Жакова С.Н.¹, Новоселова Л.В.²

¹Пермская государственная сельскохозяйственная академия имени академика Д.Н. Прянишникова ²Пермский государственный национальный исследовательский университет E-mail: S.Fetisova@mail.ru; Novoselova@psu.ru

ЭМБРИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ И РАЗВИТИЯ РЕПРОДУКТИВНЫХ СТРУКТУР HEKOTOPЫХ КУЛЬТИВАРОВ SYRINGA VULGARIS L.

Copta S. vulgaris L. имеют низкую завязываемость плодов. Изучение генеративной сферы на всех этапах ее формирования позволяет оценить особенности строения и развития репродуктивных структур и выявить возможные аномалии, которые могут повлиять на формирование полноценных семян при селекционной работе.

Приведены результаты изучения эмбриологических особенностей строения и развития репродуктивных структур 4 сортов S. vulgaris L. и S. vulgaris L. (несортовая форма – контроль) из коллекции сирингария учебного ботанического сада имени профессора А.Г. Генкеля Пермского государственного национального исследовательского университета. Цветки простые у 'Marie Lorsovo' и 'Мирия' махооны — у 'Mmo Lugaria' и 'Муров' и 'Му

Legraye' и 'Индия', махровые – у 'Mme Lemoine' и 'Mme Jules Finger'.

Исследуемые культивары S. vulgaris характеризуются сходным развитием репродуктивных структур. Развитие андроцея опережает развитие гинецея. Андроцей представлен двумя тычинками с пыльниками цилиндрической формы. Первичная археспориальная ткань появляется в субэпидермальном слое пыльника во второй декаде марта. Стенка пыльника представлена эпидермисом, эндотецием, средним слоем и секреторным тапетумом. Деградация среднего слоя и тапетума наступает в мейотический период. Тетрады микроспор образуются по симультанному типу. Расположение микроспор в тетрадах тетраэдрическое. Зрелые пыльцевые зерна двуклеточные, 3-бороздно-поровые, средних размеров, сфероидальной или сплющено-сфероидальной формы.

Тип гинецея – синкарпный. Завязь верхняя, двугнездная, образуется в результате срастания двух плодолистиков. В одной завязи закладываются два семязачатка. Семязачатки анатропные, тенуинуцеллятные. Нуцеллус семязачатка представлен одним эпидермальным слоем из рано разрушающихся клеток. Семязачаток унитегмальный, интегумент массивный. Археспориальная клетка одна, закладывается в первой декаде мая. Тетрада мегаспор линейная, функциональная мегаспора – халазальная. Зрелый зародышевый мешок имеет вытянутую форму, состоит из яйцеклетки и двух синергид в микропилярной части, центральной клетки с двумя полярными ядрами, трех антипод в халазальной части.

Нарушениями в развитии репродуктивных структур являются недоразвитые зародышевые мешки в полноценно сформированных семязачатках, отсутствие пыльников у сорта 'Mme Jules Finger' и 100% стерильные пыльцевые зерна у сорта 'Marie Legraye'.

Ключевые слова: Syringa vulgaris L., сорт, эмбриология, андроцей, гинецей.

Род Syringa L. включает 30 видов. Наиболее декоративны многочисленные сорта Syringa vulgaris L. Они различаются по типу цветка (цветки простые и махровые) и окраске цветка [11]. Мировой ассортимент насчитывает более 1700 культиваров [13], все они занесены в Международный регистр рода Сирень [9].

Эмбриологические данные по роду Syringa приводятся в характеристике семейства Oleaceae [7], [8]. Они представляют собой фрагменты эмбриологического изучения 5 видов и 2 гибридов — S. amurensis Rupr. из подрода Ligustrina (Rupr.) К. Koch.; S. vulgaris L., S.× chinensis Schmidt ex Willd. (S. protolaciniata × S.vulgaris), S. × persica L. (происхождение точно неизвестно) из подрода Syringa, секции Syringa; S. josikaea J. Jacq. ex Rchb., S. villosa Vahl, S. reflexa C.K. Shneid. из подрода Syringa, секции Villosae C.K. Schneid. Более

полно формирование и развитие репродуктивных структур рассмотрены лишь у четырех видов — S. amurensis Rupr., S. vulgaris L., S. josikaea J. Jacq. ex Rchb. и S. villosa Vahl в цикле работ М.А. Иванова и Е.А. Шаренковой в 1969—1970 гг. в условиях г. Иркутска [3]—[5], [10]. За последние годы исследования проводились в Польше — изучено формирование и развитие репродуктивных структур и влияние высоких температур на формирование семязачатков сорта 'Мme Florent Stepman' S. vulgaris L. [14], [15]. В России цитоэмбриологические исследования Syringa нам неизвестны.

Цель исследований — изучить эмбриологические особенности строения и развития репродуктивных структур S.vulgaris и ее сортов с простой формой цветка: 'Индия' и 'Mary Legraye' и махровой формой цветка: 'Mme Lemoine' и 'Mme Jules Finger'.

Материалы и методы

Объектам исследований являются S. vulgaris L. (несортовая – контроль) и 4 сорта S. vulgaris L. из коллекции учебного ботанического сада имени профессора А.Г. Генкеля. Для цитоэмбриологических исследований в период с марта по август в 2012–2014 гг. фиксировали генеративные почки, бутоны на разных стадиях развития (от 1 до 5 мм) и завязи цветков разных стадий раскрывания (рис.1).

Фиксацию проводили в фиксаторе Кларка (спирт 96%, 3 части; ледяная уксусная кислота, 1 часть) [1]. Изготовление постоянных препаратов проводилось в лаборатории цитогенетики и генетических ресурсов растений Пермского государственного национального исследовательского университета. Парафинирование материала проводилось с использованием автоматической системы для гистологической обработки тканей Leica ТР 1020 карусельного типа. Для изготовления срезов толщиной 8–10 мкм использовался ротационный микротом Leica RM. Окрашивание срезов проводилось гематоксилином по Гейденгайну [2] и методом тройного окрашивания с использованием реактива Шиффа, алцианового синего и гематоксилина Эрлиха [6]. Анализ и определение фертильности пыльцевых зерен проводились на временных препаратах ацетокарминовым методом по З.П. Паушевой [9]. Фотографии с препаратов сделаны с помощью светового микроскопа Olympus B×51 с системой визуализации изображения Olympus DP71 с использованием программы Cell B. Описание и измерения проводились при увеличении 100-1500.

Результаты исследования

Строение и развитие мужских репродуктивных структур. Исследуемые сорта S. vulgaris характеризуются сходным развитием мужской генеративной сферы. Андроцей представлен 2-3 тычинками с пыльниками цилиндрической формы. У сорта 'Mme Jules Finger' пыльников нет, зачатки их в генеративных почках обнаружены единично.

Первичная археспориальная ткань появляется в субэпидермальном слое пыльника во второй декаде марта (рис. 2, 1). Стенка пыльника дифференцируется в бутонах 1мм в премейотический период, представлена эпидерми-

сом, эндотецием, средним слоем и секреторным тапетумом (рис. 2, 2). Клетки среднего слоя узкие и вытянутые. У S.vulgaris (несортовая) формируется 2—3 ряда клеток среднего слоя, у 'Marie Legraye', 'Mme Lemoine', 'Индия' — 1—2 ряда. Клетки тапетума двухъядерные, содержат большую вакуоль, значительно крупнее других клеток. Спорогенная ткань полностью заполняет гнезда пыльников, представлена крупными клетками с густой цитоплазмой, большими ядрами с ядрышками.

Когда стенка микроспорангия полностью сформирована, тапетум много-ядерный, однослойный, в области связника - двуслойный, полностью окружает спорогенную ткань. Цитоплазма его клеток интенсивно окрашивается, содержит крупные ядра, которые после деления не расходятся, а остаются сближенными. После прекращения делений клетки спорогенной ткани обособляются с помощью формирующейся каллозной оболочки, образуя микроспороциты. В результате мейоза (рис. 2, 3-5) образуется 2-ядерная клетка, а затем – тетрады микроспор (рис. 2, 6). Тетрады микроспор образуются по симультанному типу. Расположение микроспор в тетрадах тетраэдрическое. На данной стадии тапетум распадается на отдельные клетки, в эпидермальных клетках образуются крупные вакуоли, ядра постепенно дегенерируют. Средний слой представлен узкими, вытянутыми клетками с ядрами эллиптической формы, которые также дегенерируют.

В результате растворения каллозной оболочки происходит распад тетрад микроспор, которые отделяются друг от друга. Микроспоры увеличиваются в размерах, покрываются экзиной, первоначально имеют угловатую форму. В постмейотический период происходит деление микроспор с образованием вегетативной и генеративной клеток. В результате деления одноядерного пыльцевого зерна образуется две клетки, меньшая - генеративная, большая - вегетативная. В дальнейшем генеративная клетка отделяется от стенки вегетативной. На ранних стадиях развития они не отличаются друг от друга, по мере развития пыльцевого зерна генеративное ядрышко клетки исчезает, а в вегетативной клетке ядро теряет четкие контуры.

Стенка зрелого пыльника образована эпидермисом и эндотецием. Клетки эпидермиса



Рисунок 1. Стадии раскрывания цветка сортов S. vulgaris

уплощены. Клетки эндотеция вытянуты в радиальном направлении, имеют фиброзные утолщения, ядра их лизируются.

Зрелые пыльцевые зерна двуклеточные 3-бороздно-поровые, сфероидальной или сплющенно-сфероидальной формы, в очертании с полюса и экватора округлые, реже эллиптические (рис. 3, 7). У сорта 'Marie Legraye' двуклеточные пыльцевые зерна не обнаружены. Анализ фертильности пыльцевых зерен за 2012—2014 гг. показал наиболее высокую фертильность у сорта 'Индия' — более 90%. Фертильность пыльцевых зерен S.vulgaris (несортовая) от 56 до 67 %, 'Mme Lemoine' — от 45 до 49%. У сорта 'Marie Legraye' фертильные пыльцевые зерна единичны в 2012 г., в 2013 и 2014 гг. все пыльцевые зерна стерильны.

Строение и развитие женских репродуктивных структур. Тип гинецея — синкарпный. Завязь верхняя, двугнездная, образуется в результате срастания двух плодолистиков. В одной завязи закладывается два семязачатка (рис. 3, 1). Как только появляется бугорок семяпочки, начинается дифференциация. В центральной части семяпочки развивается нуцеллус, состоящий из паренхимных клеток с тонкими оболочками. Наряду с нуцеллусом развивается интегумент.

Археспориальная клетка одна, закладывается у всех сортов в первой декаде мая (рис. 3, 2). Археспорий образует мегаспороцит (рис. 3, 3), который в дальнейшем претерпевает первое мейотическое деление — образуется диада мегаспор (рис. 3, 4), затем второе мейотическое деление —

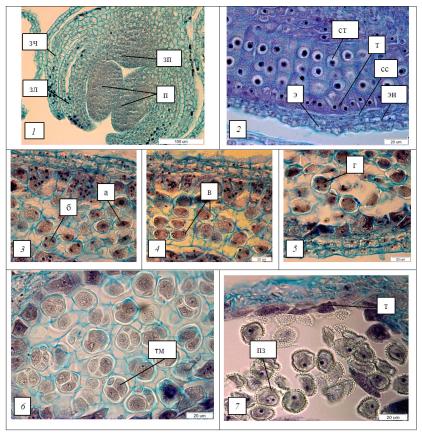


Рисунок 2. Развитие мужских репродуктивных структур сортов S.vulgaris

1 — 'Индия', цветочная почка (х400); 2 — 'Marie Legraye', стенка пыльника и клетки спорогенной ткани, бутон 1 мм (х1500); 3-5 — 'Mme Lemoine', микроспороциты, бутон 3 мм (х1500): а —метафаза 1 деления мейоза, 6 — анафаза 1 деления мейоза, г — анафаза 2 деления мейоза; 6 — 'Marie Legraye', тетрады микроспор, бутон 1 мм (х1500); 7 — S.vulgaris (несортовая), двухклеточные пыльцевые зерна, бутон 3 мм (х1500).

3л-3ачатки лепестков, 3п-3ачатки плодолистиков; 3ч-3ачатки чашелистиков, n-1ыльники, n3-1ыльцевое зерно, n-1сс средний слой, n-1ст спорогенная ткань, n-10 ткань, n-10 тетрада мегаспор, n-10 эндотеций.

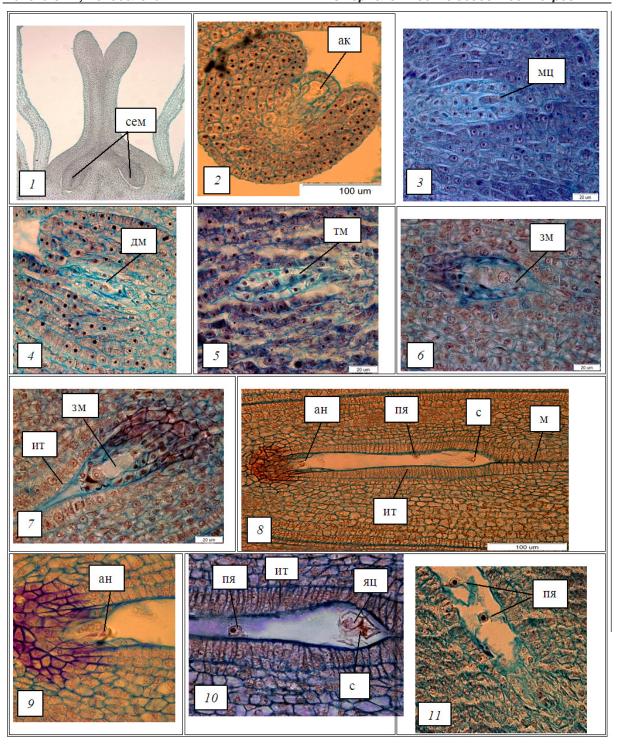


Рисунок 3. Развитие женских репродуктивных структур сортов S.vulgaris
1 — 'Marie Legraye', семязачатки, раскрывшийся бутон (х100); 2 — 'Индия', семязачаток, бутон 2 мм, (х400);
3 — 'Marie Legraye', материнская клетка мегаспор, бутон 4 мм (х1500); 4 — 'Индия', диада мегаспор,
бутон 3 мм (х1500); 5 — 'Индия', тетрада мегаспор, бутон 5 мм (х1500); 6 — 'Мте Lemoine', одноядерный
зародышевый мешок, закрытый бутон (х1500); 7 — 'Мте Lemoine', двухъядерный зародышевый мешок,
закрытый бутон (х1500); 8 — 'Индия', зрелый зародышевый мешок, полуоткрытый цветок (х400);
9 — 'Индия', антиподы, полуоткрытый цветок (х1500); 10 — 'Индия', часть зародышевого мешка, полуоткрытый
цветок (х1500); 11 — 'Мте Jules Finger', полярные ядра, открытый цветок (х1500).
ак — археспориальная клетка, ан — антиподы, дм — диада мегаспор, зм — зародышевый мешок,
ит — интегументальный тапетум, м — микропиле, мц — мегаспороцит, тм — тетрада мегаспор,
с — синергида, сем — сесязачаток, пя —полярное ядро, яц — яйцеклетка.

образуется тетрада мегаспор (рис. 3, 5). В это же время дифференцируется интегументальный тапетум. Мейотический период у сорта 'Marie Legraye', 'Mme Lemoine' и 'Mme Jules Finger' обнаруживается в бутонах 4-5 мм, 'Индия' – 3-5 мм. Мегаспороцит S.vulgaris (несортовая), повидимому, проходит длительный период покоя, поскольку тетрада мегаспор зафиксирована лишь в семязачатках открытых цветков или в бутонах за два дня до раскрывания.

Начало развития зародышевому мешку даёт халазальная мегасроспора. Основная цитоплазма в ней сосредоточена вокруг ядра. Микропилярные мегаспоры дегенерируют и отмирают. Халазальная мегаспора увеличивается, вакуолизируется, формируя одноядерный зародышевый мешок (рис. 3, 6). После первого митотического деления образуется двухъядерный зародышевый мешок с полярным расположением ядер (рис. 3, 7). Деление ядер сопровождается образованием центральной вакуоли. Затем каждое ядро двухъядерного зародышевого мешка делится и образуется четырехъядерный зародышевый мешок

Дальнейшее развитие зародышевого мешка у исследованных сортов сопровождается интенсивным ростом в длину. Интегументальный тапетум дифференцируется по всей длине зародышевого мешка. В центральной и халазальной части клетки тапетума чаще имеют вытянутую таблитчатую форму, в микропилярной части клетки сужаются. Микропиле прямое, узкое, расположено на одной оси с халазой (рис. 3, 8). В основании фуникулуса имеются радиально вытянутые эпидермальные клетки, образующие фуникулярный обтуратор. Клетки обтуратора имеют утолщенные наружные стенки и плотную цитоплазму.

Восьмиядерный зародышевый мешок наблюдается за два-три дня до рас-пускания цветков. В большинстве полноценно сформированных семязачатках S.vulgaris и ее сортов с развитым нуцеллусом, зрелые зародышевые мешки обнаруживались достаточно редко. На месте зародышевого мешка наблюдались плотно сомкнутые клетки нуцеллуса или клетки интегументального тапетума.

Биполярная структура зрелого зародышевого мешка представлена тремя функционально объединёнными клеточными группами — яйцевой аппарат в микропилярной части, центральная клетка с двумя полярными ядрами, три антиподы в халазальной части.

Яйцевой аппарат состоит из яйцеклетки и двух синергид (рис. 3, 10). Форма яйцеклетки грушевидная, ядро расположено в апикальной части, а вакуоль – в базальной части. Полярных ядер два, они крупные, одинаковой величины, располагаются в средней части зародышевого мешка (рис. 3, 11). Слияние полярных ядер не обнаружено. Три клетки антипод имеют вытянутую форму, расположены Т-образно (рис. 3, 9).

Таким образом, результаты эмбриологического исследования репродуктивных структур сортов S. vulgaris согласуются с данными S. vulgaris L., представленными в литературе, и дополняют их. Выявленные нарушения в развитии репродуктивных структур — отсутствие пыльников у сорта 'Mme Jules Finger', 100 % стерильные пыльцевые зерна у сорта 'Marie Legraye' недоразвитые зародышевые мешки в полноценно сформированных семязачатках S. vulgaris (несортовая) и исследованных сортов, могут быть использованы в селекционной работе.

10.08.2015

Список литературы:

^{1.} Барыкина, Р.П. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы / Р.П. Барыкина, Т.Д. Веселова, А.Г. Девятов, Х.Х. Джалилова, Г.М. Ильина, Н.В. Чубатова. – М.: Изд-во МГУ, 2004. – 312 с.

^{2.} Жинкина, Н.А. К методике окраски эмбриологических препаратов / Н.А. Жинкина, О.Н. Воронова // Ботанический журнал. — 2000. — Т. 85, № 6. — С. 168–172.

^{3.} Иванов, М.А. К цитоэмбриологии сирени. Сирень амурская (Syringa amurensis R.) / М.А. Иванов, Е.А. Шаренкова // Известия биолого-географического научно-исследовательского института при Иркутском государственном университете им. А.А. Жданова. – 1969а. – Т. XXIII, вып. 3. – С. 32–47.

^{4.} Иванов, М.А. К цитоэмбриологии сирени. Сирень венгерская (Syringa josikaea Jacq.) и сирень волосистая (Syringa villosa Vahl.) / М.А. Иванов, Е.А. Шаренкова // Известия биолого-географического научно-исследовательского института при Иркутском государственном университете им. А.А. Жданова. — 1969б. — Т. XXIII, вып. 3. — С. 19—31.

^{5.} Иванов, М.А. К цитоэмбриологии сирени. Сирень обыкновенная (Syringa vulgaris L.) / М.А. Иванов, Е.А. Шаренкова // Известия биолого-географического научно-исследовательского института при Иркутском государственном университете им. А.А. Жданова. – 1969в. – Т. XXIII, вып. 3. – С. 3–18.

^{6.} Камелина, О.П. К методике окраски эмбриологических препаратов / О.П. Камелина, О.Б. Проскурина, Н.А. Жинкина // Ботанический журнал. – 1992. – Т. 77, № 4. – С. 93–96.

- 7. Камелина, О.П. Систематическая эмбриология цветковых растений. Двудольные / О.П. Камелина. Барнаул: Артика, 2009. 501 с
- 8. Литвиненко, Н.М. Семейство Oleaceae / Н.М. Литвененко // Сравнительная эмбриология цветковых растений. Davidiaceae Asteraceae. Л.: Наука, 1987. С. 154-158.
- 9. Паушева, З.П. Практикум по цитологии растений / З.П. Паушева. М.: Агропромиздат, 1988. 271 с.
- 10. Шаренкова, Е.А. Биология цветения и эмбриология некоторых видов сирени / Е.А. Шаренкова, М.А. Иванов // Бюллетень главного ботанического сада. 1970. Вып. 76. С. 41–51.
- 11. Шуваева, К.Н. Анализ мирового сортимента сирени обыкновенной (Syringa vulgaris L.) и сирени гиацинтоцветной (S. × hyacinhiflora Rehder) / К.Н. Шуваева, И.Б. Окунева // Вісник київського національного університету імені Тараса Шевчен-ка. 2009. С. 83—84.
- 12. International register and checklist of cultivar names in the genus Syringa L. (Oleaceae). 2003.
- 13. Lilacs. Jorgovani [Электронный ресурс]. Produced by Zelimir Borzan and Charles Holetich Copyright, 2014. 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).
- 14. Jedrzejuk, A. Development of flower Organs in Common Lilac (Syringa vulgaris L.) cv. Mme Florent Stepman / A. Jedrzejuk, W. Szlachetka // Acta biologica cracoviensia. Series Botanica. − 2005. − Vol. 2, № 47. − P. 41–52.
- 15. Jedrzejuk, A. High temperatures applied at fall forcing disturb ovule development in Syringa vulgaris L. "Mme Florent Stepman"/ A. Jedrzejuk, A.J. Lukaszewska // Acta Physiol Plant. − 2008. − № 66. − P. 673–678.

Сведения об авторах:

Жакова Светлана Николаевна, старший преподаватель кафедры экологии Пермской государственной сельскохозяйственной академии имени академика Д.Н. Прянишникова 614990, г. Пермь, ул. Петропавловская, 23, тел. (3422) 2124772, e-mail: S.Fetisova@mail.ru

Новоселова Лариса Викторовна, профессор кафедры ботаники и генетики растений Пермского государственного национального исследовательского университета, доктор биологических наук 614990, г. Пермь, ул. Букирева, 15, тел. (3422) 2396229, e-mail: Novoselova@psu.ru