

**МИКРОСПОРОГЕНЕЗ И РАЗВИТИЕ ПЫЛЬЦЕВЫХ ЗЕРЕН У ГИБРИДОВ ОБЛЕПИХИ КРУШИНОВИДНОЙ (*Hippophaë rhamnoides* L.) РАЗНОГО ЭКОЛОГО-ГЕОГРАФИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ**Т.Н. КУЗНЕЦОВА<sup>1</sup>, Д.А. ЛАПШИН<sup>2</sup>

Облепиха крушиновидная (*Hippophaë rhamnoides* L.) представляет интерес как пищевое и лекарственное растение. Ее плоды содержат витамины С, В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, Е, Р, полиненасыщенные жирные кислоты, каротин, другие биологически активные вещества. Основным лимитирующим фактором интродукции облепихи служит температурный режим зимне-весеннего периода, причем к неблагоприятным условиям наиболее чувствительна мужская генеративная сфера. Мы изучали микроспорогенез у гибридов *Hippophaë rhamnoides* L. разного эколого-географического происхождения селекции Нижегородской государственной сельскохозяйственной академии. Проводили мониторинг этапов микроспорогенеза и развития пыльцевого зерна. Стадию развития мужского гаметофита определяли на давленных временных препаратах. По результатам исследований выделены две группы гибридов, различающихся по срокам начала и протекания отдельных этапов микроспорогенеза. К первой группе относятся гибриды с преобладанием морфофизиологических признаков катунского (Дебют, 5/87, 1/89 и 1/91), ко второй — прибалтийского (Геракл, 31/89, 1/90 и 5/93) экотипа. У гибридов из первой группы начало микроспорогенеза и образование тетраад микроспор происходят при более низких суммах положительных температур (соответственно 48,5-49,5 и 114,8-118,5 °С), чем у гибридов из второй группы (62,0-71,1 и 135,6-147,0 °С). При этом созревание пыльцы и цветение (пыление) мужских растений у изученных экотипов протекают практически одновременно при сумме положительных температур соответственно от 171,8 до 216,6 °С и от 276,3 до 343,9 °С.

**Ключевые слова:** облепиха крушиновидная, гибриды, микроспорогенез, сумма положительных температур.

**Keywords:** sea buckthorn, hybrids, microsporogenesis, sum of positive temperatures.

В процессе онтогенеза растительные организмы испытывают воздействие комплекса абиотических и биотических факторов, но часто один из них становится лимитирующим и настолько мощным, что другими можно пренебречь. Изучение влияния внешних факторов на репродуктивный процесс растений имеет важное значение для интродукции и селекции.

Облепиха крушиновидная (*Hippophaë rhamnoides* L.) интродуцирована относительно недавно и представляет интерес как пищевое и лекарственное растение. Ее плоды содержат витамины С, В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, Е, Р, полиненасыщенные жирные кислоты, каротин и другие биологически активные соединения. *H. rhamnoides* используют как источник дубильных и красящих веществ, а также как противоэрозионную культуру. Ее природные популяции занимают большие площади на территории России и стран бывшего СССР. В границах ареала *H. rhamnoides* сформировались надежно изолированные и хорошо оформленные экотипы и более мелкие внутривидовые таксоны — климатипы (1-3), среди которых наибольшее значение в селекции мужских и женских растений получили прибалтийский и катунский экотипы. Климатические (4-8) и эдафические условия произрастания (9, 10) у облепихи изучены достаточно подробно. Основной лимитирующий фактор в интродукции облепихи — температурный режим зимне-весеннего периода.

В работах М.А. Коровиной (11), В.В. Селехова (12), М.П. Смертина (13), посвященных изучению зимостойкости в условиях Нижегородской области, установлено, что к неблагоприятным условиям зимне-весеннего периода наиболее чувствительна мужская генеративная сфера. Однако данные о влиянии температурного режима на начальные этапы репродуктивного процесса у мужских растений облепихи крушиновидной в доступной научной литературе отсутствуют.

Известно, что развитие пыльников у *H. rhamnoides* происходит в два этапа в течение двух вегетационных периодов. Первый этап (от археспориальной клетки до образования спорогенной ткани и стенки пыльника) протекает с конца июля по октябрь, второй (микроспорогенез и формирование пыльцевых зерен) — весной (14-16).

Цель нашей работы — установить зависимость между особенностями микроспорогенеза у мужских гибридов *Hippophaë rhamnoides* разного эколого-географического происхождения и температурным режимом в весенний период.

**Методика.** Исследования проводили в 2005-2007 годах на базе Нижегородской государственной сельскохозяйственной академии (НГСХА). Объектами исследований были пыльники и мужские гаметофиты 8 перспективных селекционных гибридов *H. rhamnoides* разного эколого-географического происхождения селекции НГСХА, которые можно условно разделить на две группы (соответственно I и II) — с преобладанием морфофизиологических признаков катунского (Дебют, 5/87, 1/89, 1/91) и прибалтийского (Геракл, 31/89, 1/90, 5/93) экотипов. Всего в опыте проанализировали 40 мужских растений.

Пробы для цитологического анализа начинали отбирать после перехода среднедекадных температур через 0 °С из середины кроны (не менее 15 соцветий с каждого гибрида). Ежегодно осуществляли по 15-16 отборов в зависимости от года исследования. Особенности развития мужского гаметофита изучали по каждому ярусу соцветия (верхний, средний и нижний) отдельно. Этапы развития гаметофита определяли на давленных временных препаратах по общепринятой методике с окрашиванием ацетокармином (17, 18).

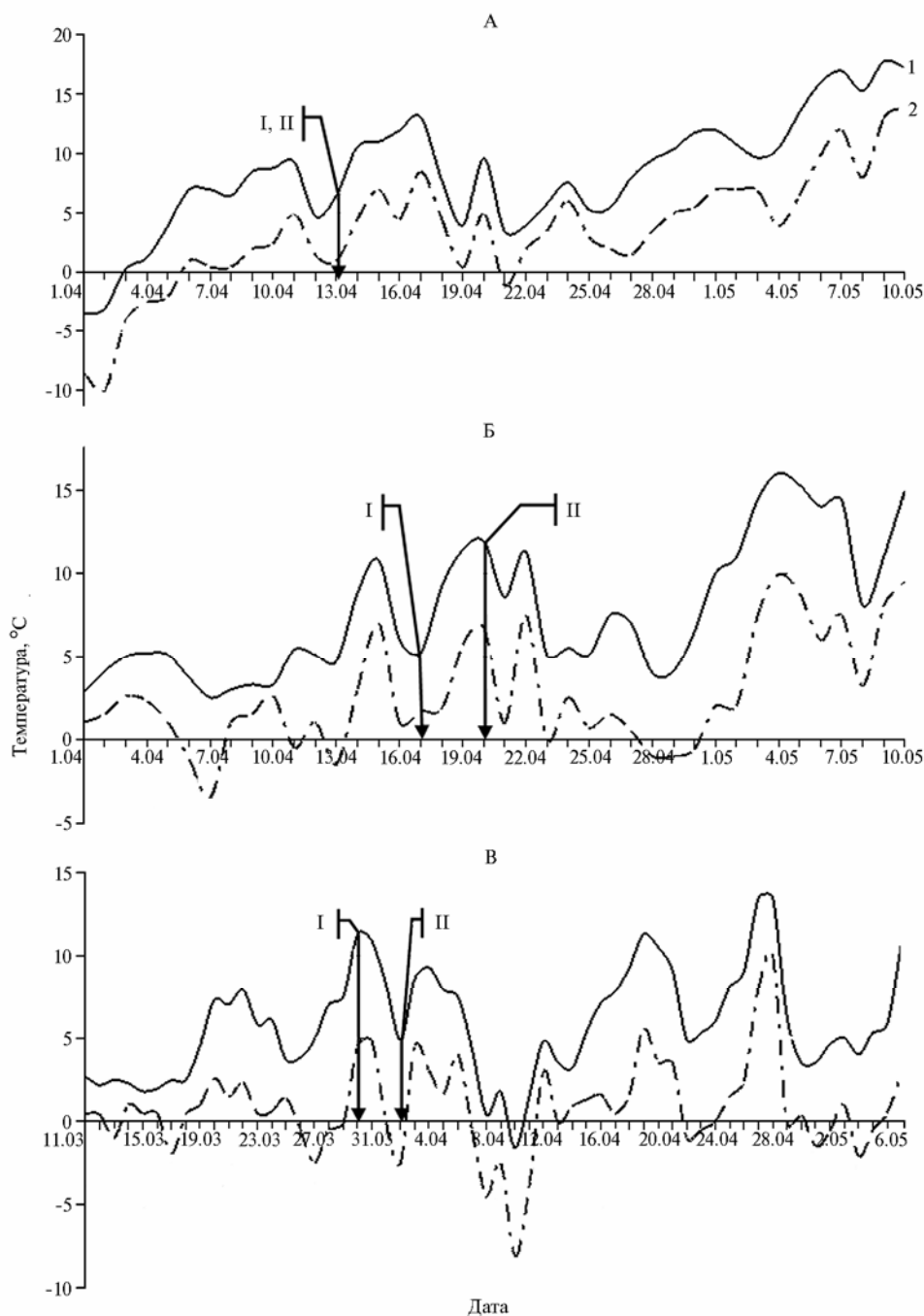
**Результаты.** Известно, что деление клеток в генеративных почках облепихи крушиновидной начинается при переходе среднесуточных температур через 0 °С (19). По данным В.Р. Кондорской (14), О.Б. Проскуриной (20), полученным в Ленинградской области, и И.А. Касимовской (21) — в Тамбовской области, этот период приходится на II декаду апреля. В литературе мы не обнаружили сведений о соответствии между этапами микроспорогенеза и значениями сумм положительных температур, хотя подобное установлено для распускания листьев, завязывания плодов и сроков их созревания.

Определение стадий развития мужского гаметофита у облепихи крушиновидной осложнено тем, что микроспорогенез в бутонах из разных частей соцветия протекает асинхронно. В нижних бутонах он начинался раньше, и это согласуется с данными литературы (14, 22). Стадии развития пыльников из разных частей одного соцветия не совпадали. Наиболее заметные различия отмечались на первых этапах микроспорогенеза. Вместе с тем пыление соцветия в целом происходило синхронно.

Как и у других цветковых растений (23), у *H. rhamnoides* о стадии развития мужского гаметофита можно судить по размерам и окраске пыльников. При этом более четкие различия между изучаемыми группами гибридов проявлялись в период активного деления спорогенной ткани: строение пыльника оказалось идентичным у всех форм *H. rhamnoides*, схема развития мужского гаметофита — единой, однако сроки начала этапов микроспорогенеза были разными (рис. 1, 2).

Согласно данным, полученным в 2005 году, в пробе, отобранной 11 апреля, обнаруживали лишь сформированный тапетум и спорогенную ткань. В единичных бутонах отмечалось незначительное увеличение клеток тапетума и начало цитокинеза. Первое деление мейоза в нижних бутонах происходило 13 апреля (см. рис. 1, 2), в верхних бутонах в это время

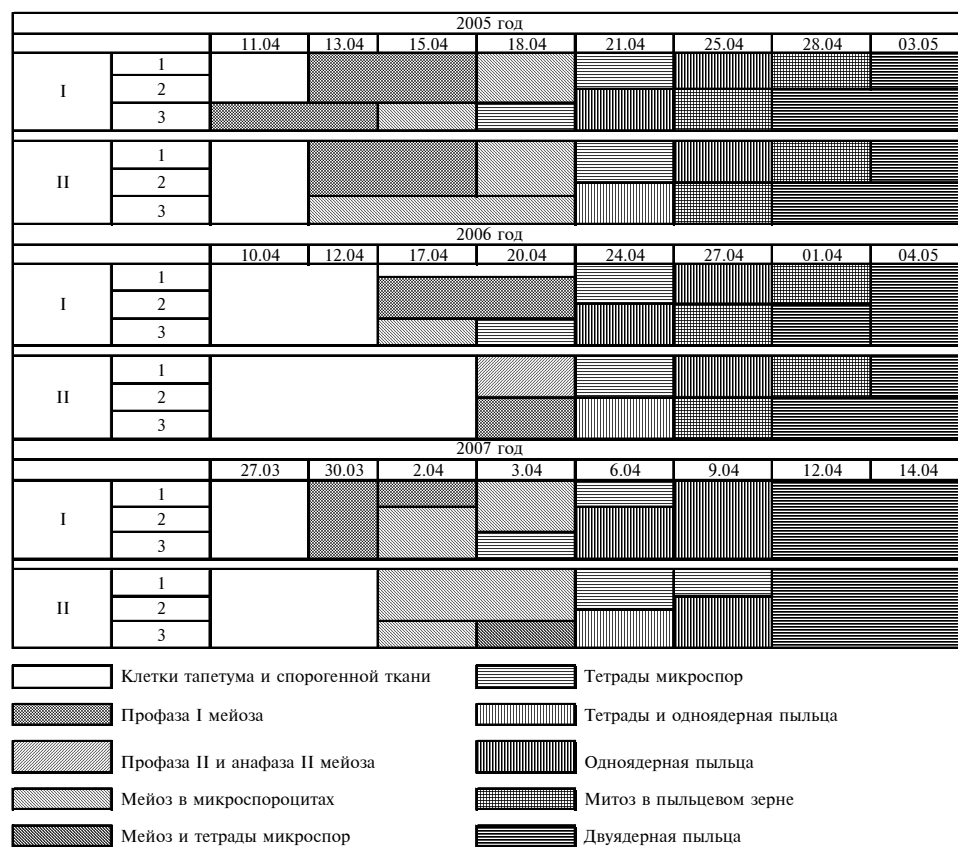
наблюдали только микроспороциты.



**Рис. 1.** Среднесуточные (1) и минимальные (2) температуры в весенний период по годам наблюдения: А — 2005, Б — 2006, В — 2007 год. Стрелками отмечено начало микроспорогенеза у гибридов облепихи (*Hippophaë rhamnoides* L.) с преобладанием морфофизиологических признаков катунского (I) и прибалтийского (II) экотипа (учебная база Нижегородской государственной сельскохозяйственной академии).

В 2005 году не удалось установить различий между гибридами по времени начала мейоза, поскольку он проходил в сжатые сроки — с 13 по 18 апреля (см. рис. 2). Мы связываем этот факт с интенсивным ростом положительной температуры (см. рис. 1). С 13 по 18 апреля она не опускалась ниже 1 °С, сумма положительных температур набиралась быстро и

составила 61,0 °С. Для обнаружения отличительных особенностей микро-спорогенеза требуется, как мы полагаем, более плавное увеличение положительных температур. Началу мейоза в 2005 году соответствовала сумма положительных температур, равная 64,0 °С.



**Рис. 2.** Этапы микроспорогенеза у гибридов облепихи (*Hippophaë rhamnoides* L.) с преобладанием морфофизиологических признаков катунского (I) и прибалтийского (II) экотипа по датам отбора проб: 1 — верхние, 2 — средние, 3 — нижние бутоны соцветия (учебная база Нижегородской государственной сельскохозяйственной академии).

В 2006 году (см. рис. 1, 2) начало мейоза у гибридов из I группы (Дебют, 5/87, 1/89 и 1/91) происходило раньше (17 апреля), чем у гибридов из II группы (Геракл, 31/89, 1/90 и 5/93) (20 апреля). У форм с преобладанием морфофизиологических признаков катунского экотипа встречались единичные соцветия, в цветках нижнего яруса которых начало мейоза отмечали уже 12 апреля.

Плавный рост положительных температур, а также низкие положительные температуры в начале апреля и отрицательные температуры ночью 11 и 13 апреля 2006 года способствовали проявлению четких различий по срокам протекания этапов микроспорогенеза между гибридами разного эколого-географического происхождения (см. рис. 1). Сумма положительных температур с 17 по 20 апреля составила 37,7 °С. Начало мейоза в 2006 году у гибридов с преобладанием морфофизиологических признаков катунского экотипа отмечали при сумме положительных температур 48,5 °С, прибалтийского — 62,0 °С (см. рис. 1, 2).

Осенне-зимний период 2006-2007 годов характеризовался экстремальными погодными условиями (продолжительная теплая осень, зима с неустойчивым температурным режимом), которые привели к истощению и

гибели растений у гибридов Дебют, 1/90 и 5/93. Весной 2007 года средние декадные температуры превысили 0 °С очень рано. В целом положительные температуры росли постепенно, но в ночные часы отмечались значения ниже 0 °С. Образование микроспороцитов и первое деление мейоза у гибридов с преобладанием морфофизиологических признаков катунского экотипа происходили значительно раньше (30 марта), чем у растений с преобладанием прибалтийского экотипа (2 апреля) (см. рис. 1, 2). У первых мейоз начался при сумме положительных температур 84,0 °С, у вторых — 114,4 °С (см. рис. 1). Значительные различия в суммах положительных температур обусловлены, как мы полагаем, продолжительным понижением температур в ночные часы (17 марта, 26-29 марта и 1-2 апреля). Учитывая, что с 26 по 30 марта активная дифференциация тканей в пыльниках не наблюдалась, начало мейоза по группам соответствовало сумме положительных температур, равной 49,5 и 71,7 °С.

Можно предположить, что при спаде ночных температур до 0 °С и ниже в период подготовки спорогенной ткани и микроспороцитов к мейозу величина необходимой для его начала суммы положительных температур возрастает.

Образование тетрад микроспор во все годы исследования у гибридов Дебют, 5/87, 1/89 и 1/91 начиналось в более ранние сроки (18 апреля 2005 года, 20 апреля 2006 года и 3 апреля 2007 года) (см. рис. 2), чем у гибридов с преобладанием морфофизиологических признаков прибалтийского экотипа (21 апреля 2005 года, 24 апреля 2006 года и 6 апреля 2007 года). Начало образования тетрад у первых было отмечено при сумме положительных температур 114,8-118,5 °С, у вторых — 135,6-147,0 °С.

Формирование одноядерных пыльцевых зерен у всех исследуемых форм не зависело от эколого-географического происхождения и протекало примерно в одни и те же сроки, период распада тетрад на микроспоры и начала образования одноклеточной пыльцы был крайне скоротечен (см. рис. 2). Когда в нижних бутонах соцветия наблюдали стадию одноклеточных пыльцевых зерен, которые имели не полностью сформированную оболочку и цитоплазму, в верхних бутонах присутствовали лишь тетрады микроспор. Во все годы наблюдений у гибрида Дебют единичные зрелые двуядерные пыльцевые зерна обнаруживали в более ранние сроки, чем у остальных. В зрелом состоянии пыльцевые зерна находились в пыльниках до начала пыления. Мы установили, что зрелая двуядерная пыльца формировалась при сумме положительных температур от 171,8 до 216,6 °С. Пыльца у всех растений полностью созревала 3 мая 2005 года, 4 мая 2006 года и 12 апреля 2007 года (см. рис. 2).

Пыление начиналось практически одновременно и не зависело от эколого-географического происхождения родительских форм. Следует отметить, что во все годы исследований только у сорта Геракл пыление начиналось на 12-24 ч раньше, чем у остальных гибридов. В 2005-2006 годах пыление облепихи продолжалось 2-3-е сут, в 2007 году — 7-8 сут, что было связано, по нашему мнению, с понижением среднесуточных температур и увеличением влажности воздуха в период цветения мужских гибридов и согласуется с данными других авторов (12, 24). Пыление начиналось при сумме положительных температур 276,3-343,9 °С. Данные 2007 года представляют особый интерес, поскольку от созревания пыльцы до пыления прошло 20 сут.

Таким образом, у гибридов облепихи с преобладанием морфофизиологических признаков катунского экотипа начало микроспорогенеза и образование тетрад микроспор происходит при более низких суммах по-

ложительных температур (соответственно 48,5-49,5 и 114,8-118,5 °С), чем у гибридов с преобладанием морфофизиологических признаков прибалтийского экотипа (62,0-71,1 и 135,6-147,0 °С). Различий между гибридами по срокам пыления (цветения) не выявлено. Основные факторы, от которых зависит начало пыления, — это зрелость пыльцы облепихи и погодные условия в период цветения (температура и атмосферная влажность). Понижение температуры и увеличение влажности воздуха приводят к отсрочке пыления. На наш взгляд, практическое значение имеет поиск опылителей с более продолжительным (растянутым) пылением и отбор мужских гибридов облепихи с разными сроками начала цветения, что позволит эффективно проводить опыление женских растений и получать высокие урожаи.

#### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Елисеев И.П. Некоторые соображения о систематике рода *Hippophaë* L. Плодовые и ягодные культуры. Тр. Горьковского СХИ, 1974, т. 77: 60-72.
2. Rousi A. Evolutionary relationship and systematics in *Hippophaë*. Proc. Int. Symp. on sea buckthorn (*H. rhamnoides* L.). P. Xian, China, 1989: 17-20.
3. Бессётов В.П., Кентбаев Е.Ж. Популяционная структура естественных насаждений облепихи в Казахстане. В сб. тр. Нижегородской ГСХА: Селекция, интродукция плодовых и ягодных культур. Нижний Новгород, 2003: 60-62.
4. Бородина Н.А. Полиплоидия в интродукции древесных растений. М., 1982: 56-57.
5. Корзинников Ю.С., Крымская Н.Б., Гачечиладзе Н.Д. Особенности биологии и морфологии облепихи Западного Памира. В сб. науч. тр.: Биология, химия и фармакология облепихи. Новосибирск, 1983: 19-24.
6. Игошина В.Г., Елисеев И.П., Трушечкин В.Г., Гоголева Г.А. Зимостойкость сеянцев облепихи разных эколого-географических групп в условиях Нечерноземной зоны. В сб. науч. тр. ГСХИ: Биологические аспекты интродукции, селекции и агротехники облепихи. Горький, 1985: 100-105.
7. Авдеев В.И. К истории рода *Hippophaë* L. В сб. науч. тр.: Биология, селекция и агротехника плодовых и ягодных культур. Нижний Новгород, 1991: 18-22.
8. Созонова Л.И. Плод облепихи. В кн: Закономерности развития и строения в связи с накоплением масла. Нижний Новгород, 1991.
9. Бессётов В.П. Селекционная оценка облепиховых зарослей. Вестник с.-х. науки Казахстана, 1975, 4: 93-96.
10. Елисеев И.П. Онтогенез и продолжительность жизни особей *Hippophaë rhamnoides* L. в культуре. В сб.: Биологические основы повышения продуктивности и охраны лесных, луговых и водных фитоценозов. Горький, 1975, вып. 4: 3-11.
11. Коровина М.А. Роль абиотических факторов в интродукции облепихи крушиновой (*Hippophaë rhamnoides* L.). Автореф. канд. дис. Нижний Новгород, 2000.
12. Селехов В.В. Селекционно-биологическая оценка мужских форм облепихи. Автореф. кад. дис. Брянск, 2000.
13. Смертин М.П. Селекционный потенциал зимостойкости сортов и гибридов облепихи крушиновидной (*Hippophaë rhamnoides* L.). Автореф. канд. дис. Брянск, 2006.
14. Кондорская В.Р. Морфология тычиночного цветка и развитие мужского гаметофита облепихи. Науч. докл. высшей школы. Биол. науки, 1967, 4: 69-75.
15. Кондорская В.Р. Анатомо-морфологическое исследование облепихи (*Hippophaë rhamnoides* L.). Автореф. канд. дис. М., 1973.
16. Камелина О.П., Проскурина О.Б. Семейство *Elaeagnaceae*. Сравнительная эмбриология цветковых растений. *Davidiaceae—Asteraceae*. Л., 1987: 105-110.
17. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. М., 1988.
18. Барыкина Р.П., Веселова Т.Д., Девятов А.Г., Джалилова Х.Х., Ильина Г.М., Чубатова Н.В. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы. М., 2004.
19. Фаустов В.В. Особенности цветения и плодоношения облепихи крушиновидной. Известия ТСХА, 1975, вып. 3: 137-146.
20. Проскурина О.Б. Эмбриология семейства *Elaeagnaceae*. Автореф. канд. дис. Л., 1990.
21. Касимовская И.А. Оценка сортов облепихи в условиях Центрально-черноземного региона. Автореф. канд. дис. Мичуринск, 2004.
22. Ильина Н.А. Развитие цветочных почек у облепихи в условиях Челябинска. В сб. науч. тр.: Физиология, экология и агротехника садовых культур. Новосибирск, 1985: 107-115.
23. Scott R., Hodge R., Paul W., Draper J. The molecular biology of anther differentiation. Plant Sci., 1991, 80: 167-191.
24. Фелелов В.А. Особенности цветения и оплодотворения облепихи крушиновидной. В

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия,  
603107 г. Нижний Новгород, просп. Гагарина, 97,  
e-mail: Lapshin-da@yandex.ru;  
<sup>2</sup>Филиал ФГУ Рослесозащита — Центр защиты леса Нижегородской области,  
603034 г. Нижний Новгород, ул. Тельмана, 5

Поступила в редакцию  
22 ноября 2010 года

## MICROSPOROGENESIS AND DEVELOPMENT OF POLLEN GRAIN IN HYBRIDS OF SEA BUCKTHORN (*Hippophaë rhamnoides* L.) OF VARIOUS ECOGEOGRAPHIC ORIGIN

T.N. Kuznetsova<sup>1</sup>, D.A. Lapshin<sup>2</sup>

### S u m m a r y

*Hippophaë rhamnoides* L. is of interest as feed and medicinal plant. Its fruits contain the C, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, E, P vitamins, polyunsaturated fatty acids, carotene, other biologically active compounds. The temperature conditions during winter-spring period is main limiting factor in sea-buckthorn introduction, and the male generative sphere is the most sensitive to unfavorable conditions. The authors investigated a microsporogenesis in *Hippophaë rhamnoides* L. hybrids of various ecogeographic origin of Nizhny Novgorod State Agricultural Academy breeding. The stage of male gametophyte development was determined on squash temporary preparation. As result of analysis the two groups of hybrids were revealed, which differ on the time of beginning and a course of the definite stages of microsporogenesis. The first group involves the hybrids with prevalence of morphophysiological determinants of Katunskii ecotype (Debyut, 5/87, 1/89 and 1/91), the second one — with prevalence of morphophysiological determinants of Baltic ecotype (Gerakl, 31/89, 1/90 and 5/93). In hybrids of the first group the beginning of microsporogenesis and the formation of microspore tetrads occur at the low sum of positive temperatures (respectively, 48.5-49.5 and 114.8-118.5 °C) than in hybrids from second group (62.0-71.1 and 135.6-147.0 °C). However, the maturation of pollen and blossoming (anthesis) of male plants in studying ecotypes pass practically at the same time, at the sum of positive temperatures from 171.8 to 216.6 °C and from 276.3 to 343.9 °C, respectively.

### Научные собрания

#### X МЕЖДУНАРОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ «БИОЛОГИЯ КЛЕТОК РАСТЕНИЙ in vitro И БИОТЕХНОЛОГИЯ»

(14-18 октября 2013 года, г. Казань)

##### Основные тематические направления:

- ❖ Молекулярно-биологические, генетические, биохимические, цитологические, физиологические особенности культур клеток растений
- ❖ Регуляция морфогенеза растительных клеток in vitro
- ❖ Культивируемые клетки растений как модель для изучения механизмов фундаментальных клеточных процессов
- ❖ Генетически трансформированные клетки, изолированные органы и растения
- ❖ Коллекции культур клеток и тканей растений и методы сохранения генофонда
- ❖ Использование культур клеток растений в промышленной биотехнологии
- ❖ Использование культур клеток растений в сельскохозяйственной биотехнологии

Контакты и информация: <http://www.kibb.knc.ru/Kazan2013/index>, [invitro2013@gmail.com](mailto:invitro2013@gmail.com)

### Новые книги

Игнатьева И.П., Андреева И.И. **Метаморфозы вегетативных органов покрытосеменных.** М.: изд-во «КолосС», 2008, 348 с.

Рассмотрены метаморфозы вегетативных органов растений влажных тропиков (деревьев дождевых тропических лесов, пресноводных болот и мангров, деревьев-удушителей, эпифитов, насекомоядных растений) и аридных областей (ксе-

рофитов, суккулентов, галосуккулентов, эфемеров-геофитов и эфемеров-терофитов). Среди описанных много сельскохозяйственных и цветочных культур: картофель, морковь и другие корнеплоды, тыквенные, виноград, гладиолус, ирис, лилии и др. Биоморфологическая характеристика дается в связи с жизненными формами, экологическими факторами и географией, что составляет важнейшую особенность работы.