

УДК 582.949.2+581.4

ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МУЖСКОГО ГАМЕТОФИТА В ПОДСЕМЕЙСТВЕ *LAMIOIDEAE* L.

Лысякова Н.Ю., Симагина Н.О.

Исследованы цитозмбриологические особенности семейства *Lamiaceae* L. Установлена структура мужского гаметофита и определены морфометрические показатели пыльцевых зерен 20 видов из 7 родов подсемейства *Lamioideae* L. Выявлена видовая специфичность формы пыльцевых зерен у видов рода *Salvia* L. Определены сроки сохранения жизнеспособности пыльцевых зерен, а также зависимость между количеством прорастающих пыльцевых зерен и количеством завязывающихся семян.

Ключевые слова: мужской гаметофит, фертильность, жизнеспособность пыльцы

ВВЕДЕНИЕ

Палиноморфологические признаки растений играют большую роль при изучении таксонов разных категорий и общности их происхождения, представляя большой теоретический и практический интерес. Морфологическая характеристика пыльцевых зерен растений позволяет установить степень родства между отдельными систематическими группами, одновременно дополняя их общую биологическую характеристику. Основное внимание при изучении морфологических признаков пыльцевых зерен обращается на форму пыльцевого зерна, тип апертуры, характер орнаментации экзины. Считается, что морфологические признаки достаточно константны в пределах одного вида, хотя и могут отличаться у различных форм одного и того же вида [1,2].

Среди большого разнообразия покрытосеменных растений особое внимание уделяется семейству губоцветные. Широкое практическое использование губоцветных в качестве технических, лекарственных и ароматических растений определяется наличием большого количества эфирных масел. Из девяти подсемейств выделяемых в семействе *Lamiaceae* L., наиболее интересным для изучения является подсемейство *Lamioideae* L. В пределах данного подсемейства наиболее перспективными представителями являются виды родов *Mentha* L. и *Salvia* L. В связи с этим актуальность нашей работы определяется с одной стороны теоретическими аспектами выяснения особенностей строения мужского гаметофита, выявления филогенетических и систематических связей, а с другой стороны практическими проблемами прикладной селекции в частности определения сроков жизнеспособности пыльцы и выявления причин низкой завязываемости семян у исследуемых объектов [3 – 6]. Цель наших исследований состояла в установлении особенностей строения мужской генеративной сферы и мужского гаметофита некоторых представителей подсемейства *Lamioideae* L.

ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МУЖСКОГО ГАМЕТОФИТА

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы исследований: представители семи родов подсемейства *Lamioideae* L.: *Lamium* L., *Melissa* L., *Mentha* L., *Origanum* L., *Salvia* L., *Stachys* L., *Thymus* L. Для морфометрического анализа пыльцевых зерен были отобраны 20 дикорастущих видов этих родов, а также полиплоидные формы *Mentha aquatica* L. К6 (4n), *Mentha longifolia* (L.) Huds.; образцы "М" и "Х" с восстановленной фертильностью, полученные из форм *Mentha longifolia* (L.) Huds. №13 и № 36 соответственно в Институте эфиромасличных и лекарственных растений. Для качественного анализа пыльцы были выбраны два вида *Mentha aquatica* L. и *Salvia sclarea* L., а также гибридный, гетерозисный сорт шалфея мускатного «Рубин».

Анализ морфометрических показателей и фертильности пыльцы проводили с помощью ацетокарминового метода [8]. Для определения сроков сохранения жизнеспособности пыльцевых зерен использовали метод проращивания в водном растворе сахарозы разных концентраций (5, 10, 15 и 20%) и дистиллированной воде-контроль [9]. Объем выборки при проведении посева составлял не менее 80 – 100 пыльцевых зерен каждого вида. Количество завязавшихся семян определяли по опылению цветков исследуемого вида на 2 – 3 день после их раскрытия.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате анализа пыльцы исследуемых видов было установлено, что у большинства видов подсемейства *Lamioideae* L. пыльцевые зерна имеют округлую или эллиптическую форму. Редко отмечены пыльцевые зерна неправильной или угловатой формы. Соотношение размеров пыльцевых зерен различных представителей подсемейства, колеблется в пределах от 3 до 8,5 мкм. Наиболее мелкие пыльцевые зерна у представителей родов *Thymus* L., *Lamium* L. и *Mentha* L., их диаметр не превышает 5 мкм. Среди видов с крупной пыльцой следует отметить представителей рода *Melissa* L. Диаметр пыльцевых зерен составляет $8,5 \pm 0,3$ мкм. (Табл. 1).

Таблица 1.

Размеры пыльцевых зерен некоторых родов подсемейства *Lamioideae* L. ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)








Вид	Диаметр, мкм
<i>Lamium</i> L.	$4,7 \pm 0,3$
<i>Melissa</i> L.	$8,5 \pm 0,3$
<i>Mentha</i> L.	$3,3 \pm 0,3$
<i>Origanum</i> L.	$4,2 \pm 0,5$
<i>Salvia</i> L.	$5,7 \pm 0,4$
<i>Stachys</i> L.	$5,2 \pm 0,4$
<i>Thymus</i> L.	$3,8 \pm 0,4$

В пределах подсемейства *Lamioideae* L., выявлены двуклеточный и трехклеточный типы мужского гаметофита. Двуклеточное пыльцевое зерно

включает сифоногенную и спермиогенную клетки. В состав трехклеточного пыльцевого зерна входят сифоногенная клетка и два спермия. Более совершенными в эволюционном отношении считаются трехклеточные пыльцевые зерна, которые отмечены у родов *Melissa* L., *Mentha* L., *Origanum* L., *Salvia* L. и *Thymus* L. В сочетании с другими анатомо-морфологическими и цитозембриологическими характеристиками этот показатель может служить основой для филогенетических построений, как в пределах данного подсемейства, так и в семействе в целом.

Для родов *Salvia* L. и *Mentha* L. нами было проведено более детальное морфологическое исследование мужского гаметофита с учетом размеров и формы пыльцевых зерен, а также характера орнаментации экзины. Род *Salvia* L. палиноморфологически диморфен (Табл 2.).

Таблица 2.
Форма и размеры пыльцевых зерен некоторых видов рода *Salvia* L.

Вид	Форма пыльцевого зерна	Диаметр мкм
<i>Salvia grandiflora</i> Eht.		6,5 ± 0,3
<i>Salvia horminum</i> L.		6,2 ± 0,5
<i>Salvia austriaca</i> Jacq.		7,0 ± 0,3
<i>Salvia verticillata</i> L.		5,7 ± 0,4
<i>Salvia nemorosa</i> L.		8,2 ± 0,1
<i>Salvia sclarea</i> L.		7,6 ± 0,2
<i>Salvia aethiopsis</i> L.		7,1 ± 0,5

ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МУЖСКОГО ГАМЕТОФИТА

В пределах этого рода встречаются пыльцевые зерна двух типов: округлые и эллиптические. Их размеры, у изученных нами видов шалфея, варьируют в пределах от 5 до 8,5 мкм. Среди видов с округлой формой зерен наиболее мелкими являются пыльцевые зерна *Salvia verticilata* L., а наиболее крупными у *Salvia nemorosa* L. Виды с эллипсоидальной пылью не обнаруживают большой разницы в размерах. Их размеры варьируют от 6,5 до 7,5 мкм по диаметру и от 5,0 до 5,5 мкм по длине. Исследованные виды характеризуются одно- и трехбороздным типом апертур. Борозды у пыльцевых зерен эллипсоидальной формы – узкие, щелевидные, по длине 0,5 мкм от длины самого зерна.

У некоторых видов были обнаружены аномальные, дефектные пыльцевые зерна. У *Salvia austriaca* Jacq. наряду с пыльцевыми зернами с диаметром от 7,0 до 7,5 мкм встречались пыльцевые зерна размером 3,0 – 3,5 мкм. У *Salvia grandiflora* Elt. средний размер пыльцевого зерна составляет 6,5 мкм, однако в ходе наших исследований были обнаружены пыльцевые зерна 3 – 3,5 мкм в диаметре. Аномальность проявляется в недостаточной структурированности апертур и отсутствии борозд.

Род *Mentha* L. палиноморфологически однороден. Среди представителей этого рода встречаются пыльцевые зерна лишь округлой формы. Диаметр их составляет 3,0 – 3,5 мкм. Были исследованы четыре вида мяты: *Mentha aquatica* L., *Mentha longifolia* (L.)Huds., *Mentha spicata* L., *Mentha piperita* L. Полученные данные позволяют утверждать, что пыльца этих видов не имеет существенной разницы по форме и размерам.

Наряду с дикорастущими видами мяты, были изучены полиплоидные формы двух видов *Mentha aquatica* L. и *Mentha longifolia* (L.) Huds. Установлено, что размеры пыльцевых зерен дикорастущих видов и их полиплоидных форм не обнаруживают значительное расхождение по диаметру (Табл.3).

Таблица 3.

Размеры пыльцевых зерен полиплоидных форм рода *Mentha* L.

Вид	Диаметр пыльцевых зерен, мкм
<i>Mentha aquatica</i> L. К6 (4n)	2,9 ± 0,2
<i>Mentha longifolia</i> (L.)Huds. № 13*	–
М 13	3,1 ± 0,03
М15	3,0 ± 0,2
М 16	3,2 ± 0,2
<i>Mentha longifolia</i> (L.)Huds. № 36*	–
Х 13	3,3 ± 0,2
Х 15	3,4 ± 0,3

* диаметр пыльцевых зерен *Mentha longifolia* (L.) Huds. образцов № 13 и №36 не измерялся, так как они изначально были стерильны и не представляли практического интереса.

Исследованные виды мяты характеризуются одно-, двух - и трехбороздной структурой экзины. Аномалии, связанные с отсутствием борозд, встречаются крайне редко.

Наряду с морфологическим анализом определялась жизнеспособность пыльцы *Salvia sclarea* L. и *Mentha aquatica* L. Оптимальные концентрации раствора сахарозы для этих видов составляют 10% и 15%, соответственно. У шалфея мускатного пыльца сохраняет жизнеспособность в течение 10 суток, наиболее активно пыльцевые зерна прорастают на четвертые сутки. На одиннадцатые сутки число проросших пыльцевых трубок резко снижается до 5%, большинство из которых аномальные. Процент фертильной пыльцы составляет 75 – 80%. На долю стерильных пыльцевых зерен приходится 20 – 25%.

В результате изучения жизнеспособности пыльцевых зерен *Mentha aquatica* L. было установлено, что пыльца сохраняет свою способность прорасти, при обычных условиях хранения на протяжении двенадцати суток. По литературным источникам этот срок составляет пятнадцать суток [3]. Наиболее активно процесс прорастания пыльцевых трубок протекает на восьмые сутки эксперимента, но достаточно высокий процент проросших пыльцевых зерен (выше 50%), наблюдается уже на шестые сутки. На двенадцатые сутки количество проросших пыльцевых трубок составляет 27,5%, а через день этот показатель практически равен нулю. Процент фертильной пыльцы, в пределах вида, составляет 85%; на долю аномальных пыльцевых зерен приходится 15%.

Аномалии проявляются в нарушении структурированности экзины, маленьких размеров пыльцевых зерен, а также в нетипичном двухклеточном строении мужского гаметофита. В отличие от дикорастущих особей *Mentha aquatica* L., жизнеспособность пыльцевых зерен полиплоидной формы *Mentha aquatica* L. К6 (4n) несколько выше. По литературным данным [3], при обычных условиях хранения пыльца образца *Mentha aquatica* L. К6 (4n) сохраняет способность прорасти до 18 суток. Количество полноценных фертильных пыльцевых зерен для полиплоидной формы составляет 90%. Стерильные пыльцевые зерна составляют 10-15%. Они характеризуются мелкими размерами и частичным или полным отсутствием борозд на поверхности экзины.

Таким образом, сроки сохранения жизнеспособности пыльцы у исследованных нами видов, отличаются незначительно. Можно четко выделить три основных периода при прорастании пыльцевых трубок, длительность которых у исследуемых видов индивидуальна: период увеличения активности прорастания пыльцевых зерен; период наиболее активного прорастания; период снижения активности прорастания.

Для *Salvia sclarea* L. характерен резкий скачок активности прорастания пыльцевых зерен (от 23% на первые сутки до 70% на четвертые), а затем плавное снижение активности до 5% в течение одной недели. Для мяты характерно более длительное и плавное увеличение активности прорастания в течение первого периода (от 20% до 80% в течение восьми дней), а затем более резкий спад активности (рис. 1).

ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МУЖСКОГО ГАМЕТОФИТА

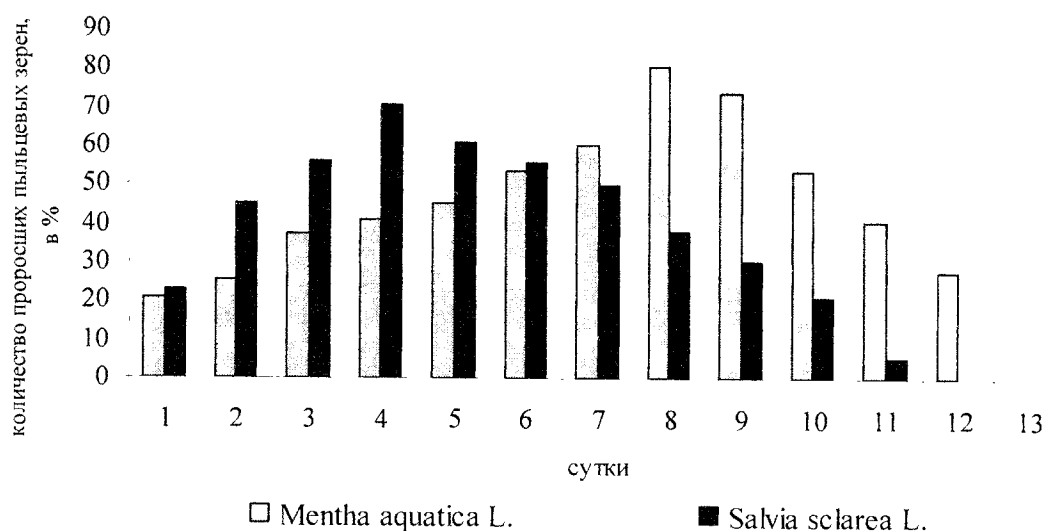


Рис. 1. Сравнительная характеристика жизнеспособности пыльцевых зерен *Mentha aquatica* L. и *Salvia sclarea* L.

Одной из наиболее актуальных проблем при введении *Salvia sclarea* L. и *Mentha aquatica* L. в культуру является низкая семенная продуктивность, которая при свободном опылении составляет от 8 до 20% у *Salvia sclarea* L. и 35 – 40% у *Mentha aquatica* L.. Согласно данным литературы [5] на завязываемость семян может влиять ряд факторов: условия внешней среды, положение цветка на растении, аномалии в развитии мужского гаметофита. Одним из методических приемов позволяющих установить причины низкой завязываемости семян является цитоморфологическое исследование пыльцевых зерен растений вводимых в культуру. Для определения причин низкой продуктивности семян были сопоставлены способность к завязыванию семян, как при свободном, так и при искусственном доопылении фертильной пыльцой. По результатам, полученным при совместной работе с сотрудниками ИЭЛР, было установлено, что искусственное доопыление фертильной пыльцой материнской линии, значительно увеличивает процент завязавшихся семян.

В ходе эксперимента по опылению цветков наиболее перспективного по хозяйственно-ценным признакам сорта *Salvia sclarea* L. «Рубин» пыльцой хранившейся от 1 до 11 суток установили, что наибольшее количество семян (65 – 70%) формируется при опылении пыльцой на 4 – 5 сутки хранения.

При свободном опылении цветков *Mentha aquatica* L. завязываемость семян составляет 35-40%. В результате искусственного доопыления цветков *Mentha aquatica* L. фертильной пыльцой процент завязавшихся семян увеличивается в 1,5 – 2 раза, а наибольшее количество семян (79%) образуется при опылении пыльцой на 8 сутки хранения (Табл.4).

Таблица 4.

Завязываемость семян *Salvia sclarea* L. и *Mentha aquatica* L. в зависимости от сроков хранения пыльцы.

Срок хранения, сутки	<i>Salvia sclarea</i> L. Сорт «Рубин»		<i>Mentha aquatica</i> L.	
	Количество проросших пыльцевых зерен, %	Количество завязавшихся семян, %	Количество проросших пыльцевых зерен, %	Количество завязавшихся семян, %
1	23,0	15,0	20,5	17,0
2	45,5	35,4	25,5	18,0
3	56,0	49,5	37,5	25,6
4	70,5	65,0	40,7	34,5
5	60,5	70,5	45,0	42,4
6	55,6	45,0	55,5	49,0
7	49,5	37,5	60,0	57,3
8	38,0	20,5	80,3	79,5
9	30,0	14,0	73,5	68,0
10	20,5	0	53,5	53,2
11	5,0	0	40,6	44,7
12	0	0	27,5	19,7
13	0	0	0	0

Это объясняется тем, что при свободном опылении значительная часть семязачатков остается неоплодотворенной, хотя даже искусственное доопыление фертильной пыльцой не дает 100% завязываемости семян.

ВЫВОДЫ

1. Для большинства родов подсемейства *Lamioideae* L. (*Melissa* L., *Mentha* L., *Origanum* L., *Salvia* L., *Thymus* L.) характерен трехклеточный мужской гаметофит с 1-3 бороздами на поверхности экзины, что свидетельствует об их эволюционном совершенстве.
2. Установлено, что в пределах подсемейства *Lamioideae* L. по форме различают два вида пыльцевых зерен: округлые и эллипсоидальные, а размеры колеблются в диапазоне от $3,5 \pm 0,2$ до $8,5 \pm 0,3$ мкм.
3. Определено, что при обычных условиях хранения, у *Salvia sclarea* L. пыльца сохраняет свою жизнеспособность в течении 10 суток, а у *Mentha aquatica* L. – в течении 12 суток.
4. Наибольшее количество пыльцевых трубок у *Salvia sclarea* L. прорастает из пыльцы хранившейся 4 суток, а у *Mentha aquatica* L. – 8 суток.
5. Искусственное доопыление увеличивает завязываемость семян у *Mentha aquatica* L. в 1,5 – 2 раза, а у *Salvia sclarea* L. в 2 – 6 раз.

Список литературы

1. Батыгина Т.Б. Эмбриология цветковых растений. – С–Пб.: Мир и семья, 2000. – Т.1. – 510 с.
2. Поддубная-Арнольди В.А. Характеристика семейств покрытосеменных растений по цитоэмбриологическим признакам. – М.: Наука. 1982. – 350 с.
3. Адмиральская С.А. Стерильность мяты перечной и ее преодоление. – Л.: БИН, 1960. – 17 с.
4. Бугаенко Л.А., Резникова С.А. Дикорастущие виды мяты как исходный материал для селекции // Труды ВНИИЭМК. – Симферополь: ВНИИЭМК, 1984. – Т. 16. – С. 46–52.
5. Юрцева Н.С. Некоторые причины незавязываемости семян у шалфея лекарственного // Сборник научных трудов ВНИИ лекарственных растений. – Краснодар: ВНИИЛК, 1970. – Вып. 2. – С. 141–148.
6. Полішук В.С. Ембріологічні дослідження шавлії лікарської та шавлії мускатної // Укр. ботан. журн.– 1981. –Т.29, №1. – С. 25–30.
7. Шевченко С.В., Денисова Г.А. Данные по морфологии и анатомии шалфея мускатного // Растительные ресурсы. – 1984. – Т.6, Вып. 4. – С. 610–615.
8. Барыкина Р.П., Веселова Т.Д., Девятов А.Г. Основы микротехнических исследований в ботанике. – М.: Наука, 2000. – С.156–162.
9. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. – М.: Колос, 1970. – 255с.

*Лисякова Н.Ю., Сімагіна Н.О. Цитоморфологічні особливості чоловічого гаметофіту в підродині **Lamioideae** L. // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2007. – Т. 20 (59). – № 2. – С.46-53.*

Досліджені цитоэмбріологічні особливості сімейства *Lamiaceae* L. Встановлена структура чоловічого гаметофіту і визначені морфометричні показники пилоквих зерен 20 видів з 7 родів підродини *Lamioideae* L. Виявлена видова специфічність форми пилоквих зерен у видів роду *Salvia* L. Визначені терміни збереження життєздатності пилоквих зерен, а також залежність між кількістю проростаючих пилоквих зерен і кількістю насіння, що зав'язується.

Ключові слова: чоловічий гаметофіт, фертильність, життєздатність пилку

*Lysyakova N.Yu., Simagina N.O. Cytoembriological features of masculine hametophyte in the subfamily of **Lamioideae** L. // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2007. – V.20 (59). – № 2. – P. 46-53.*

The cytoembriological features of family of *Lamiaceae* L. are investigated. The structure of masculine hametophyte is revealed and the morphometric indexes of pollen corns of 20 species and 7 genus of subfamily of *Lamioideae* L. are certain. Specificity of form of pollen corns at the species of genus *Salvia* L. is exposed. The terms of maintainance of viability of pollen corns, and also dependence between the amount of germinating pollen corns and amount of the strung seeds are certain

Keywords: masculine hametophyte, fecundity, viability of pollen

Поступила в редакцію 20.10.2007 г.