



ГЕНЕЗИС СЕМЯЗАЧАТКА И ЖЕНСКОГО ГАМЕТОФИТА *HEMEROCALLIS* × *HYBRIDA* HORT. EX BERGMANS (HEMEROCALLIDACEAE)

Татьяна Н. Кузьмина

Аннотация. Представлены результаты изучения формирования и строения структур семязачатка *Hemerocallis* × *hybrida* Hort. ex Bergmans (Hemerocallidaceae). Определен медуноцеллятный тип семязачатка, последовательность заложения и развития внутреннего и наружного интегументов, морфологические особенности организации нуцеллуса и семязачатка в целом (наличие постаменто-подиума; слияние внутреннего интегумента и нуцеллуса; лизис эпидермы нуцеллуса; морфологически слабо выраженная гипостаза; образование рафе; хорошо развитый проводящий пучок, достигающий наружного интегумента; дифференциация клеток наружного эпидермиса внутреннего интегумента). Внутренний интегумент сформирован из инициалей, расположенных в дермальном слое, наружный интегумент имеет дермально-субэпидермальное происхождение. Зародышевый мешок у *H. ×hybrida* развивается из халазальной мегаспоры по Polygonum-типу. Полярные ядра и ядра в антиподах сливаются до оплодотворения. Дегенерация зародышевых мешков связана с отмиранием спорогенных клеток, нарушением дифференциации его структурных элементов. У сорта 'Pandora's Box' около 90% семязачатков стерильны. У сорта 'Wally Nance' преобладают семязачатки с морфологически нормальными зародышевыми мешками.

Ключевые слова: *Hemerocallis* × *hybrida*, Hemerocallidaceae, семязачаток, нуцеллус, зародышевый мешок

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр НААН Украины, пгт. Никита, г. Ялта, АР Крым, 98648, Украина; tnkuzmina@rambler.ru

Введение

Hemerocallis × *hybrida* Hort. ex Bergmans, или лилейник гибридный (сем. Hemerocallidaceae), – один из широко распространенных многолетников открытого грунта. В настоящее время насчитывается более 30 тыс. сортов лилейника, в то же время селекционная работа с данной культурой продолжается (Хими́на 2002; Улановская 2011). Следует учитывать, что основой успешной и целенаправленной гибридизации является знание потенциальных возможностей жизнеспособности гаметофитов родительских форм. Одним из этапов оценки жизнеспособности гаметофитов является выявление основных признаков организации генеративных структур. Однако, если вопросы генезиса и жизнеспособности мужского гаметофита представителей рода *Hemerocallis* L. в литературных источниках освещены достаточно подробно (TERASAKA

& TANAKA 1974; ТАКАМІСНІ 1980; ШАМРОВ 1990; XIONG *et al.* 1998; КРОХМАЛЬ 2005; КРЕСТОВА 2010), то сведения о формировании и развитии женской генеративной сферы фрагментарны и, в ряде случаев, противоречивы (САВЧЕНКО и КОМАР 1965; КОМАР 1982, 1983; SHIN-ІСНІ 1985, 1986; ШАМРОВ 1990, 1999a). Цель данной работы заключалась в выявлении особенностей формирования структур семязачатка *H. ×hybrida*, установлении признаков их аномального развития в связи с определением потенциальной жизнеспособности женского гаметофита.

Материалы и методы исследований

Объектами исследования были завязи и семязачатки бутонов на различных стадиях развития диплоидных сортов *H. ×hybrida* 'Pandora's Box' и 'Wally Nance', культивируемых в генофондовой коллекции данной культуры Никитского ботанического

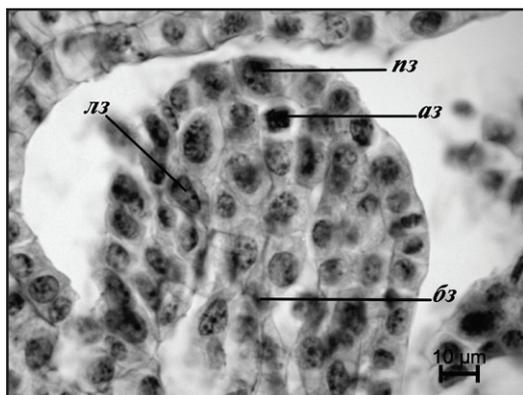


Рис. 1. Примордий семязачатка *Hemerocallis x hybrida*: аз – апикулярная зона; бз – базальная зона; лз – латеральная зона; пз – периферическая зона (эпидермальный слой).

Fig. 1. Ovule primordium of *Hemerocallis x hybrida*: аз – apical zone; бз – basal zone; лз – lateral zone; пз – peripheral zone (epidermal layer).

сада – Национального Научного Центра НААН Украины (куратор коллекции – И.В. Улановская).

Постоянные цитозембриологические препараты готовили по общепринятой методике (Паушева 1970). В качестве фиксатора использовали смесь Карнуа (этиловый спирт – хлороформ – уксусная кислота (6:3:1). После обезвоживания материал переводили в парафин. Парафиновые срезы толщиной 10-12 мкм делали на ротационном микротоме марки МРТУ. Препараты окрашивали гематоксилином с подкраской алциановым синим (Жинкина и Воронова 2000) или метилгрюнпиронином с алциановым синим (Шевченко и Чеботарь 1992). Для приготовления тотальных препаратов применяли метод просветления семязачатков, предложенный Л.И. Орел и др. (1988). Препараты анализировали с помощью микроскопов “Jenaval” (Carl Zeiss) и AxioScore A.1 (Carl Zeiss) методом светлого поля. При анализе тотальных препаратов семязачатков также применяли метод фазового контраста. Микрофотографии выполнены с помощью системы анализа изображения AxioCam ERc5s и цифровой

фотокамеры Olympus SP-350. Классификация структур семязачатка приводится согласно типизации, предложенной И.И. Шамровым (19996).

Результаты и их обсуждение

Примордии семязачатков морфологически различимы в завязях бутонов высотой 0,3 см. На начальных этапах развития семязачатка субэпидермальные клетки примордия делятся периклиально. На этой стадии в примордии можно выделить эпидермальный слой (или периферическую зону), а так же апикулярную, латеральную и базальную зоны (Рис. 1).

Апикулярная зона у *H. x hybrida* представлена одной клеткой, которая становится археспориальной, в дальнейшем преобразующейся в мегаспороцит. Клетки латеральной зоны делятся периклиально, что приводит к образованию латеральной области нуцеллуса, представленной двумя рядами удлиненных клеток, несколько скошенных по отношению к мегаспороциту (Рис. 2 А). Начиная со стадии мегаспорогенеза, происходит лизис клеток латеральной области нуцеллуса, примыкающих к зародышевому мешку. Базальная зона образована 3-4 рядами клеток (Рис. 2 Б). Базальные клетки образуют осевую часть нуцеллуса, которая в зрелом семязачатке совместно с эпидермальными клетками и клетками латеральной области образуют постаменто-подиум. Эпидермальный слой нуцеллуса, окружающий зародышевый мешок, сохраняется долго, но ко времени созревания зародышевого мешка он лизирует.

Отсутствие париетальных клеток в апикулярной области нуцеллуса, лизис эпидермы нуцеллуса и его латеральной области, примыкающей к зародышевому мешку, а также формирование постаменто-подиума позволяют характеризовать семязачаток *H. x hybrida*, согласно классификации, предложенной И.И. Шамровым (19996), как медионуцеллятный. Аналогичный тип семязачатка отмечен для *H. citrina* Varoni и *H. x hybrida* И.И. Шамровым (1999а, 2002). Ранее у этих видов семязачатки

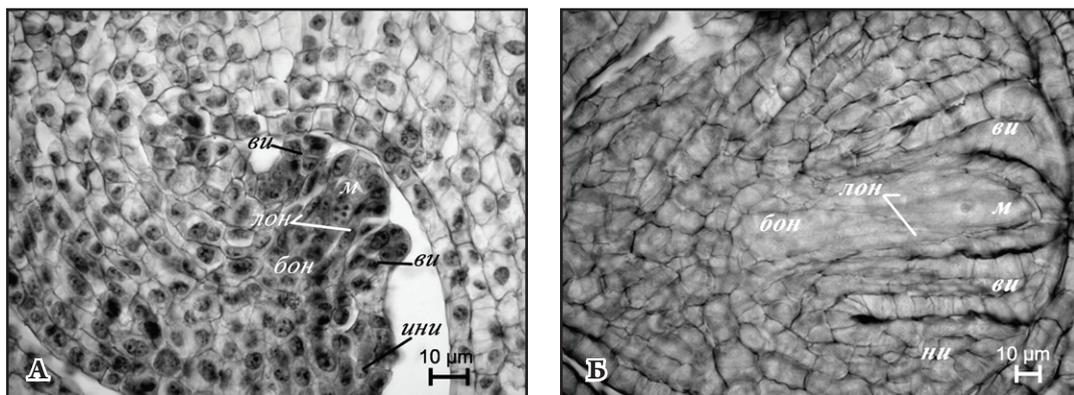


Рис. 2. Семязачаток *Hemerocallis ×hybrida* на стадии мегаспороцита: А – закладка инициалей наружного интегумента; Б – формирование нуцеллуса; бон – базальная область нуцеллуса; ви – внутренний интегумент; ини – инициаль наружного интегумента; лон – латеральная область нуцеллуса; м – мегаспороцит; ни – наружный интегумент.

Fig. 2. The ovule of *Hemerocallis ×hybrida* in the stage of megasporocyte: А – initial stages of inner integument formation; Б – development of nucellus; бон – basal region of nucellus; ви – inner integument; ини – initial cell of outer integument; лон – lateral region of nucellus; м – megasporocyte; ни – outer integument.

характеризовали как тенуинуцеллятные (Шамров 1990). У *H. middendorffii* Trautv. & С.А. Меу, *H. flava* (L.) L. описаны красинуцеллятные семязачатки (Савченко и Комар 1965; Комар 1982).

Внутренний интегумент опережает в развитии наружный. Его инициали имеют дермальное происхождение. Начало развития внутреннего интегумента происходит на стадии мегаспороцита, когда внутренний интегумент уже четко морфологически выражен. Первоначально он образован двумя слоями клеток, но в дальнейшем разрастается до четырех (Рис. 2). Как и у ряда видов рода *Hemerocallis* (Комар 1982), у рассматриваемых сортов отмечается слияние внутреннего интегумента и нуцеллуса. Клетки наружной эпидермы внутреннего интегумента уже на стадии мегаспороцита отличаются от паренхимных клеток интегумента четкой изодиаметрической формой и более густой цитоплазмой. В сформированном интегументе они представляют собой узкие, радиально направленные клетки с плотной цитоплазмой, с одним или двумя ядрами. В зрелом семязачатке паренхима внутреннего интегумента образована 4-6 слоями клеток, сужаясь в области микропиле.

Микропиле образовано внутренним интегументом. Инициали наружного интегумента расположены в эпидермальном и субэпидермальном слоях (Рис. 2 А). В зрелом семязачатке наружный интегумент представлен 10-12 слоями клеток. В ходе образования изгиба семязачатка наружный интегумент срастается с фуникулусом, в результате чего формируется рафе.

Как и у большинства видов, у *H. ×hybrida* гипостаза формируется на уровне внутреннего интегумента в период его заложения. В сформированном семязачатке она представлена двумя рядами клеток, но морфологически слабо выражена.

Халаза начинает формироваться в период закладки наружного интегумента. В сформированном семязачатке занимает незначительную часть семязачатка и может быть определена как мезохалаза.

Фуникулус у *H. ×hybrida* очень короткий. Как было отмечено выше, он срастается с наружным интегументом с образованием рафе. В ходе развития семязачатка происходит его изгиб на 180°, таким образом, микропиле оказывается обращенным к плаценте, а халаза и микропиле находятся на одной оси, что характеризует семязачаток как анатропный. Микропилярно-халазальная ось зрелого

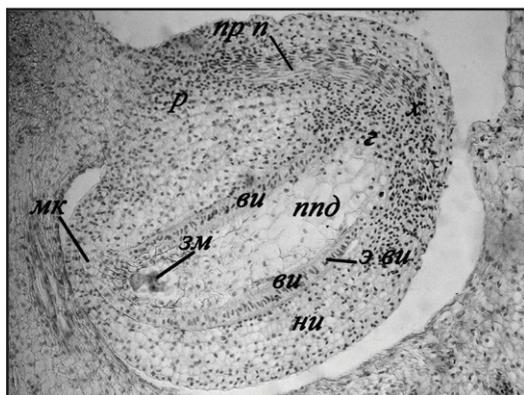


Рис. 3. Зрелый семязачаток *Hemerocallis x hybrida*: ви – внутренний интегумент; г – гипостаза; зм – зародышевый мешок; мк – микропиле; ни – наружный интегумент; ппд – постаментоподиум; пр п – проводящий пучок; р – рафе; х – халаза; э ви – эпидермис внутреннего интегумента.

Fig. 3. Mature ovule of *Hemerocallis x hybrida*: ви – inner integument; г – hypostase; зм – embryo sac; мк – micropyle; ни – outer integument; ппд – postamentopodium; пр п – vascular bundle; р – raphe; х – chalaza; э ви – epidermis of the inner integument.

семязачатка совпадает с радиальной осью завязи. Проводящий пучок, образованный трахеидами со спиральными утолщениями, достигает наружного интегумента (Рис. 3).

Таким образом, семязачаток у *H. x hybrida* является анатропным, медионуцеллятным, битегмальным.

Развитие зародышевого мешка начинается с закладки археспориальной клетки, которая в дальнейшем преобразуется в мегаспороцит (Рис. 1 и 2). В ряде случаев отмечено два мегаспороцита, но лишь один из них переходит к мегаспорогенезу, и образуется только один зародышевый мешок. В результате мейоза формируется линейная тетрада мегаспор. Зародышевый мешок развивается по Polygonum-типу из халазальной мегаспоры, остальные мегаспоры дегенерируют (Рис. 4).

Уже на стадии плотного бутона зародышевый мешок *H. x hybrida* полностью дифференцирован. В нем четко различаются яйцевой и антиподальный аппараты, полярные ядра. На данном этапе еще сохраняется эпидерма нуцеллуса, однако, в дальнейшем она лизируется, при этом к зародышевому мешку

плотно примыкает внутренний интегумент. Яйцеклетка несколько крупнее синергид. У синергид хорошо выражен нитчатый аппарат. Антиподы крупные. Первоначально они имеют по два ядра, которые сливаются до оплодотворения. В этот же период происходит слияние полярных ядер (Рис. 5).

У исследованных сортов установлены аномалии развития семязачатков, выражающиеся в дегенерации спорогенных клеток и зародышевых мешков, а также случаи нарушения дифференциации структур женского гаметофита, что приводит к их стерильности. Аномальные семязачатки преобладали у сорта 'Pandora's Box' и составляли $91,05 \pm 2,85\%$ от их количества в завязи, что свидетельствует о стерильности женской генеративной сферы данного сорта. В то же время в завязях 'Wally Nance' $90,35 \pm 3,16\%$ семязачатков имеют дифференцированный морфологически нормальный зародышевый мешок, а следовательно, высокую потенциальную жизнеспособность женского гаметофита, что свидетельствует о вероятности эффективного использования данного сорта при гибридизации в качестве материнского.

Выводы

Семязачаток *H. x hybrida* анатропный, медионуцеллятный, битегмальный. Цитоэмбриологическими особенностями семязачатка *H. x hybrida* являются: слияние внутреннего интегумента и нуцеллуса; наличие постаментоподиума; конгенитальное срастание наружного интегумента и фуникулуса с образованием рафе; лизис эпидермы нуцеллуса, окружающей зародышевый мешок к моменту его созревания; морфологически слабо выраженная гипостаза; дифференциация клеток наружного эпидермиса внутреннего интегумента; хорошо развитый проводящий пучок, достигающий наружного интегумента. Внутренний интегумент, имеющий дермальное происхождение, опережает в развитии наружный, образующийся из инициалей, расположенных в эпидермальном

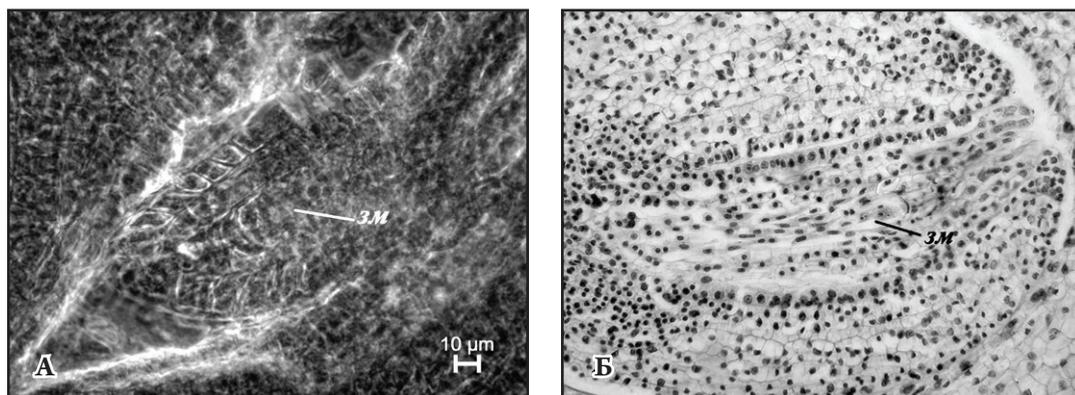


Рис. 4. Стадии развития зародышевого мешка *Hemerocallis x hybrida*: **А** – фрагмент нуцеллуса на стадии двуядерного зародышевого мешка и дегенерация мегаспора; **Б** – семязчаток на стадии 4-ядерного зародышевого мешка.

Fig. 4. Development stages of the embryo sac in *Hemerocallis x hybrida*: **A** – the part of nucellus on the stage of binucleate embryo sac and degeneration of megaspore; **B** – nucellus on the stage of 4-nucleate embryo sac.

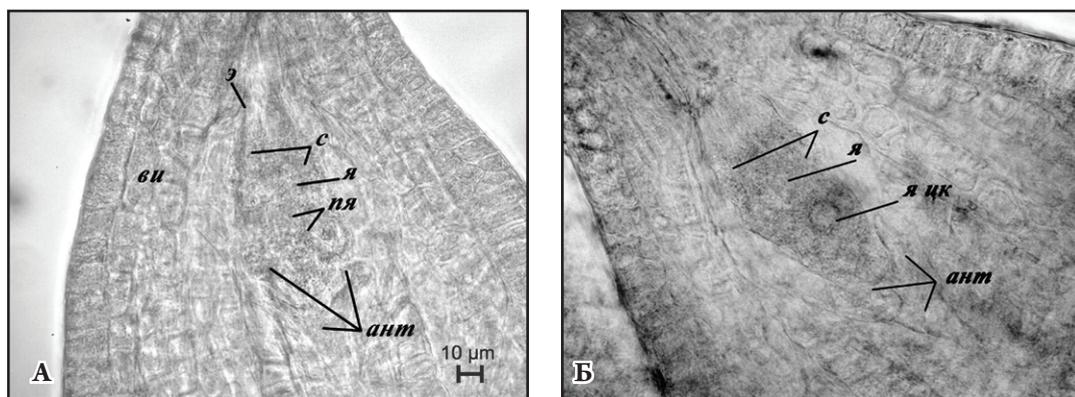


Рис. 5. Зародышевый мешок *Hemerocallis x hybrida*: **А** – на стадии рыхлого бутона; **Б** – на стадии цветка; **ант** – антиподы; **ви** – внутренний интегумент; **пя** – полярные ядра; **с** – синергиды; **э** – эпидермис нуцеллуса; **я** – яйцеклетка; **я цк** – ядро центральной клетки.

Fig. 5. Embryo sac of *Hemerocallis x hybrida*: **A** – stage of the flower bud; **B** – stage of the flower; **ант** – antipodal cells; **ви** – inner integument; **пя** – polar nuclei; **с** – synergids; **э** – epidermis of nucellus; **я** – egg cell; **я цк** – nucleus of the central cell.

и субэпидермальном слоех.

Зародышевый мешок у *H. x hybrida* развивается по Polygonum-типу из халазальной мегаспоры. В зрелом состоянии он представлен семью клетками: яйцеклеткой, двумя синергидами, центральной клеткой и тремя крупными антиподами с диплоидными ядрами.

В случае отмирания спорогенных клеток, нарушения дифференциации клеточных структур зародышевого мешка, а также

его дегенерации семязчатки оказываются стерильными. У сорта 'Pandora's Box' стерильны более 90% семязчатков. У сорта 'Wally Nance' преобладают семязчатки с морфологически нормальными зародышевыми мешками.

Благодарности

Автор выражает благодарность куратору генофондовой коллекции лилейника

гибридного Никитского ботанического сада И.В. Улановской за помощь в подборе сортов и предоставленную возможность работы с коллекцией.

Цитируемые источники

- Жинкина Н.А., Воронова О.Н. 2000.** О методике окраски эмбриологических препаратов. *Ботан. журн.* **86** (6): 168–171.
- Комар Г.А. 1982.** О типе семяпочки некоторых представителей подсемейства *Asphodeloideae* (*Liliaceae*). *Ботан. журн.* **67** (6): 800–805.
- Комар Г.А. 1983.** Морфология семяпочек семейства Лилейных. *Ботан. журн.* **68** (4): 414–427.
- Крестова И.Н. 2010.** Род *Hemerocallis* L. (семейство *Hemerocallidaceae*) в условиях культуры в Приморском крае. Автореф. дис. канд. биол. наук. Владивосток.
- Крохмаль І.І. 2005.** Інтродукція видів і сортів роду *Hemerocallis* L. (*Hemerocallidaceae* R. Br.) у Донбасі та перспективи їх використання у декоративному садівництві. Автореф. канд. биол. наук. Ялта.
- Паушева З.П. 1970.** Практикум по цитологии растений. Колос, Москва.
- Савченко М.И., Комар Г.А. 1965.** Морфология семяпочек некоторых однодольных. В кн.: Яковлев М.С. (ред.), Морфология цветка и репродуктивных процесс у покрытосеменных растений: 74–113. Наука, Москва-Ленинград.
- Улановская И.В. 2011.** Перспективные сорта лилейника гибридного (*Hemerocallis hybrida* Hort.) для использования в озеленении Южного берега Крыма. *Бюл. Никит. ботан. сада* **100**: 102–105.
- Хими́на Н.И. 2002.** Лилейники. МПС, Москва.
- Шамров И.И. 1990.** Семейство *Hemerocallidaceae*. В кн.: Батыгина Т.Б., Яковлев М.С. (ред.), Сравнительная эмбриология цветковых растений. Однодольные. *Butomaceae–Lemnaceae*: 83–87. Наука, Ленинград.
- Шамров И.И. 1999а.** Развитие семязачатка и семени у некоторых представителей порядков *Liliales* и *Amaryllidales*. *Ботан. журн.* **84** (2): 13–33.
- Шамров И.И. 1999б.** Семязачаток как основа воспроизведения цветковых растений: классификация структур. *Ботан. журн.* **84** (10): 1–35.
- Шамров И.И. 2002.** Нуцеллус семязачатка: происхождение, дифференциация, структура и функции. *Ботан. журн.* **87** (10): 1–30.
- Шевченко С.В., Чеботарь А.А. 1992.** Особенности эмбриологии маслины европейской (*Olea europaea*). Чеботарь А.А. (ред.), Цитолого-эмбриологические исследования высших растений: 52–61. Ялта.
- Оре́а Л.И., Константинова А.Н., Дзюбенко Н.И., Казачковская Е.Б. 1988.** Экспресс-методы определения фертильности зародышевых мешков люцерны: Методические указания. 1988. ВИР, Ленинград.
- SHIN-ICHI S. 1985.** A cytochemical study of the embryo sac formation in *Hemerocallis middeudorfi* var. *esculenta* (Koidz.) Ohwi. *Jpn. J. Genet.* **60**: 53–61.
- SHIN-ICHI S. 1986.** Changes in the distribution of iron during embryo sac development of *Hemerocallis middendorfi* var. *esculenta*. *Jpn. J. Genet.* **61**: 83–87.
- TAKAMICHI M. 1980.** On the development of the reticulate structure of *Hemerocallis* pollen (*Liliaceae*). *Grana* **19**: 3–5.
- TERASAKA O., TANAKA R. 1974.** Cytological studies on the nuclear differentiation in microspore division of some angiosperms. *J. Plant Res.* **87** (3): 209–217.
- XIONG Z.-T., CHEN S., HONG D., LUO Y. 1998.** Pollen morphology and its evolutionary significance in *Hemerocallis* (*Liliaceae*). *Nordic J. Bot.* **18** (2): 183–189.

THE GENESIS OF OVULE AND FEMALE GAMETOPHYTE IN *HEMEROCALLIS* × *HYBRIDA* HORT. EX BERGMANS (*HEMEROCALLIDACEAE*)

TATYANA N. KUZMINA

Abstract. The results of the study on formation and morphology of ovules' structures in *Hemerocallis* × *hybrida* Hort. ex Bergmans (*Hemerocallidaceae*) are represented. It has been determined that ovules are anatropous, of medianucellate type. The sequences of initiation and development of inner and outer integuments, as well as morphological features of nucellus and ovule organization (presence of postamento-podium; coalescence of inner integument and nucellus; lysis of nucellar epidermis; well developed vascular bundle attaining the outer integument; hypostasa which is poor morphologically expressed; raphe; differentiated cells of the outer epidermis of inner integument) have been described. The inner integument is of dermal origin, and outer integument is both of dermal and subdermal origin. Embryo sac in *H. xhybrida* develops from a chalazal megaspore according to Polygonum-type. Antipods are binuclear. The two polar nuclei and antipods' nuclei fuse before fertilization. Degeneration of sporogenous cells and embryo sacs, anomalies of their structures differentiation lead to the ovules sterility. Sterile ovules in the cultivar 'Pandora's Box' are about 90%. The ovules with morphologically normal embryo sac prevail in the cultivar 'Wally Nance'.

Key words: *Hemerocallis* × *hybrida*, *Hemerocallidaceae*, ovule, nucellus, embryo sac