

УДК 581.3: 582.594.2

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЭМБРИОЛОГИИ ОРХИДЕЙ *CEPHALANTHERA DAMASONIUM* И *DACTYLORHIZA ROMANA*

Шевченко С. В.¹, Теплицкая Л. М.²

¹Никитский ботанический сад – Национальный научный центр НААНУ, Ялта, Shevchenko_nbs@ukr.net

²Таврический национальный университет им. В. И. Вернадского, Симферополь, lm_teplitskaya@ukr.net

Представлены результаты изучения развития генеративных структур двух видов растений семейства Orchidaceae – *Cephalanthera damasonium* и *Dactylorhiza romana* в связи с задачами разработки методов ускоренного размножения, введения в культуру и создания генетических банков для сохранения генофонда.

Ключевые слова: генеративные структуры, орхидные.

ВВЕДЕНИЕ

В связи с всевозрастающим негативным антропогенным воздействием на окружающую среду сохранение биоразнообразия, в том числе и фиторазнообразия, становится одной из важнейших проблем современности. В растительном мире это особенно актуально для редких и исчезающих видов растений. Крым – своеобразный регион Украины, флора которого содержит большое число видов различной степени редкости и уникальности, нуждающихся в пристальном изучении для разработки научно обоснованных мер их охраны или использования в садово-парковом строительстве [1, 2, 3]. К таким видам с полным основанием могут быть отнесены виды семейства Orchidaceae, численность популяций которых сокращается еще и вследствие весьма специфического репродуктивного процесса, особенностей их эмбриологии и антропоэкологии.

В данной работе представлены результаты изучения развития генеративных структур двух видов данного семейства – *Cephalanthera damasonium* (Mill.) Druce и *Dactylorhiza romana* (Cebast.) Soó, в связи с задачей разработки методов ускоренного размножения, введения в культуру и репатриации этих видов в природные места обитания, а также создания генетических банков и коллекций клеточных культур для сохранения генофонда редких и исчезающих видов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом исследования были соцветия двух видов орхидей *C. damasonium* и *D. romana* на различных этапах развития. Бутоны отбирались по размерам и стадиям развития пыльников и семязачатков. Цитоэмбриологические исследования проводились на постоянных и временных препаратах, приготовленных по общепринятым методикам [4, 8]. Препараты окрашивали метиловым зеленым и пиронином с подкраской алциановым синим и гематоксилином по Гейденгану [6]. Препараты анализировали под микроскопом JENAMED-2 фирмы Цейс. Рисунки выполняли при помощи рисовальных аппаратов РА-4 и РА-6. Фото изготовлено с помощью цифрового фотоаппарата Canon A550.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Развитие генеративных структуру изученных видов проходит сходно. Генезис стенки микроспорангия происходит в центростремительном направлении: первичный париетальный слой образует эндотеций и вторичный париетальный слой, дающий впоследствии средний слой и тапетум (рис. 1).



Рис. 1. Схема формирования стенки микроспорангия

К началу мейоза стенка микроспорангия полностью сформирована и состоит из эпидермиса, эндотеция, 2-х, иногда 3-х средних слоев и тапетума (рис. 2). Следует отметить, что тапетум полностью выстилает гнездо микроспорангия и имеет двойственное происхождение – в стенке микроспорангия он является производным вторичного париетального слоя, а со стороны связника развивается из клеток паренхимы связника.

После прекращения делений в спорогенной ткани ее клетки обособляются, и в них проходит мейоз, результатом которого являются тетрады микроспор, образующиеся симультанно. В пределах микроспорангия мейоз проходит асинхронно и часто с отклонениями в виде неравномерного расхождения хромосом, выброса хромосом за пределы ахроматинового веретена, образования мостов и так далее (рис. 3).

Следует обратить внимание на тот факт, что у изучаемых видов, как и у других видов подсемейства Orchidoideae [5, 8], спорогенная ткань очень мощная, тетрады не распадаются на отдельные микроспоры, а образуют массы и поллинии (рис. 4). Зрелая пыльца представлена 2-клеточными пыльцевыми зернами (рис. 4, Б).

Стенка зрелого пыльника состоит из клеток эпидермиса, покрытого довольно плотной кутикулой, и фиброзного эндотеция.

В клетках эндотеция, среднего слоя и микроспороцитах довольно часто встречаются включения оксалата кальция (рис. 5).

Женская генеративная сфера в своем развитии значительно отстает от мужской. Ко времени распускания цветка, когда мужские генеративные структуры представлены поллиниями с 2-клеточными пыльцевыми зернами, гинецей состоит из примордиев семязачатков (рис. 6). Несколько позднее в субэпидермальном слое дифференцируется археспориальная клетка, которая постепенно увеличивается в размерах и функционирует как мегаспороцит. В это же время начинается формирование внутреннего интегумента (рис. 7).

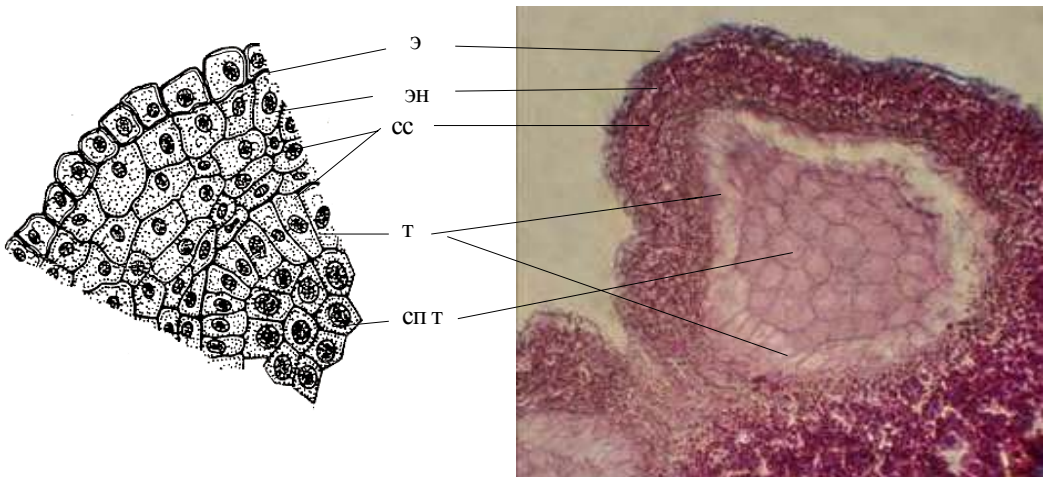


Рис. 2. Сформированная стенка микроспорангия *Cephalanthera damasonium* (э – эпидермис, эн – эндотеций, сс – средние слои, т – тапетум, сп т – спорогенная ткань)

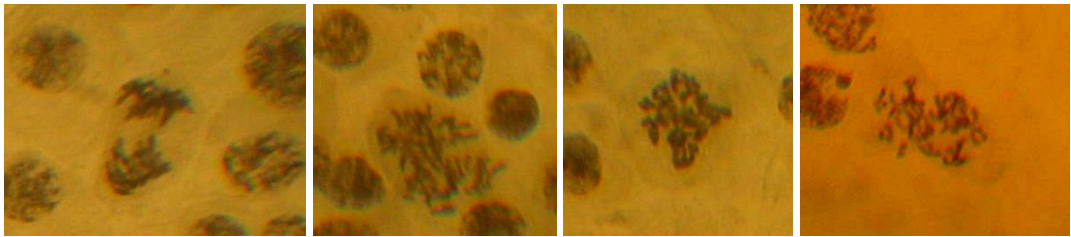


Рис. 3. Отклонения в процессе мейоза в микроспорангиях *Dactylorhiza romana*

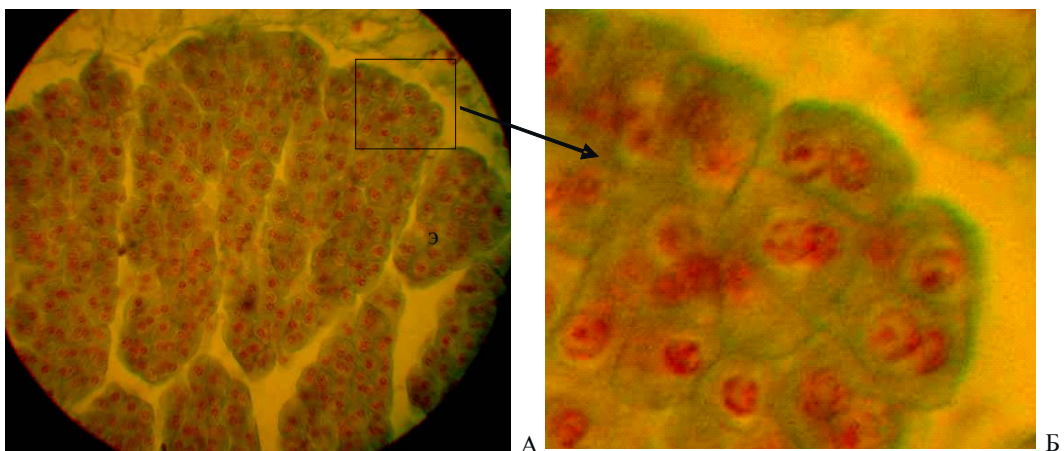


Рис. 4. Поллинии в микроспорангии *Dactylorhiza romana* (А – общий вид; Б – фрагмент поллиния с двумя клеточными пыльцевыми зёрнами)

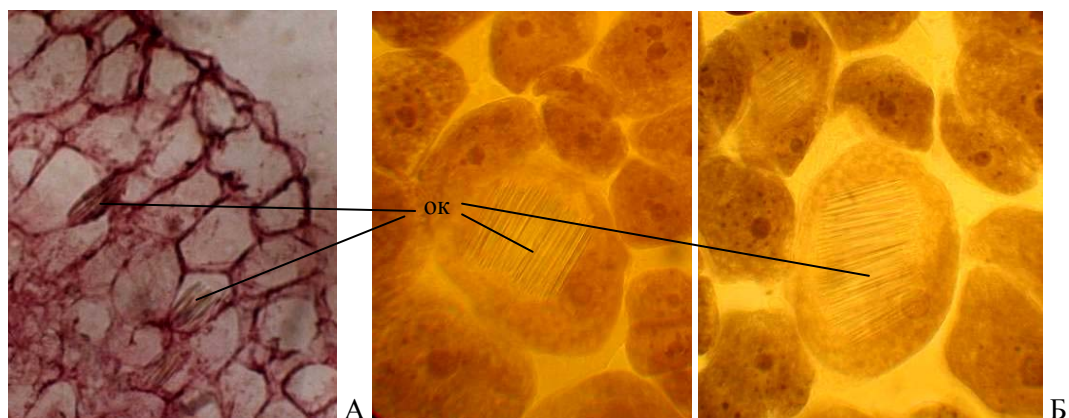


Рис. 5. Оксалаты кальция (ок) в стенке микроспорангия *Cephalanthera damasonium* (А) и в микроспороцитах *Dactylorhiza romana* (Б)



Рис. 6. Фрагмент завязи *Dactylorhiza romana* с примордиями семязачатков

Иногда археспориальная клетка делится периклинально и образует париетальную и спорогенную клетки (рис. 8 А, Б). С ранних стадий развития в примордии семязачатка четко выражен осевой ряд клеток базальной зоны (рис. 8 В).

Зародышевый мешок чаще всего формируется из халазальной мегаспоры по Polygonum-типу (рис. 9). Зрелые зародышевые мешки 7-клеточные, яйцевой аппарат с довольно крупными синергидами и яйцеклеткой, полярные ядра могут сливаться до оплодотворения или во время слияния со спермием.

Сформированный семязачаток анатропный, битегмальный, тенуинуцеллярный. После попадания на рыльце пестика пыльцевые зерна прорастают, в пыльцевых трубках проходит спермиогенное деление, далее пыльцевая трубка проходит через синергиду, лопается и изливает свое содержимое в щель между яйцеклеткой и центральной клеткой. Тройное слияние приводит к образованию первичного ядра эндосперма, которое может остановиться в своем развитии, а может разделиться и тогда эндосперм будет представлен не одним, а двумя ядрами с ядрышками. Сингамия наступает обычно несколько позже (рис. 10).

Первое деление зиготы поперечное, которое приводит к образованию базальной и апикальной клеток проэмбрио. В результате поперечного деления базальной клетки формируется трехклеточный проэмбрио, состоящий из апикальной, средней и суспензорной инициальной клеток (рис. 11). Дальнейшее развитие проходит по Onagrad-типу и приводит к формированию недифференцированного зародыша (рис. 11). Предыдущие исследования показали,

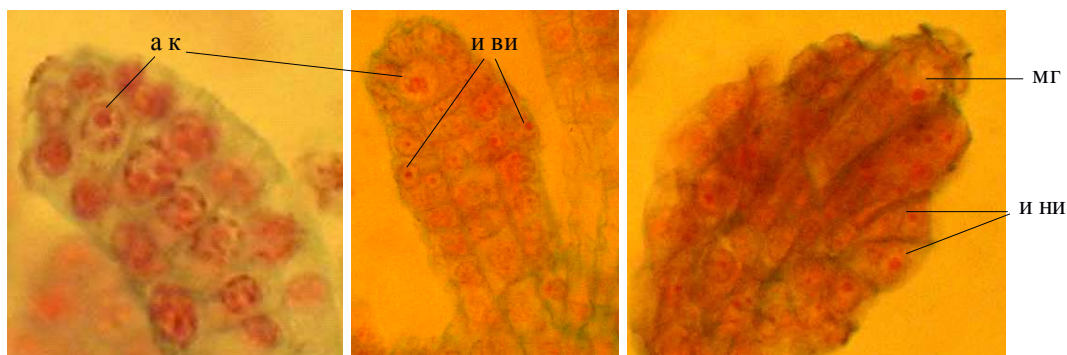


Рис. 7. Семязачатки *Dactylorhiza romana* на ранних стадиях развития (а к – археспориальная клетка; и ви – инициалы внутреннего интегумента; мг – мегаспороцит; и ни – инициалы наружного интегумента)

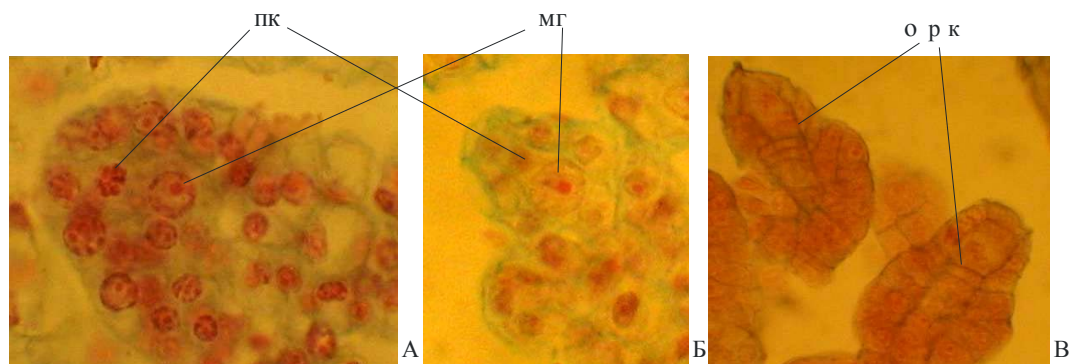


Рис. 8. Мегаспороциты (мг), париетальные клетки (пк) и осевой ряд клеток (орк) в семязачатках *Dactylorhiza romana*

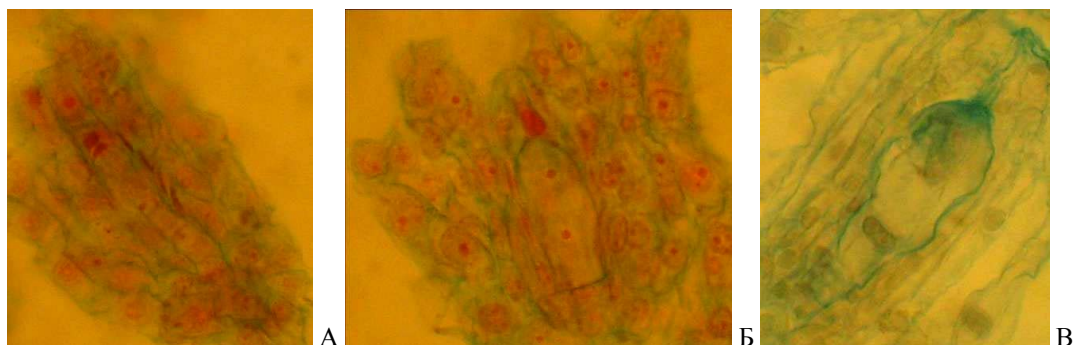


Рис. 9. Зародышевые мешки *Dactylorhiza romana* на разных стадиях развития (А и Б – на 2-ядерной стадии, видны дегенерирующие мегаспоры, В – после вхождения пыльцевой трубки в синергиду)

что высокий процент неполноценных семян можно компенсировать, применяя метод асимбиотического семенного размножения *in vitro*, а также используя генеративные структуры (пыльники и микроспоры), как элементы с высоким морфогенетическим потенциалом [7].

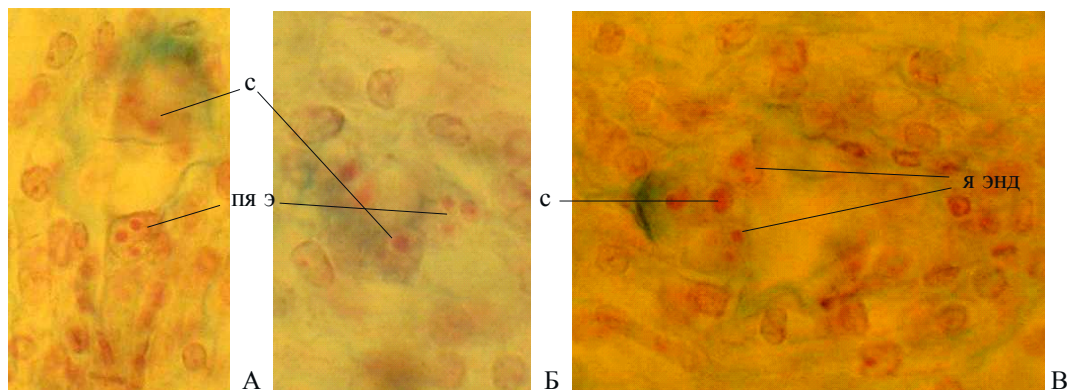


Рис. 10. Сингамия (с) у *Dactylorhiza romana* в семязачатках с одним (А и Б) и двумя (В) ядрами эндосперма

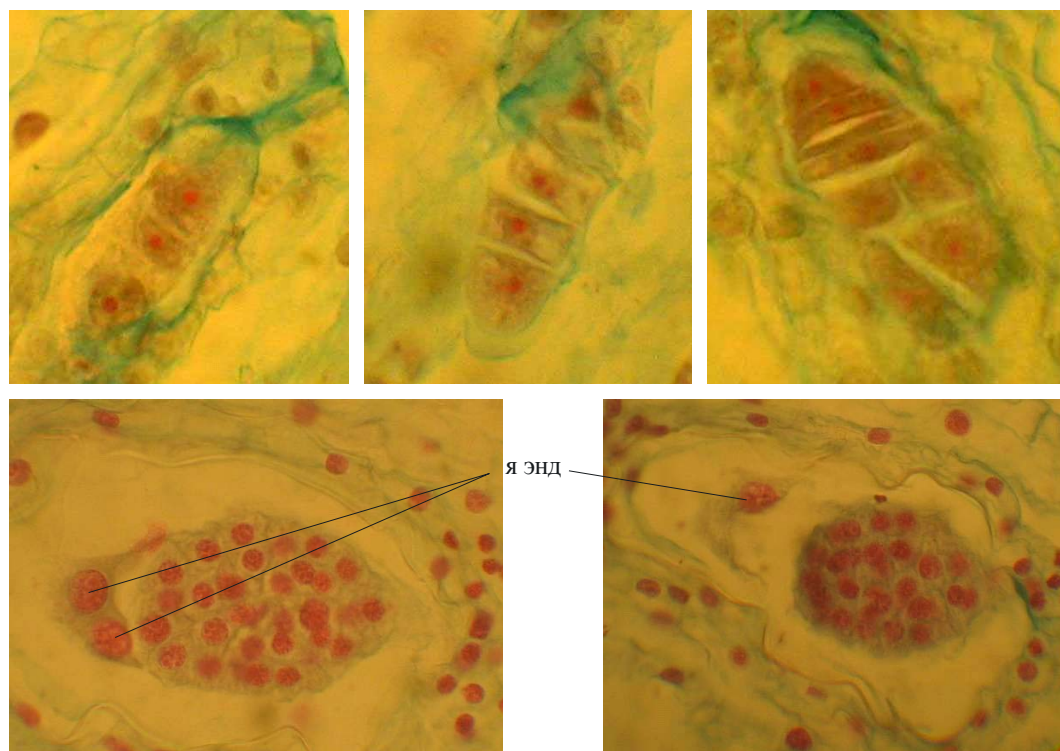


Рис. 11. Различные стадии развития зародыша *Dactylorhiza romana*
(я энд – ядра эндосперма)

ВЫВОДЫ

1. В процессе развития мужских и женских генеративных структур *C. damasonium* и *D. romana* образуется достаточное количество нормальных половых элементов, которые могут обеспечить эффективный процесс опыления и оплодотворения (при наличии других составляющих).

2. Отклонения, наблюдаемые практически на всех этапах развития, а также дегенерация эндосперма и формирование недоразвитых зародышей приводят к ограничениям естественного воспроизведения видов.

3. Для улучшения возобновления перспективно применение методов культуры *in vitro* пыльников и микроспор, а также симбиотического семенного размножения с последующей репатриацией полученных сеянцев и растений регенерантов в пределы естественного ареала.

Список литературы

1. Вахрамеева М. Г. Орхидеи нашей страны / М. Г. Вахрамеева, Б. В. Денисова, С. В. Никитина. – М.: Наука, 1991. – 24 с.
2. Голубев В. Н. Биологическая флора Крыма / В. Н. Голубев. – Ялта, 1996. – 86 с.
3. Голубев В. Н. Современное состояние генофонда высших растений Крыма и вопросы его охраны / В. Н. Голубев // Биологическое и ландшафтное разнообразие Крыма: проблемы и перспективы Симферополь, 1999. – Вып. 11. – С. 141–143.
4. Паушева З. П. Практикум по цитологии растений / З. П. Паушева. – М.: Колос, 1980. – 304 с.
5. Поддубная-Арнольди В. А. Цитозембриология покрытосеменных растений / В. А. Поддубная-Арнольди. – М.: Наука, 1976. – 508 с.
6. Савина Г. И. Оплодотворение у орхидных (Orchidaceae): автореф. ... канд. биол. наук / Г. И. Савина – Санкт-Петербург, 1965. – 25 с.
7. Теплицкая Л. М. Клональное размножение редких видов флоры Крыма *in vitro*: проблемы и перспективы. / Л. М. Теплицкая, А. М. Бугара, Д. А. Складенко // Ученые записки ТНУ им. В. И. Вернадского. Серия Биология и химия. – 2008. – Т. 21(60), №2. – С. 127–132.
8. Шевченко С. В. Методика окраски постоянных препаратов метиловым зеленым и пиронином / С. В. Шевченко, И. А. Ругуз, Л. М. Ефремова // Бюл. Никит. Ботан. Сада. – 1986. – Вып. 66. – С. 99–101.

Шевченко С. В., Теплицкая Л. М. Деякі особливості ембріології орхідей *Cephalanthera damasonium* і *Dactylorhiza romana* // Екосистеми, їх оптимізація та охорона. Симферополь: ТНУ, 2011. Вип. 4. С. 58–64.

Представлено результати вивчення розвитку генеративних структур двох видів родини Orchidaceae – *Cephalanthera damasonium* і *Dactylorhiza romana* у зв'язку із завданнями розробки методів прискореного розмноження, введення в культуру і створення генетичних банків для збереження генофонду.

Ключові слова: генеративні структури, орхідні.

Shevchenko S. V., Teplitskaya L. M. Some features of embryology of orchids *Cephalanthera damasonium* and *Dactylorhiza romana* // Optimization and Protection of Ecosystems. Simferopol: TNU, 2011. Iss. 4. P. 58–64.

The results of studying the development of generative structures of two species of the family Orchidaceae – *Cephalanthera damasonium* and *Dactylorhiza romana* are represented in connection with problems in developing methods for rapid propagation, introduction to the culture and the creation of gene banks to preserve the gene pool.

Key words: generative structure, orchids.

Поступила в редакцію 17.05.2011 г.