

**РАЗВИТИЕ И БИОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА  
МУЖСКОГО ГАМЕТОФИТА НЕКОТОРЫХ СОРТОВ NEMEROCALLIS  
HYBRIDA HORT. (NEMEROCALLIDACEAE R. BR.)**

*Представлены результаты изучения генезиса стенки микроспорангия и мужского гаметофита *Nemerocallis hybrida*. Дана цитоморфологическая оценка пыльцы сортов *N. hybrida* Pandora's Vox, Wally Nance, Cherry Eyed Pumpkin, Anna Warner с различной плоидностью.*

**Ключевые слова:** *Nemerocallis hybrida* Hort., сорта, мужской гаметофит.

Благодаря высокой декоративности и неприхотливости к условиям произрастания лилейник гибридный (*Nemerocallis hybrida* Hort.) является одной из наиболее широко распространенных культур, используемой в декоративном садоводстве и селекционной практике. Проведение целенаправленной и планомерной селекции невозможно без знаний особенностей репродуктивной биологии культуры, то есть без данных о закономерностях генезиса и качестве гаметофитов, характеристики процессов опыления, оплодотворения и эмбриогенеза. Морфологические особенности пыльцевых зерен некоторых видов лилейников освещены в работах М. Takamichi [10], Zhi-Ting Xiong с соавт. [12]. О. Terasaka, R. Tanaka [10] изучали дифференцирующий митоз микроспор видов ряда родов, в том числе *Nemerocallis*. Палинологические признаки и жизнеспособность пыльцы некоторых видов и сортов *N. hybrida* исследовали И.И. Крохмаль [3] и И.Н. Крестова [2]. Изучение биоморфологических особенностей видов и сортов *Nemerocallis* позволило И.И. Крохмаль выделить 34 сорта, пыльца которых обладает высокой жиз-

неспособностью в условиях Донбасса и может быть использована при гибридизации. И.И. Крестова исследовала жизнеспособность пыльцы четырех видов лилейника (*N. middendorffii*, *N. minor*, *N. esculenta*, *N. lilio-aspheodelus*), а также оптимальные условия сбора и хранения их пыльцы. Сведения об эмбриологии представителей рода *Nemerocallis* фрагментарны [8]. В работах, посвященных культуре лилейников, освещены отдельные аспекты репродуктивной биологии данной культуры, остаются вопросы, требующие комплексного исследования, в частности генезис генеративных структур и оценка качества гаметофитов.

Цель исследования — описание микроспорогенеза и микрогаметогенеза, а также сравнительный анализ цитоморфологических характеристик пыльцевых зерен диплоидных и тетраплоидных сортов *N. hybrida*.

**Материал и методы**

В работе использованы диплоидные сорта Pandora's Vox, Wally Nance. При проведении сравнительного цитоморфологического анализа пыльцевых зерен и определения их жизнеспособности также использовали тетраплоидные сорта Cherry Eyed Pumpkin,

Anna Warner. Постоянные цитозмбриологические препараты готовили по общепринятой методике [5]. Материал фиксировали в смеси Карнуа (6:3:1). Парафиновые срезы толщиной 10–12 мкм изготавливали на ротационном микротоме МРТУ. Препараты окрашивали гематоксилином с подкрашиванием антоциановым синим [1]. Для каждого сорта проанализировано по 10 препаратов образцов пыльцы с 5 растений, окрашенных метилгрюнпиронином согласно методике, предложенной С.В. Шевченко с соавт. [9]. Морфологическое описание пыльцевых зерен проведено согласно общепринятой методике [7].

Для исследования препаратов использовали микроскопы Jenaval (Zeiss) и AxioScore A.1 (Zeiss). Морфометрические измерения проводили в 100 полях зрения, используя программное приложение AxioVision Rel. 4.8.2. Микрофотографии получены с помощью системы анализа изображения AxioCam ERc5s.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием модуля «Основные статистики и таблицы» пакета прикладных программ Statistica 6.0. Достоверность различий между вариантами оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента на 5%-м уровне значимости, обеспечивающем 95%-ю доверительную вероятность.

### Результаты и обсуждение

Андроцей *H. hybrida* представлен шестью тычинками, которые закладываются в виде бугорков недифференцированной ткани и визуальны различимы в бутонах размером 1–2 мм. Пыльники 4-гнездные. Установлено, что дифференциация клеточных слоев стенки пыльника у *H. hybrida* сопровождается периклинальными делениями клеток первичного париетального слоя, в результате образуются эндотеций и вторичный париетальный слой. В некоторых случаях клетки эндотеция делятся повторно, образуя двухслойный эндотеций. Деление клеток вторичного париетального слоя дает на-

чало среднему слою и тапетуму (рис. 1, А). Подобная последовательность закладки клеточных слоев характерна для центростремительного типа формирования стенки микроспорангия, типичного для большинства однодольных [6]. Таким образом, сформированная стенка микроспорангия представлена 4–5 слоями клеток: эпидермисом, 1–2 слоями эндотеция, средним слоем и тапетумом секреторного типа. С наружной стороны гнезда пыльника тапетум образован одним слоем одно- или двухъядерных клеток (см. рис. 1, Б), со стороны связника он, как правило, имеет два слоя клеток.

В ходе дифференциации стенки микроспорангия клетки тапетума претерпевают морфологические изменения. Так, на стадии микроспорогенеза его клетки приобретают радиальную направленность, при этом цитоплазма, содержащая ядро, смещается вакуолью к дистальному краю клетки. Начиная со стадии распада тетрад микроспор, клетки тапетума уплощаются. Образуется тапетальная пленка с орбикулами, которая сохраняется в зрелом пыльнике (см. рис. 1, Е). Начало дегенерации среднего слоя сопряжено с началом мейоза микроспороцитов (см. рис. 1, В). В этот же период происходит образование фиброзных утолщений в эндотеции и кутикулы на поверхности эпидермиса. Стенка зрелого пыльника представлена клетками эпидермиса, покрытыми кутикулой, и изодиаметрическими клетками эндотеция с фиброзными утолщениями. Содержатся орбикулы (см. рис. 1, Е).

Микроспороциты имеют многогранную форму с крупными ядрами, содержащими в большинстве случаев несколько ядрышек. Микроспорогенез происходит преимущественно по промежуточному типу, при этом после мейоза I между дочерними клетками закладывается борозда, однако деления клеток не происходит. Разделение микроспор имеет место после эквационного деления (мейоз II) (см. рис. 1, В). Микроспоры в тетрадах расположены изобилатерально. В результате дифференцирующего митоза

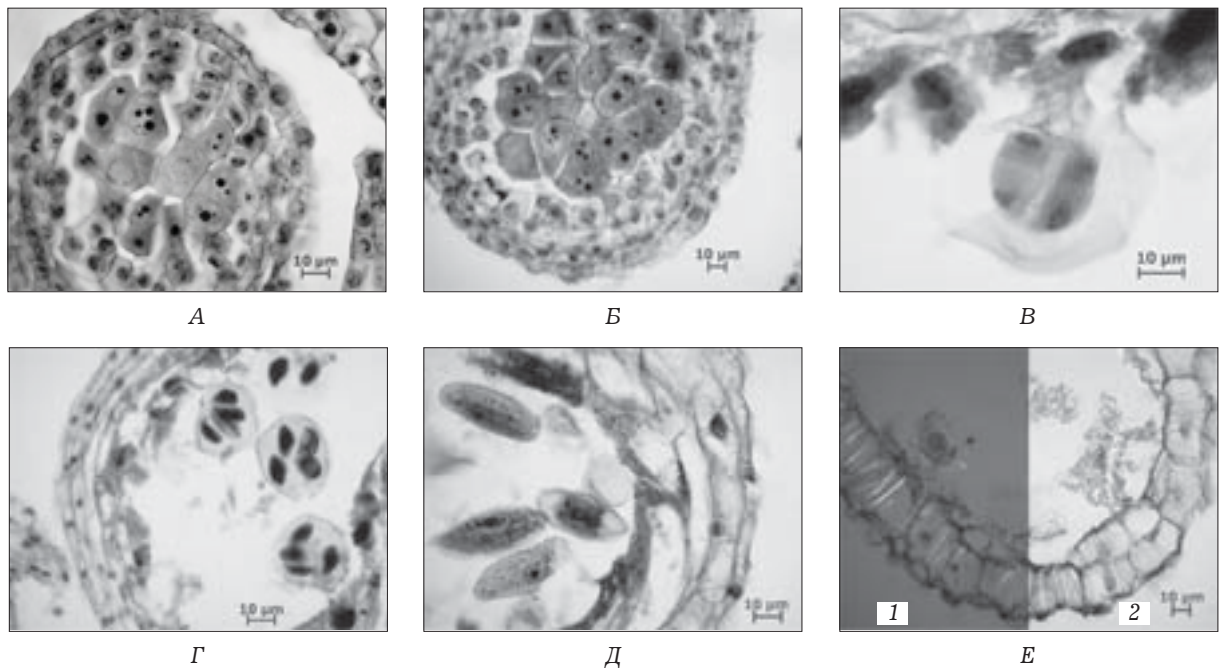


Рис. 1. Формирование стенки микроспорангия и мужского гаметофита у *N. hybrida*: А — микроспорангий в период деления вторичного париеального слоя; Б — фрагмент микроспорангия со сформированной стенкой и микроспороцитами; В — фрагмент микроспорангия на стадии микроспорогенеза; Г — фрагмент пыльника на стадии тетрады микроспор; Д — поздние микроспоры и фрагмент стенки микроспорангия; Е — стенка зрелого пыльника в поляризованном (1) и обычном свете (2)

образуются вегетативная и генеративная клетки. Согласно данным О. Terasaka, Р. Такака [10], у представителей рода *Nemeroscallis* дифференциация ядерного хроматина отмечена на стадии анафазы.

Зрелые пыльцевые зерна *N. hybrida* двухклеточные, одноборозные, сплюсненно-сфероидальной формы, в очертании — эллипсоидальные. Сэкзина имеет сетчатую структуру (рис. 2).

Пыльцевые зерна гетерополярны, их полярная ось короче экваториального диаметра. Последний у тетраплоидных сортов *Cherry Eyed Pumpkin*, *Anna Warner* составляет в среднем 96 мкм, а длина полярной оси — 60 мкм, у диплоидных сортов *Pandora's Vox*, *Wally Nance* — 80 и 50 мкм соответственно (табл. 1). Выявлено достоверное отличие морфометрических параметров пыльцевых зерен диплоидных и

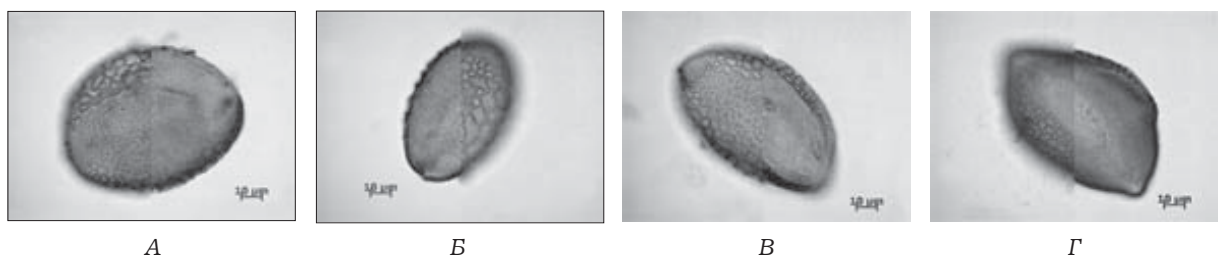


Рис. 2. Морфологически нормальные пыльцевые зерна сортов *N. hybrida*: А — *Pandora's Vox*; Б — *Wally Nance*; В — *Cherry Eyed Pumpkin*; Г — *Anna Warner*

Таблица 1. Морфометрические параметры пыльцевых зерен некоторых сортов *Nemerocallis hybrida*

Сорт	Плоидность	Экваториальный диаметр, мкм			Длина полярной оси, мкм		
		M±m	min-max	σ	M±m	min-max	σ
Pandora's Box	2n	82,26±1,82	63,86 – 15,26	12,99	51,12±1,81	34,25 – 85,92	12,91
Wally Nance	2n	79,46±0,92	51,01 – 121,8	11,96	52,72±0,65	34,95 – 86,02	8,43
Cherry Eyed Pumpkin	4n	96,16±0,82	67,43 – 25,19	9,29	65,59±0,71	44,90 – 97,28	7,95
Anna Warner	4n	97,97±0,91	70,81 – 31,54	10,81	62,48±0,69	46,14 – 102,41	8,17

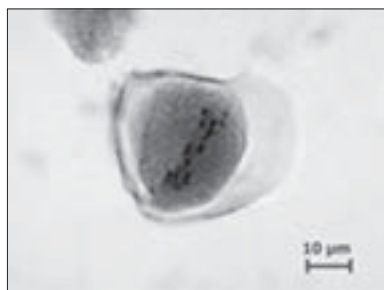
Примечание: M – среднее арифметическое; m – стандартная ошибка среднего; min – max – минимальное и максимальное значения выборки; σ – среднее квадратическое отклонение.

тетраплоидных сортов (для экваториального диаметра  $t = 16,77$ ; для длины полярной оси  $t = 13,37$ ;  $p < 0,05$ ). Соотношение морфометрических параметров пыльцевых зерен *N. hybrida* диплоидных и тетраплоидных сортов составляет 1,0:1,2, что может служить ориентиром относительно плоидности сорта лилейника.

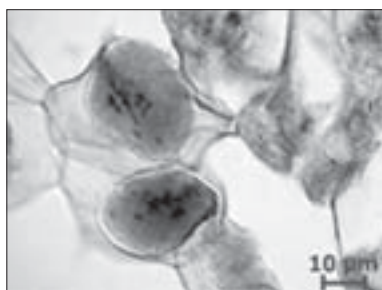
Цитоморфологический анализ пыльцевых зерен сортов *N. hybrida* показал, что в целом у изучаемых сортов, за исключением Pandora's Box, преобладают морфологически нормальные пыльцевые зерна (почти 60%). У сорта Pandora's Box доля морфологически нормальных пыльцевых зерен составляет 19,11% (табл. 2). Учитывая, что у данного сорта отмечено образование пентад и гексад, а также

Таблица 2. Цитоморфологический анализ пыльцевых зерен сортов *Nemerocallis hybrida*

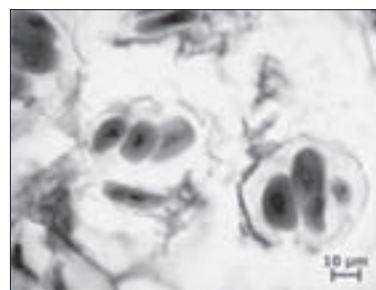
Сорт	Плоидность	Доля морфологически нормальных, %	Доля аномальных, %			Доля стерильных, %
			изменения апертуры	спаренные	все	
Pandora's Box	2n	19,11	7,01	2,22	9,23	71,66
Wally Nance	2n	61,66	3,07	3,37	6,44	31,90
Cherry Eyed Pumpkin	4n	61,92	0,39	–	0,39	37,69
Anna Warner	4n	65,29	12,10	0,64	12,74	21,97



А



Б



В

Рис. 3. Аномалии микроспорогенеза у сорта *N. hybrida* Pandora's Box: А — неравномерное расхождение хромосом при редукционном делении; Б — выброс хромосом за пределы веретена деления; В — пентада и тетрада микроспор разного размера

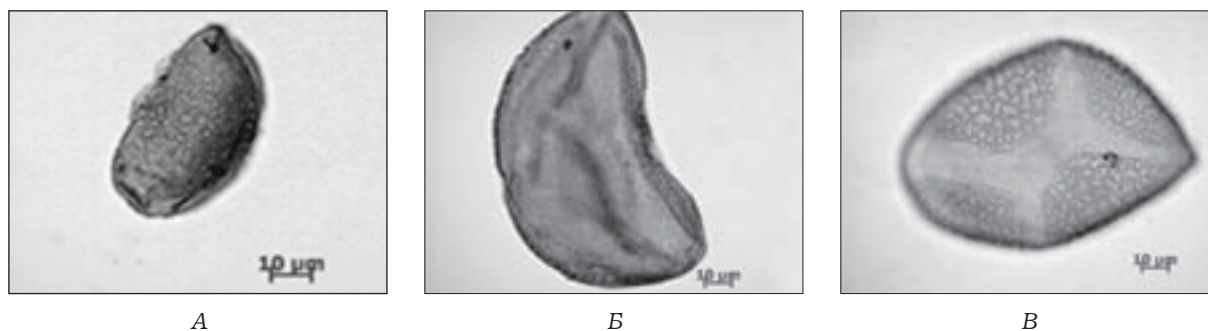


Рис. 4. Стерильное (А) и аномальные (Б — спаренное, В — с изменением апертуры) пыльцевые зерна сортов *H. hybrida*: А — Pandora's Box; Б — Wally Nance; В — Anna Warner

тетрад, в которых размер микроспор варьирует, с явной дегенерацией некоторых из них (рис. 3), что свидетельствует о нарушениях, связанных с прохождением мейоза, низкую фертильность 'Pandora's Box' можно рассматривать как следствие хромосомной нестабильности данного сорта.

Среди аномалий, встречающихся в массе зрелой пыльцы *H. hybrida*, отмечено также наличие спаренных пыльцевых зерен, образование которых происходит в результате нарушения цитокинеза мейоза II. Более высокая доля спаренных пыльцевых зерен отмечена у диплоидного сорта Wally Nance.

У сортов *H. hybrida* выявлены также пыльцевые зерна с изменением количества и формы апертуры, в частности, с несколькими лучами апертуры вместо одной борозды (рис. 4).

Пыльцевые зерна тетраплоидного сорта Cherry Eyed Pumpkin практически не имеют аномалий строения. Для данного сорта отмечены лишь единичные пыльцевые зерна с нарушениями апертуры. Наибольшее количество морфологически нормальных пыльцевых зерен выявлено у сорта Anna Warner, в то же время у данного сорта среди аномалий пыльцевых зерен преобладают нарушения апертуры.

Формирование аномальных микроспор в результате нарушений в ходе мейоза связано с образованием унивалентов, отстава-

нием или выбросом хромосом за пределы веретена деления с последующим образованием микроядер или добавочных микроклеток, что приводит к образованию полиад. Подобные нарушения являются типичными для гибридов и приводят к стерильности гаметофита [4, 6]. У тетраплоидов, как и у отдаленных гибридов, нередко случаи образования уни-, би-, три- и тетравалентов, что приводит к нарушениям в мейозе. В результате двух делений мейоза, как правило, отмечается тенденция к стабилизации набора хромосом [4], что может служить объяснением отмеченного нами незначительного количества аномальных пыльцевых зерен у тетраплоидных сортов Anna Warner и Cherry Eyed Pumpkin по сравнению с диплоидными.

Таким образом, можно предположить, что для тетраплоидных сортов *H. hybrida* Anna Warner и Cherry Eyed Pumpkin характерна большая стабильность хромосомного набора, чем для диплоидных. Однако этот вопрос требует детального исследования.

#### Выводы

Установлено, что стенка микроспорангия у *H. hybrida* развивается центростремительно (тип однодольных) и образована четырьмя слоями клеток. Тапетум секреторного типа. В зрелом пыльнике стенка образована 2–3 слоями клеток. Микроспорогенез происходит по промежуточному типу. Зрелые пыльцевые зерна двухклеточные.

Соотношение морфометрических параметров пыльцевых зерен *H. hybrida* диплоидных и тетраплоидных сортов составляет 1,0: 1,2, что может служить косвенным признаком, позволяющим сделать предварительные выводы о плоидности сортов лилейника.

С учетом полученных данных сорта Wally Nance, Anna Warner, Cherry Eyed Pumpkin целесообразно использовать в качестве отцовских форм при гибридизации в условиях Южного берега Крыма.

Авторы благодарят куратора коллекции генофонда лилейника гибридного Никитского ботанического сада — ННЦ И.В. Улановскую за подбор сортов.

1. Жинкина Н.А., Воронова О.Н. О методике окраски эмбриологических препаратов // Ботан. журн. — 2000. — 86, № 6. — С. 168–171.

2. Крестова И.Н. Род *Немерокаллис* L. (семейство *Немерокаллидацевые*) в условиях культуры в Приморском крае: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Владивосток, 2010. — 20 с.

3. Крохмаль И.И. Интродукция видов и сортов рода *Немерокаллис* L. (*Немерокаллидацевые* R. Br.) в Донбасс и перспективы их использования в декоративном садоводстве: Дис. ... канд. биол. наук. — Ялта, 2005. — 299 с.

4. Паламарчук И.А. Цитология растений. — М.: Изд-во МГУ, 1969. — 156 с.

5. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. — М.: Колос, 1970. — 255 с.

6. Поддубная-Арнольди В.А. Цитоэмбриология покрытосеменных растений. Основы и перспективы. — М.: Наука, 1976. — 508 с.

7. Федоров Ал.А., Артюшенко З.Т. Атлас по описательной морфологии высших растений. Цветок. — Л.: Наука, 1975. — 352 с.

8. Шамров И.И. Семейство *Немерокаллидацевые* // Сравнительная эмбриология цветковых растений: Однодольные. *Butomaceae* – *Lemnaceae* / Отв. ред. Т.Б. Батыгина, М.С. Яковлев. — Л.: Наука, 1990. — С. 83–87.

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. Takamichi M. On the development of the reticulate structure of *Hemerocallis* pollen (*Liliaceae*) // Grana. — 1980. — 19. — P. 3–5.

11. Terasaka O., Tanaka R. Cytological studies on the nuclear differentiation in microspore division of some angiosperms // J. Plant Research. — 1974. — 87, N 3. — P. 209–217.

12. Zhi-Ting Xiong, Singchi Chen, Deyuan Hong, Yibo Luo. Pollen morphology and its evolutionary significance in *Hemerocallis* (*Liliaceae*) // Nordic J. Botany. — 1998. — 18, 2. — P. 183–189.

Рекомендовала к печати Т.А. Щербакова

Т.М. Кузьміна, С.В. Шевченко

Нікітський ботанічний сад —  
Національний науковий центр НААН,  
Україна, АР Крим, м. Ялта, смт Нікіта

РОЗВИТОК І БІОМОРФОЛОГІЧНА  
ХАРАКТЕРИСТИКА ЧОЛОВІЧОГО  
ГАМЕТОФІТА ДЕЯКИХ СОРТІВ  
HEMEROCALLIS HYBRIDA HORT.  
(HEMEROCALLIDACEAE R. BR.)

Представлено результати вивчення генезису стінки мікроспорангія і чоловічого гаметофита *Hemerocallis hybrida*. Дано цитоморфологічну оцінку пилку сортів *H. hybrida* Pandora's Box, Wally Nance, Cherry Eyed Pumpkin, Anna Warner з різною плоїдністю.

Ключові слова: *Hemerocallis hybrida* Hort., сорти, чоловічий гаметофіт.

T.N. Kuzmina, S.V. Shevchenko

Nikitsky Botanical Gardens – National Scientific  
Center, National Academy of Agrarian Sciences of  
Ukraine, Crimea, Yalta, Nikita

DEVELOPMENT AND BIOLOGICAL  
AND MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS  
OF MALE GAMETOPHYTE IN SOME VARIETIES  
OF HEMEROCALLIS HYBRIDA HORT.  
(HEMEROCALLIDACEAE R. BR.)

The results of the study of microsporangium wall and male gametophyte's genesis in *Hemerocallis hybrida* have been presented. Pollen cytological characteristics for some varieties of *H. hybrida* with various ploidy such as Pandora's Box, Wally Nance, Cherry Eyed Pumpkin, Anna Warner have been given.

Key words: *Hemerocallis hybrida* Hort., varieties, male gametophyte.