – С. 39 – 41.
8. Поддубная-Арнольди В.А. Цитоэмбриология покрытосеменных растений. Основы и перспективы. – М.: Наука, 1976. – 508 с.
9. Шевченко С.В., Ругузов И.А., Ефремова Л.М. Методика окраски постоянных препаратов метиловым зеленым и пиронином // Бюл. Гос. Никит. бот. сада. – 1986. – Вып. 60. – С. 99 – 101.
10. Шевченко С.В., Чеботарь А.А. Особенности эмбриологии маслины европейской (*Olea europaea*) // Цитолого-эмбриологические исследования высших растений. – Ялта, 1992. – С. 52 – 61.
11. Bhargava Y.R. Microsprogenes and male gametophyte in *Jasminum pubescens* Willd. // Current Sciens. – 1980. –V. 49. – P. 911 – 912.
12. Copeland H. F. The reproductive structures of *Fraxinus velutina* (Oleaceae) // Mandroño. – Vol. 15, N 6. – 1960. – P. 161 – 172.
13. Jedrzejuk A., Szlachetka W. Development of flower organs in common lilium (*Syringa vulgaris* L.) cv. Mme Florent Stepman // Acta Biologica Cracoviensia. Series Botanica. – 2005. – V. 42, № 2. – P. 41 – 52.

14. Johri B.M., Ambargaokal K.B., Srivastava P.S. Comparative embryology of angiosperms. Berlin: Springer-Verlag, 1992. – V. 2. – P. 650 – 653.

15. Maheshwary Devi H. Embryology of Jasminums (*J. sambac*, *J. calophyllum*) and its bearing on the oil composition of Oleaceae // Acta Botanica India. - 1975. – V. 3, N. 1 – P. 52 – 61.

Статья поступила в редакцию 24.07.2017 г.

Kuzmina T.N. Genesis of microsporangium of *Jasminum officinale* L. (Oleaceae) // Bull. of the State Nikita Botan. Gard. – 2017. – № 124. – P. 103–109.

The results of the study of anther and male gametophyte formation are presented. The wall microsporangium is developed centrifugally and it was shown while analyzing permanent preparations of buds. In the formed state of the wall anther is composed of epidermis, endothecium, a middle layer and 2 – 3 layers of cells of tapetum of a secretory type. Sporogenous tissue is formed with a single layer of cells. The wall of a mature anther is represented with two layers of cells: epidermis and irregular double layer endothecium. Microsporogenesis runs on a simultaneous type. Mature pollen grains of *J. officinale* are three-cells. In the middle samples of pollen morphologically normal pollen grains dominate, their amount is around 80%.

Key words: *Jasminum officinale*; *Oleaceae*; *anther*; *microsporangium*; *genesis*; *tapetum*; *microsporogenesis*; *pollen grain*

БИОТЕХНОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 582.675.1:57.085.2

ВВЕДЕНИЕ ЭКСПЛАНТОВ ТРЕХ СОРТОВ КЛЕМАТИСА В УСЛОВИЯ *IN VITRO*

Наталья Николаевна Иванова, Ирина Вячеславовна Митрофанова,
Наталья Васильевна Зубкова

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

В статье представлены результаты исследований 3-х сортов клематиса на этапе введения в условия *in vitro*. Определены оптимальные сроки отбора исходного растительного материала, разработан способ получения асептической культуры для вегетативных почек клематиса, отобранных в период покоя. Выявлены особенности индукции первичных эксплантов изучаемых сортов клематиса. Показана высокая регенерационная способность почек в условиях *in vitro*.

Ключевые слова: *Clematis* sp.; *вегетативная почка*; *индукция*; *морфогенез in vitro*; *регенерация микропобегов*

Введение

Клематис (*Clematis* L.) – многолетняя красивоцветущая лиана-листолаз семейства *Ranunculaceae* Juss. В современных ботанических номенклатурах выделяют более 373 видов [17]. В ФГБУН «НБС-ННЦ» создана коллекция представителей рода *Clematis* L., насчитывающая 24 вида и 236 сортов отечественной и зарубежной селекции [3]. Коллекция способствует сохранению видов рода *Clematis* L., дает представление о многообразии биоморфологических признаков и этапах селекционной