

ЭМБРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ИРИСА РОГОЗОЛИСТНОГО (*IRIS TYPHIFOLIA* KITAG.)

Дорофеева М.М.¹, Верещагина В.А.², Новоселова Л.В.²

¹ФГБОУ ВПО «Пермская государственная сельскохозяйственная академия имени академика Д.Н. Прянишникова», Пермь, Россия (614990, г. Пермь, ул. Петропавловская, 23), e-mail: gd@parmail.ru

²ФГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», Пермь, Россия (614990, г. Пермь, ул. Букирева, 15), e-mail: info@psu.ru

Впервые проведено исследование развития семязачатка *Iris typhifolia* Kitag., в том числе мегаспорогенеза и стадий мегagamетогенеза. Для изучения спорогенеза и гаметогенеза *I. typhifolia* применялась общепринятая цитозембриологическая методика с использованием парафиновых срезов. Развитие семязачатка происходит на стадии бутонизации. Эмбриологические данные: завязи трехгнездные, семязачатки с центрально-угловой плацентацией, анатропные, двупокровные и крассиноцеллятные. Археспориальная клетка делится периклинально, образуя париетальную и спорогенную клетки (последняя в дальнейшем преобразуется в мегаспороцит). Клетки в основании фуникулуса и вдоль плаценты образуют obturator. После мейоза образуется линейная тетрада макроспор. Халазальная мегаспора развивается в зародышевый мешок Polygonum-типа. Окончательное созревание 7-клеточного зародышевого мешка происходит на стадии цветения.

Ключевые слова: репродуктивная биология, эмбриология, семязачаток, зародышевый мешок, Iris.

EMBRYOLOGICAL STUDY RESEARCH OF *IRIS TYPHIFOLIA* KITAG.

Dorofeeva M.M.¹, Vereshchagina V.A.², Novoselova L.V.²

¹Perm State Agricultural Academy, Perm, Russia (614990, Perm, Petropavlovskaya St., 23), e-mail: gd@parmail.ru

²Perm State National Research University, Perm, Russia (614990, Perm, street Bukireva, 15), e-mail: info@psu.ru

Ovule development, including megasporogenesis and stages of megagametogenesis were studied for the first time in *Iris typhifolia* Kitag. Sporogenesis, gametogenesis of *I. typhifolia* were observed using the normal paraffin method. Ovule development, , occurred while flowers were still in bud. The results are as follows: the ovary is trilobular with axile placenta, the ovule is anatropous, bitegmic and crassinucellate. The archesporial cell below the nucellar epidermis undergoes periclinal division producing the primary parietal and the primary sporogenous cells. The cells at the base of the funiculus and along the placenta form obturator. Successive cytokinesis in the megasporocyte usually produces tetrad, and the chalazal megaspore of the tetrad develops into a Polygonum-type embryo sac. Final maturation of the seven-celled embryo sac occurs during the florescence.

Keywords: reproductive biology, embryology, ovule, embryo sac, Iris.

В роде *Iris* наиболее неоднородным по составу считается подрод *Limniris* (Tausch) Sprach», насчитывающий более 45 видов [2, 10]. Общим характерным признаком этих видов является отсутствие бородки на наружных долях околоцветника, поэтому за видами этого подрода закрепилось название «безбородые ирисы».

Некоторые виды подрода *Limniris* активно изучаются в систематическом отношении, однако репродуктивные системы безбородых ирисов остаются малоизученными или они не изучены совсем [8]. Между тем известно, что данные о развитии репродуктивных органов важны как при выяснении дискуссионных вопросов систематики, филогении и эволюции цветковых растений [7, 9], так и для интродукции, часто сопряженной с селекцией.

Ранее нами дана эмбриологическая характеристика четырех видов ирисов из подрода *Limniris* [3, 4]. В данном сообщении изложены результаты эмбриологического изучения ириса рогозолистного (*I. typhifolia* Kitag.).

Материал и методы

Материал для исследования был собран в иридарии Ботанического института РАН им. В.Л. Комарова в 2011 – 2012 г.г., его обработка сделана в соответствии с существующими методами [6]. Для изучения развития семязачатков фиксировались бутоны разных стадий развития и раскрытые цветки, с использованием фиксаторов Кларка и Навашина.

Последующая обработка материала и изготовление препаратов проводились в лаборатории цитогенетики и генетических ресурсов Пермского государственного национального исследовательского университета. Изучение качества пыльцы проводилось ацетокарминовым методом по З.П. Паушевой [6]. Парафинирование велось с помощью автоматической системы Leica TP 1020 карусельного типа. Срезы толщиной 7–10 мкм готовились с помощью ротационного микротомы Leica RM и окрашивались галлоцианин-хромовыми квасцами [1]. При тройном окрашивании (реактив Шиффа, алциановый синий и гематоксилин Эрлиха) [5] использовали универсальный мультистейнер Leica ST 2020. Срезы заключались в синтетическую монтирующую среду БиоМаунт. Фотографии сделаны с помощью микроскопа Olympus BX-51 с цифровой видеокамерой Olympus Camedia C-300Zoom с системой визуализации изображений и программы CELL В при увеличении 100 – 1500.

Результаты

Цветки *I. typhifolia* темно-фиолетовые; наружные доли обратнойцевидные, внутренние доли прямые, обратно-ланцетные. Коробочка эллипсоидная, трехгранная. Фертильность пыльцевых зерен высокая, она составила $90,42 \pm 2,41$ %, при $Cv=5,96$ %. Гинецей синкарпный, завязь нижняя. Семязачатки расположены в два ряда, попарно, в шахматном порядке в каждом из трех гнезд коробочки и имеют центрально-угловую плацентацию. На ранних стадиях развития в семязачатках после периклиналиного деления археспориальной клетки образуется париетальная клетка и мегаспороцит. Семязачаток к стадии мегаспорогенеза полностью сформирован. После первого мейотического деления мегаспороцита образуется диада клеток. После второго деления мейоза образуется линейная тетрада мегаспор. Микропилярные мегаспоры дегенерируют и отмирают, а затем сдавливаются развивающимся зародышевым мешком и резорбируются. Халазальная мегаспора имеет густо окрашенную цитоплазму и крупное ядро, она быстро увеличивается, формируя зародышевый мешок.

Париетальная клетка делится антиклинально, образуя слой париетальной ткани, затем париетальные клетки делятся периклинально, образуя два ряда (рис. 1).

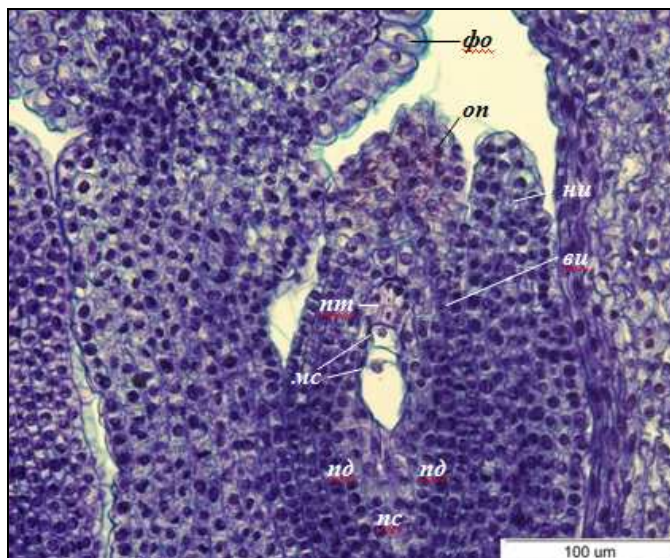


Рис 1. Анатропный семязачаток *I. typhifolia* ($\times 400$).

вн – внутренний интегумент, *мс* – мегаспора, *ни* – наружный интегумент, *нд* – подиум, *пс* – постамент, *пт* – париетальная ткань, *он* – оперкулум, *фо* – фуникулярный obturator

Поворот семязачатка составляет 180° , так что микропиле обращено к плаценте, а халаза и микропиле находятся на одной оси. Это характеризует семязачаток как анатропный. Интегументы полностью сформированы. Наружный интегумент 6-8-слойный, короче внутреннего. Внутренний интегумент двухслойный, в области микропиле расширяется до четырех слоев, формируя оперкулум. Микропиле образовано внутренним интегументом, плотно сомкнуто. В основании фуникулуса эпидермальные клетки крупные, радиально вытянутые, образуют obturator. Клетки obturatorа вакуолизированные, с плотной цитоплазмой, утолщенными наружными стенками. В нуцеллусе дифференцируется постамент и подиум. Клетки постамента вытянутые, их длина в 3–4 раза превышает ширину. Клетки подиума изодиаметрические.

Размеры длины семязачатков достигают 442 ± 9 мкм, ширины – 175 ± 7 мкм. Размеры длины одноядерных зародышевых мешков достигают 50 ± 2 мкм, ширины – $13 \pm 0,7$ мкм. В результате разрастания зародышевого мешка слои париетальных клеток начинают сдавливаться. Наружный интегумент удлиняется. Длина микропиллярного канала достигает 54 ± 2 мкм.

После первого митотического деления формируется двуядерный ценоцит, ядра занимают полярное положение в зародышевом мешке, что сопровождается образованием центральной вакуоли. Длина двуядерных зародышевых мешков достигает – 81 ± 3 мкм, ширина – 17 ± 1 мкм. Клетки нуцеллуса, непосредственно прилегающие к зародышевому

мешку, сдавливаются и разрушаются (рис. 2). В результате второго митотического деления образуется четырехъядерный зародышевый мешок, деление ядер асинхронно. После третьего митотического деления образуется 8-ядерный ценоцит.

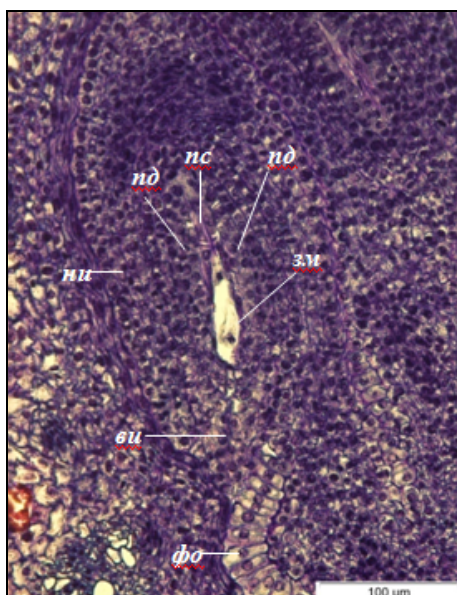


Рис. 2. Двухъядерный зародышевый мешок *I. typhifolia* (×400).

ви – внутренний интегумент, *эм* – зародышевый мешок, *ни* – наружный интегумент, *пд* – подиум, *пс* – постамент, *фо* – фуникулярный обтуратор

По завершению процесса клеткообразования в семязачатках можно наблюдать сформированные 8-ядерные 7-клеточные зародышевые мешки Polygonum-типа. Яйцевой аппарат состоит из яйцеклетки и двух синергид. Синергиды плотно прилегают друг к другу, яйцеклетка располагается за ними. Ядра синергид располагаются в центральной части клеток, вакуоли – в апикальной. В базальной части синергид различим нитчатый аппарат. В яйцеклетке ядро находится в апикальной части, вакуоль – в базальной (рис. 3). В халазальной части зародышевого мешка находятся три антиподы треугольной формы. Центральная клетка пронизана тяжами цитоплазмы, между которыми располагаются вакуоли. После завершения клеткообразования полярные ядра сближаются, и формируется ядро центральной клетки, которое смещено в антиподальный конец зародышевого мешка (рис. 4).

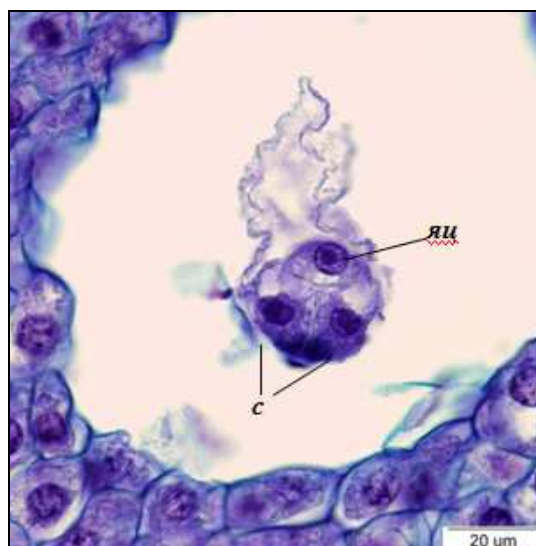


Рис. 3. Яйцевой аппарат ($\times 1500$). *с* – синергиды, *яц* – яйцеклетка

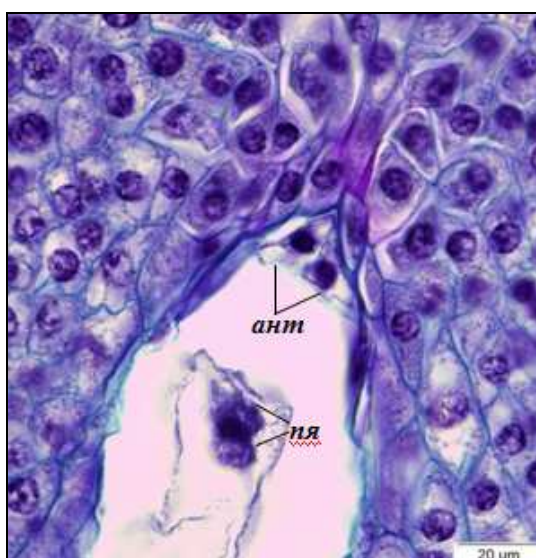


Рис. 4. Слияние полярных ядер ($\times 1500$). *ант* – антиподы, *ня* – полярные ядра

К моменту раскрытия цветка в завязи наблюдаются семязачатки овальной формы с 7-ядерными 7-клеточными зародышевыми мешками. Средние размеры длины семязачатков достигают 919 ± 39 мкм, ширины – 464 ± 48 мкм. Длина зрелых зародышевых мешков – 124 ± 7 мкм, ширина – 84 ± 9 мкм. Проводящий пучок состоит из слоев удлиненных густоплазменных клеток, часть которых трансформируется в сосуды. Наружный интегумент разрастается до девяти слоев и по длине становится равным внутреннему. Слои париетальной ткани к этому времени полностью дегенерируют. Клетки паренхимы наружного интегумента вакуолизованы, крупнее клеток эпидермы в 2–3 раза (рис. 5).

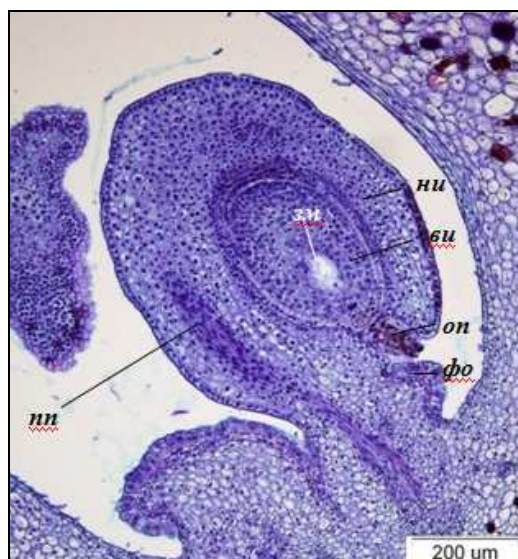


Рис. 5. Анатропный семязачаток *I. typhifolia* (×100).

ви – внутренний интегумент, *зм* – зародышевый мешок, *ни* – наружный интегумент,
оп – оперкулум, *пн* – проводящий пучок, *фо* – фуникулярный obturator

В некоторых полноценно сформированных семязачатках наблюдается отсутствие зародышевых мешков. Нуцеллус в этих семязачатках дифференцирован на постамент и подиум, имеются слои париетальной ткани. Вместо зародышевого мешка наблюдаются сдавленные дегенерирующие клетки нуцеллуса.

Заключение

Репродуктивная сфера *I. typhifolia* впервые стала объектом исследования. Сравнение ранее полученных нами эмбриологических данных для четырех видов подрода *Limniris* [3, 4] с *I. typhifolia* показало, что в целом характеристика развития семязачатков и зародышевых мешков у видов, включенных в подрод *Limniris*, совпадает. Более того, такие характеристики, как анатропный двупокровный крассинуцеллятный семязачаток, одноклеточный археспорий, линейная тетрада мегаспор, зародышевый мешок Polygonum-типа, типичны для семейства *Iridaceae* в целом.

Список литературы

1. Барыкина Р.П., Веселова Т.Д., Девятова А.Г., Джалилова Х.Х., Ильина Г.М., Чубатова Н.В. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы. — М: Изд-во МГУ, 2004. — 312 с.
2. Доронькин В.М., Байков К.С. Моделирование филогенетических связей сибирских видов рода *Iris* (*Iridaceae*) по методу SYNAP // Turczaninowia. — 2004. — Т. 7. № 2. — С. 45–57.

3. Дорощеева М.М., Глухова А.Н., Новоселова Л.В. Развитие семязачатков *Iris sibirica* и *Iris sanguinea* // Эмбриология, генетика, биотехнология: материалы IV Международной школы для молодых ученых (3–9 дек. 2012 г.) / под общ. ред. Л.В. Новоселовой; Перм. гос. нац. исслед. ун-т. — Пермь, 2012. — С. 158–163.
4. Дорощеева М.М. Эмбриологическое исследование видов рода *Iris* L. подрода *Limniris* (Tausch) // Современные проблемы науки и образования (Электронный журнал). — 2013. № 5. — URL: <http://www.science-education.ru/111-10746> (дата обращения: 12.11.2013).
5. Камелина О.П., Проскурина О.Б., Жинкина Н.А. К методике окраски эмбриологических препаратов // Ботанический журнал. — 1992. Т. 77, № 4. — С. 93–96.
6. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. М. — 1988. — 271 с.
7. Поддубная-Арнольди В.А. Цитоэмбриология покрытосеменных растений. Основы и перспективы. М: Наука, 1976. — 507 с.
8. Соколовская Т.Б., Шпилевой Б.Е. Семейство *Iridaceae* // Сравнительная эмбриология цветковых растений. Однодольные. *Vitaceae - Lemnaceae*. / под ред. Т.Б. Батыгина, М.С. Яковлева. — Л.: Наука, 1990. — С. 129–134.
9. Шамров И.И. Современные проблемы ботаники. — СПб: Изд-во РГПУ им. А. И. Герцена, 2010. — 123 с.
10. Wilson C.A. Subgeneric classification in *Iris* re-examined using chloroplast sequence data // Taxon. — 2011. Vol. 60. No. 1. — pp. 27–35.

Рецензенты:

Колясникова Н.Л., д.б.н., профессор, заведующая кафедрой ботаники, генетики, физиологии растений и биотехнологий ФГБОУ ВПО «Пермская государственная сельскохозяйственная академия имени академика Д.Н. Прянишникова», г. Пермь;

Круглова Н.Н., д.б.н., профессор, заведующая лабораторией экспериментальной эмбриологии растений, заместитель директора по научной работе ФГБУН «Институт биологии Уфимского научного центра РАН», г. Уфа.