

**ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ПЫЛЬЦЫ И МЕЙОЗ ПРИ МИКРОСПОРОГЕНЕЗЕ  
У *LONICERA CAERULEA* L. S.L. В УСЛОВИЯХ ЛЕСОСТЕПИ ПРИОБЬЯ**

**Ключевые слова:** жимолость синяя, фертильность пыльцы, микроспорогенез, мейоз, микроспоры, веретено деления, тетрады, хромосомы, аномалии мейоза.

Жимолость синяя в настоящее время широко введена в культуру как пищевое растение, выведены ее сорта с десертными качествами плодов и высокой продуктивностью [1]. Эта культура ценится за созревание в раннелетний период и высокое содержание витаминов и биологически активных веществ, среди которых наиболее важными являются Р-активные полифенолы [2]. Наиболее богаты по содержанию Р-активных соединений плоды образцов жимолости алтайского происхождения [3].

В условиях лесостепи Приобья при изучении особенностей репродуктивной биологии у некоторых наиболее продуктивных сортов и отборных форм жимолости с Алтая (Салют, Галочка, Сириус, Берель и № 5-108-81) было отмечено увеличение стерильности пыльцы [4]. Использование этих сортов как опылителей приводило к снижению процента завязываемости плодов и уменьшению их массы [5]. Низкая фертильность пыльцевых зерен (34,5%) отмечалась также и в Барнауле у сорта Берель [3].

Одним из критических периодов в жизненном цикле семенных растений является мейоз. Качество мужских гамет, а следовательно, и успешность оплодотворения у растений зависит от успешности мейоза, нарушения которого часто приводят к стерильности пыльцы, семян и низкой завязываемости плодов. Поскольку жимолость – облигатный перекрестник, отсутствие в посадках сортов с высокой фертильностью пыльцевых зерен может вести за собой большую потерю урожая.

Органогенез цветка, особенности опыления и оплодотворения изучались на образцах различного происхождения в Москве, а также в Ленинградской области [6-8]. В результате проведенных исследований установлено, что дифференциация

материнских клеток микроспор происходила в пыльниках к концу сентября. Длительные осенние потепления вызывали деление микроспороцитов у многих видов. Мейоз у жимолости при низких температурах (около 0°C) сопровождался аномалиями, выражающимися в образовании триад и пентад, а также дефектных пыльцевых зерен.

Весной в результате нормального прохождения микроспорогенеза формировалась пыльца, характеризующаяся высокой морфологической полноценностью. В целом по цитозембриологии *Lonicera caerulea* L. данных очень мало.

Целью настоящей работы было изучение особенностей мейоза в процессе микроспорогенеза у образцов жимолости синей разного происхождения и выявление мейотических нарушений, ведущих к увеличению стерильности пыльцы.

**Объекты и методы исследования**

Объектами исследования являлись сорта и образцы *L. caerulea* L. s.l. различного эколого-географического происхождения, произрастающие на интродукционном участке в Центральном сибирском ботаническом саду СО РАН (Новосибирск).

Изучение фертильности пыльцы проводили в период 2001-2010 гг. Для этого использовали 36 образцов, интродуцированных из природных популяций Горного Алтая; сорта и отборные формы, полученные в результате отбора из семян *L. caerulea*, собранных в Рудном Алтае (Восточный Казахстан, Лениногорский р-н) – Салют, Галочка, Сириус, Селена, № 5-108-81, Огненный опал; 16 сортов камчатского происхождения селекции разных НИУ; 11 сортов и отборных форм приморского происхождения и сорт гибридного происхождения – Берель (родительские формы Сириус и смесь пыльцы камчатских сортов). Жизнеспособность пыльцы определялась ацетокарминовым методом [9].

Материалом для исследования мейоза при микроспорогенезе служили смешанные почки образцов Салют, Галочка, Си-

риус, № 5-108-81, Огненный опал Берель, Камчадалка, Синяя птица, Голубое веретено и Памяти Гидзюка. Почки фиксировали в течении 1 сут. при комнатной температуре по Карнуа – смесью 96%-ного спирта и ледяной уксусной кислоты в соотношении 3:1, предварительно освободив их от покровных чешуй. Фиксацию производили трижды с конца апреля до середины мая. После 5-минутной мацерации в соляной кислоте при 60°C и промывки в дистиллированной воде пыльники окрашивали на предметном стекле гематоксилином с добавлением раствора уксуснокислого железа в 50% пропионовой кислоте.

Для исследования и фотографирования препаратов использовался комплекс для ввода и анализа изображений фирмы «Carl Zeiss» в составе: световой микроскоп Axioskop-40, видеокамера AxioCam MRc 5 и установленное морфометрическое программное обеспечение AxioVision 4.6.

#### Результаты исследований

Нами были проанализированы результаты изучения качества пыльцы образцов разного экологического и генетического происхождения за период с 2001-2010 гг. Проведенные исследования показали, что сорта камчатского происхождения имели пыльцу хорошего качества, о чем свидетельствует их высокая фертильность; в среднем по годам она составляла (93,2±0,9)% и изменялась от 66 до 100%, коэффициент варьирования составил 7,8%.

Для сортообразцов жимолости приморского происхождения также характерна высокая морфологическая полноценность пыльцевых зерен, её фертиль-

ность в среднем – (92,7±1,6)%, колебания по годам были в пределах от 59 до 100%, а коэффициент вариации – 6,4%.

Высоким качеством пыльцы характеризовались образцы, привезенные из природных популяций Горного Алтая, процент фертильных пыльцевых зерен в этой группе составил (88,0±1,0)%, варьирование было в диапазоне от 67,7 до 100% и коэффициент вариации – 9,3%.

Большое количество дефектных пыльцевых зерен было характерно для сортов Сириус, Галочка, Салют, о.ф. № 5-108-81 и гибридного сорта Берель. Анализ происхождения этих образцов показал, что все они получены в результате аналитической и синтетической (Берель) селекции от сеянцев из Рудного Алтая (долина р. Убы). Из 2300 шт. семян, собранных в этой популяции, 785 было выделено из плодов одного растения с выдающимися хозяйственно-ценными признаками [3]. Сорта Селена и Огненный Опал из этой же популяции характеризовались высокой фертильностью пыльцы (табл.). Наблюдалась значительная изменчивость качества пыльцы по годам у сортов и о.ф.: Сириус – от 0,1% в 2004 г. до 59,1% в 2006 г., Салют от 0,1% в 2010 г. до 71,4% в 2008 г., Берель – от 31,0% в 2002 г. до 51,0% в 2001 г., о.ф. № 5-108-81 от 0,02% в 2010 г. до 13% в 2004 г. Для сортообразцов из этой группы была характерна также очень низкая пыльцепродуктивность, в связи с чем в отдельные годы невозможно было набрать нужное количество (более 300) пыльцевых зерен для статистической оценки, что оказало влияние на увеличение коэффициента вариации (выше 100%).

Таблица  
Фертильность пыльцы сортообразцов *L. saerulea* за период 2001-2010 гг.

Название образца	Фертильность, %		
	средняя	предел	V
Салют	38,8	0,1-71,4	88,0
Сириус	15,9	0,1-59,1	181,6
№ 5-108-81	4,6	0,02-13,0	158,0
Галочка	62,1	4,9-91,5	79,8
Берель F1	31,4	31,0-51,0	71,7
Селена	90,2	77,5-98,6	12,4
Огненный Опал	90,6	83,6-97,5	10,9
Голубое веретено	98,4	97,9-97,9	0,9
Синяя птица	93,4	76,1-99,8	12,4
Камчадалка	96,6	92,1-98,4	2,7
Памяти Гидзюка	95,4	81,6-99,9	2,4

Высокая вариабельность показателя фертильности пыльцы по годам изучения и низкая пыльцепродуктивность может быть связана с большей чувствительностью мейоза у образцов этой группы к изменениям погодных условий. Нарушения в мейозе часто приводят к стерильности пыльцы, а одной из причин, вызывающих мейотические нарушения, многие исследователи считают воздействие неблагоприятных факторов [6, 8, 10]. Известно также, что изменение поведения хромосом в мейозе в зависимости от внешних условий обусловлено генетически [11].

В условиях Новосибирской области весной мейоз у жимолости проходит в среднем 27 апреля – 5 мая (за 5-7 дней до начала цветения растений), но может проходить раньше или позже, в зависимости от погодных условий.

При нормальном прохождении мейоза у жимолости мы наблюдали следующие фазы редукционного деления: профазы I, метафазы I, анафазы I, телофазы I, метафазы II, анафазы II и телофазы II, а также тетрады и микроспоры (рис. 1).

Во время профазы I происходит подготовка мейоцита к делению – спирализация хромосом и образование бивалентов – это наиболее длительная стадия мейоза (рис. 1а).

Следующая фаза мейоза – метафаза I, во время которой биваленты выстраиваются в средней части веретена деления клетки, ориентируясь центромерами гомологичных хромосом к противоположным полюсам веретена (рис. 1б).

В анафазе I гомологичные хромосомы с помощью нитей веретена расходятся к полюсам; при этом каждая хромосома пары может отойти к любому из двух полюсов, независимо от расхождения хромосом других пар. В отличие от анафазы митоза центромеры хромосом не расщепляются и продолжают скреплять 2 хроматиды в хромосоме, отходящей к полюсу (рис. 1в, г).

В телофазе I у каждого полюса начинается деспирализация хромосом и формирование дочерних ядер и клеток (рис. 1д).

Далее следует короткая интерфаза без редупликации ДНК – интеркинез, и начинается второе деление мейоза. Второе мейотическое деление больше похоже на митоз.

В метафазе II можно наблюдать два веретена и хромосомы, состоящие из двух хроматид. Хромосомы прикреплены

центромерами к нитям веретена и выстроены строго в его экваториальной плоскости (рис. 1е).

В анафазе II (подобно митозу) центромеры делятся и сестринские хроматиды (теперь уже дочерние хромосомы) расходятся вслед за половинками центромер к противоположным полюсам веретена (рис. 1ж).

В телофазе II образуются ядерные оболочки, спирализация хромосом ослабевает, появляется ядрышко, и формируются клеточные оболочки между дочерними клетками (рис. 1з).

Тетрады образуются по симультанному типу (рис. 1и). При симультанном типе образования тетрад после мейоза I цитокинез отсутствует. Четыре клетки микроспор возникают одновременно после мейоза II путем заложения борозд в виде впячиваний оболочки микроспороцита от периферии к центру клетки. Тип тетрад – тетраэдральный.

Далее каждая микроспора тетрады покрывается двумя оболочками – экзиной и интиной – и превращается в одноядерное пыльцевое зерно (рис. 1к). Пыльцевые зерна жимолости сфероидальные, с 3-4 порами (рис. 1л).

Главной особенностью для жимолости является асинхронность деления как в пределах одного цветка, так и в пределах одного пыльника (рис. 1м).

В большинстве изученных микроспороцитах сортов, характеризующихся высокой фертильностью (Синяя птица, Голубое веретено, Камчадалка, Памяти Гидзюка, Огненный Опал), мейоз проходил по классической схеме: регулярно и с правильным расхождением хромосом к полюсам. В то же время у сортов и отборных форм с большим количеством стерильной пыльцы (Берель, Салют, Сириус, Галочка, № 5-108-81), нами были обнаружены нарушения на разных стадиях мейоза.

Так, у сорта Сириус мы наблюдали образование трех телофазных групп хромосом в первом делении (рис. 2а), скорее всего вызванное аномалией веретена, а также образование неравных по размеру микроспор в тетраде (рис. 2б) [12]. Данные нарушения могли приводить к формированию стерильных пыльцевых зерен (рис. 2в). В целом, количество мейоцитов у этого сорта было снижено по сравнению с высокофертильными сортами.

У сорта Салют наблюдалось образование неоднородных по размеру микроспор



в тетраде, пентад, триад (рис. 3а-в). По всей видимости, это является следствием аномалий веретена, асинхронности деления и т.п. Согласно исследованиям причиной появления пентад является формирование трехполюсных полиаркальных веретен во втором мейотическом делении [12].

У сорта Галочка отмечали неправильное расхождение хромосом в анафазе

второго деления, аномальные веретена деления, а также три телофазные группы хромосом в конце первого деления и образование пентад (рис. 4).

У отборной формы № 5-108-81 наблюдалось формирование аномальных веретен во втором делении и, как результат, формирование аномальных пыльцевых зерен (рис. 5).

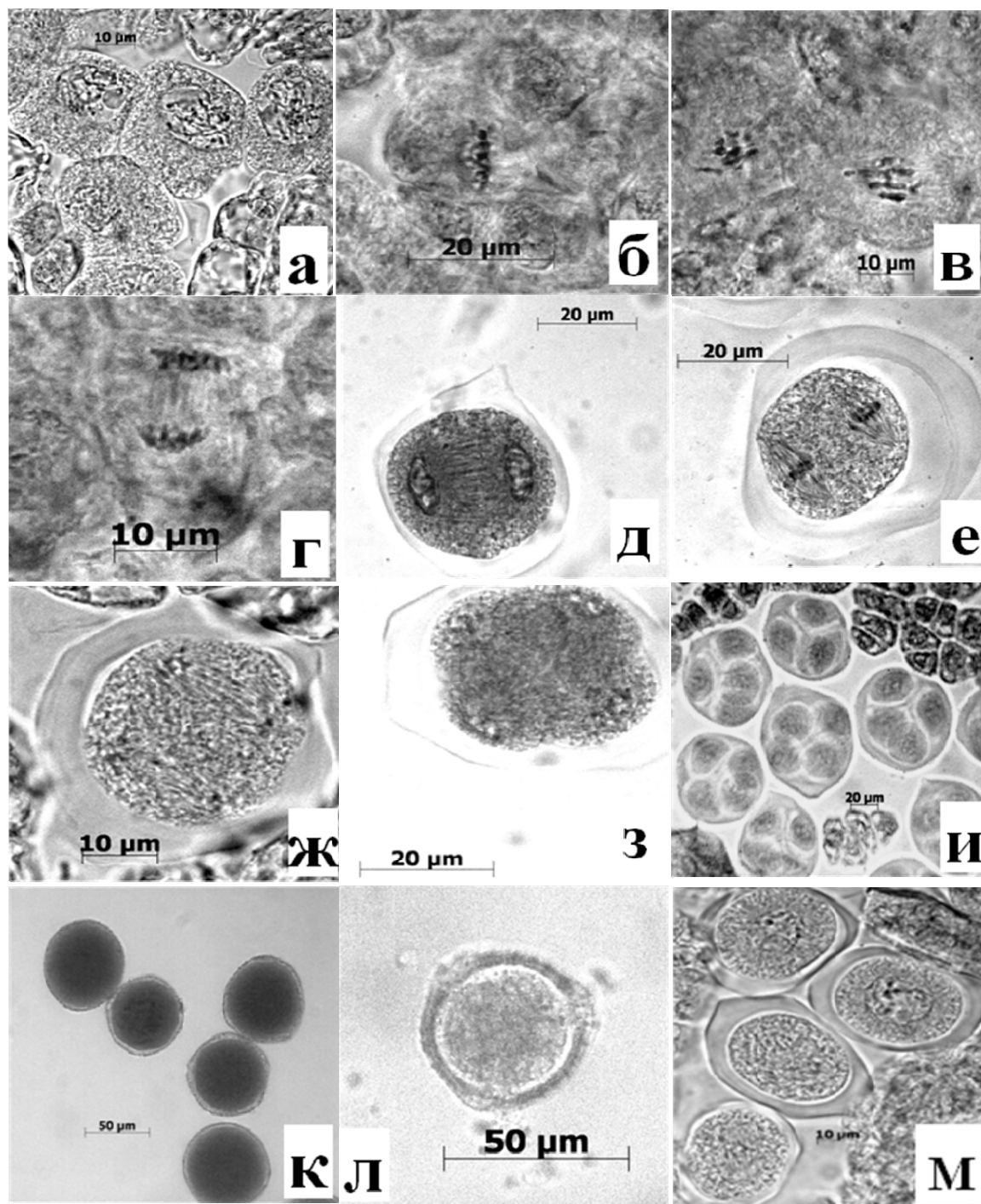


Рис. 1. Нормальное прохождение мейоза:  
 а – профазы I; б – метафаза I; в, г – анафаза I (начало и конец соответственно); д – телофаза I;  
 е – метафаза II; ж – анафаза II; з – телофаза II; и – тетрады; к – фертильные пыльцевые зерна;  
 л – пыльцевое зерно с порами; м – профазы I, метафаза I и анафаза I

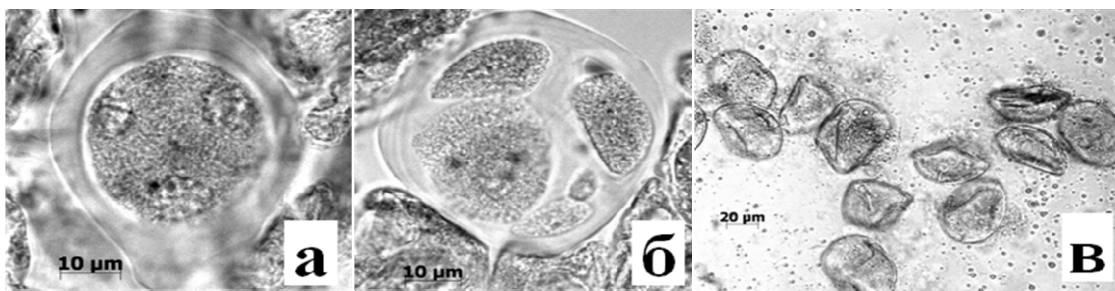


Рис. 2. Аномалии мейоза у сорта Сириус:  
а – три телофазные группы на стадии телофазы I;  
б – неравные по размеру микроспоры на стадии тетрады; в – стерильные пыльцевые зерна

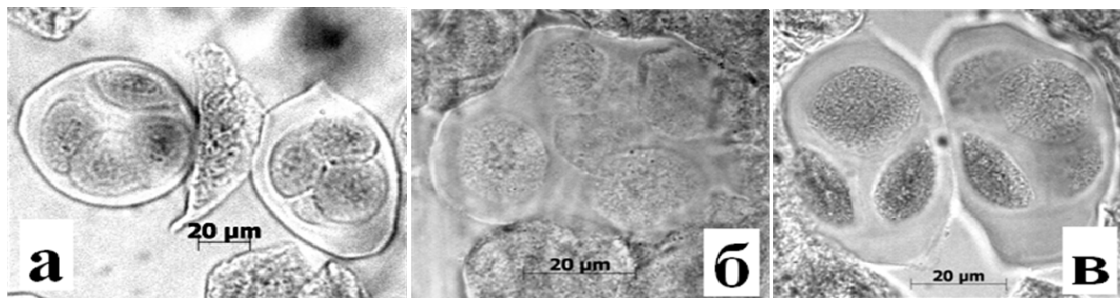


Рис. 3. Аномалии мейоза у сорта Салют:  
а – неоднородные по размеру микроспоры в тетраде;  
б – пентада; в – триада рядом с нормальной тетрадой

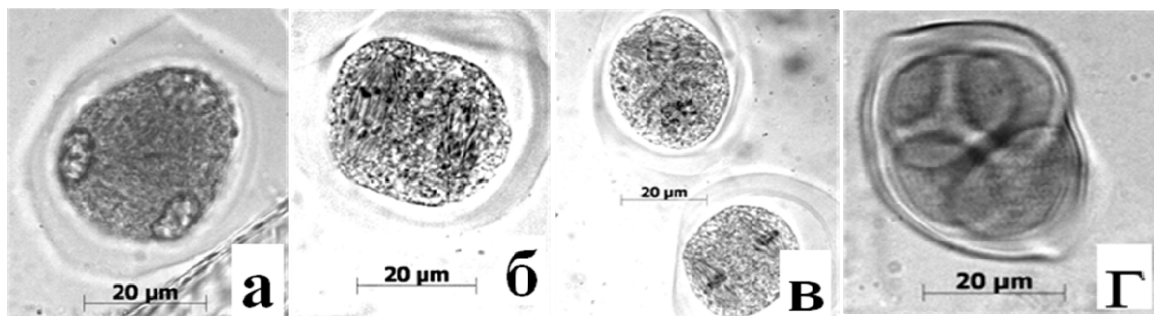


Рис. 4. Аномалии мейоза у сорта Галочка:  
а – три телофазные группы хромосом, б – неравномерное расхождение хромосом,  
в – в верхней клетке одно из веретен аномальное; г – пентада

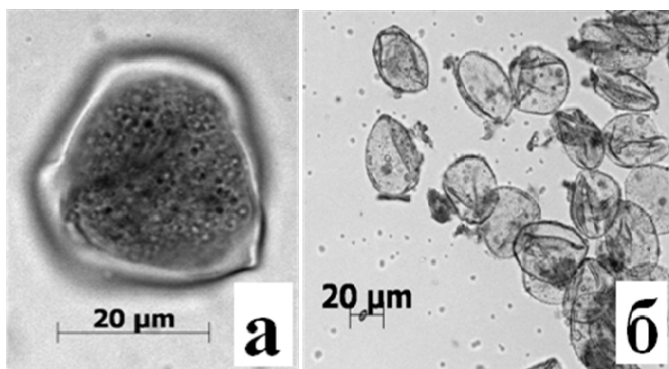


Рис. 5. Аномалии мейоза у отборной формы № 5-108-81:  
а – аномальное веретено на стадии анафазы II; б – стерильные пыльцевые зерна



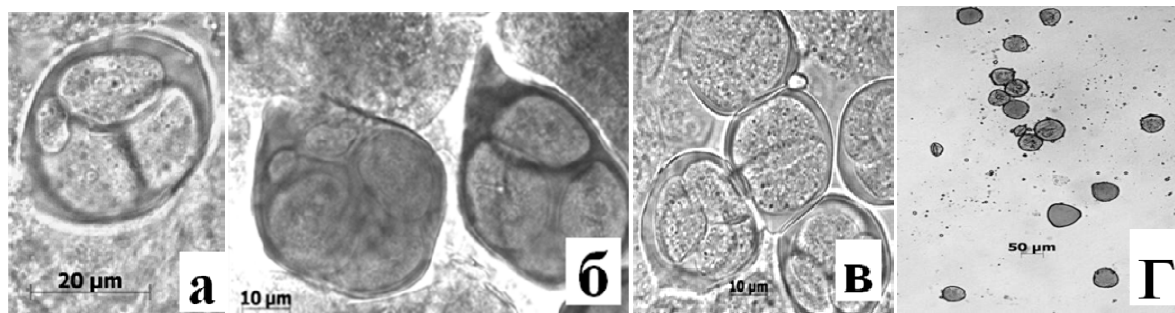


Рис. 6. Сорт Берель: а – микроспоры различаются по размерам, б – пентада, в – диада; г – неоднородные по размеру фертильные и стерильные пыльцевые зерна

У сорта Берель нами было зафиксировано на стадии тетрад образование неоднородных по размеру микроспор, пентад, а также образование диад (рис. 6а-в). Как следствие этих нарушений наблюдалось формирование неоднородных по размеру фертильных и стерильных пыльцевых зерен (рис. 6г).

#### Заключение

Проведенные исследования показали наличие сходных нарушений мейоза в процессе микроспорогенеза у образцов, полученных из семян собранных в природной популяции Рудного Алтая, а также у гибридного сорта с участием родительской формы этого же происхождения. Поскольку отмеченные мейотические аномалии наблюдались в двух поколениях, мы можем предполагать, что причиной этих нарушений могут быть мейотические мутации.

#### Библиографический список

1. Скворцов А.К. Голубые жимолости: Ботаническое изучение и перспективы культуры в средней полосе России / А.К. Скворцов, А.Г. Куклина. – М.: Наука, 2002. – 160 с.
2. Плеханова М.Н. Жимолость / М.Н. Плеханова // Нетрадиционные садовые культуры. – Мичуринск: ВНИИС, 1994. – С. 99-149.
3. Жолобова З.П. Жимолость: история, состояние и перспективы культуры в Сибири / З.П. Жолобова, Г.А. Прищепина. – Барнаул: Изд-во АГАУ, 2003. – 108 с.
4. Боярских И.Г. Оценка фертильности зрелого мужского гаметофита представителей *Lonicera caerulea* L. / И.Г. Боярских // Ботанические исследования в азиатской России: матер. XI съезда Русского

ботанического общества. – Барнаул: Азбука, 2003. – Т 2. – С. 130-131.

5. Боярских И.Г. Биологические особенности опыления и оплодотворения сортов жимолости синей разного географического происхождения / И.Г. Боярских // Состояние и перспективы развития нетрадиционных садовых культур: матер. Междунар. науч.-метод. конф. – Воронеж: Кварта, 2003. – С. 88-93.

6. Ретина Т.А. Наблюдения над развитием цветка и цветением голубых жимолостей / Т.А. Ретина // Биол. науки. – 1974. – № 3. – С. 57-62.

7. Артюшенко З.Т. Развитие цветка и плода у жимолостных / З.Т. Артюшенко // Тр. БИН АН СССР. – Сер. 7. – 1951. – Вып. 2. – С. 131-169.

8. Плеханова М.Н. Особенности опыления и оплодотворения жимолости подсемейства *Saeruleae* Rehd. / М.Н. Плеханова, М.А. Вишнякова // Тр. по прикл. ботанике, генетике и селекции. – 1986. – Т. 99. – С. 111-115.

9. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений / З.П. Паушева. – М.: Колос, 1989. – 304 с.

10. Романова Л.И. Особенности микроспорогенеза у лиственницы сибирской, растущей в условиях техногенной нагрузки / Л.И. Романова, И.Н. Третьякова // Онтогенез. – 2005. – Т. 36. – № 2. – С. 128-134.

11. Шкутина Ф.М. Мейоз у отдаленных гибридов и амфидиплоидов / Ф.М. Шкутина // Цитология и генетика мейоза. – М.: Наука, 1975. – С. 292-311.

12. Шамина Н.В. Многополюсные веретена в мейозе у высших растений / Н.В. Шамина, О.А. Шацкая, Н.В. Соловьева, Е.А. Блинова // Цитология. – 2006. – Т. 48. – № 2. – С. 114-119.

