

УДК 582.916.16:581.34

## ФОРМИРОВАНИЕ МУЖСКОЙ ГЕНЕРАТИВНОЙ СФЕРЫ У *Jasminum nudiflorum* Lindl. (Oleaceae)

Т.Н. Кузьмина

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН, г. Ялта,  
298648, Россия

### Аннотация

Представлены результаты изучения генезиса стенки пыльника и мужского гаметофита жасмина голоцветкового (*Jasminum nudiflorum* Lindl., сем. Oleaceae). Показано, что стенка сформированного пыльника образована эпидермой, эндотецием, средними слоями и нерегулярно двухслойным тапетумом секреторного типа. Спорогенная ткань представлена двумя слоями клеток. Микроспорогенез идет по симультанному типу. Стенка зрелого пыльника образована эпидермой, покрытой кутикулой, и нерегулярно двухслойным эндотецием с фиброзными утолщениями. Проведен морфометрический и цитоморфологический анализ зрелых пыльцевых зерен растений *J. nudiflorum*, произрастающих на Южном берегу Крыма. Высокая доля морфологически нормальных пыльцевых зерен (около 85%) свидетельствует о потенциальной способности мужской генеративной сферы данного вида к эффективному оплодотворению при благоприятных метеоусловиях.

**Ключевые слова:** *Jasminum nudiflorum*, Oleaceae, пыльник, микроспорангий, тапетум, эндотеций, пыльцевое зерно

### Введение

Родиной жасмина голоцветкового (*Jasminum nudiflorum* Lindl.) – зимне-весенне цветущего кустарника, относящегося к семейству Oleaceae, является Китай [1]. Вид интродуцирован в Крым как декоративное растение. В условиях Южного берега Крыма *J. nudiflorum* обильно цветет в период с ноября по апрель, однако плоды у него образуются крайне редко. Как известно, отсутствие семенного возобновления может быть связано со стерильностью гаметофитов (пыльцевых зерен и зародышевых мешков), в результате чего невозможно эффективное оплодотворение и развитие семян [2]. Сведения об особенностях развития мужской генеративной сферы *J. nudiflorum*, как и других представителей рода *Jasminum* L., ограничены общими характеристиками признаков [3–6]. В связи с этим целью настоящего исследования было определение особенностей генезиса пыльника и мужского гаметофита, а также цитоморфологическая оценка состояния мужского гаметофита *J. nudiflorum* в условиях Южного берега Крыма.

### Объекты и методы исследования

Для исследования генезиса пыльника *J. nudiflorum* брали бутоны различных стадий развития от момента их закладки до стадии рыхлого бутона с растений, произрастающих в Никитском ботаническом саду и в районе пгт. Никита (г. Ялта, Крым) в период с 2014–2016 гг. Бутоны фиксировали в смеси Карнуа, состоящей из 96%-ного этилового спирта, хлороформа и уксусной кислоты, взятых в соотношении 6:3:1. Для обезвоживания материала, согласно общепринятой методике приготовления постоянных цитоэмбриологических препаратов [7], использовали этиловый и бутиловый спирты с постепенным повышением их концентрации, с последующим переводом материала в хлороформ. После обезвоживания объекты заключали в парафин. Парафиновые срезы делали толщиной 10–12 мкм на ротационном микротоме марки МРТУ. Для окраски постоянных цитоэмбриологических препаратов использовали алциановый синий и метилгрюнпиронин [8], а также гематоксилин с подкраской алциановым синим [9]. Цитоморфологическую оценку пыльцевых зерен проводили на постоянных препаратах средних образцов пыльцы, взятых в период массового цветения вида из пыльников 50 цветков для растений, произрастающих в каждом из двух наблюдаемых участков. Постоянные препараты средних образцов пыльцевых зерен окрашивали метилгрюнпиронином [10]. Анализ препаратов проводили на микроскопах Jenaval (Carl Zeiss, Германия) и AxioScopeA.1 (Carl Zeiss, Германия). Микрофотографии получены с помощью системы анализа изображения Axio-CamERc5s (Carl Zeiss, Германия). Морфометрические измерения и цитоморфологическую оценку осуществляли на основании анализа пыльцевых зерен в 100 полях зрения, используя программное приложение AxioVisionRel. 4.8.2 и программу ImageJ 1.48v (<http://imagej.nih.gov/ij>). Статистическую обработку морфометрических данных пыльцевых зерен осуществляли с учетом дескриптивных статистик при помощи пакета прикладных программ Statistica 6.0. Среднее значение показателя приводится в виде  $M \pm m$ , где  $M$  – среднее,  $m$  – стандартная ошибка среднего арифметического. Оценку разности выборочных долей проводили методом преобразования долей в углы  $\phi$  по критерию Фишера [11].

### Результаты и их обсуждение

У *J. nudiflorum* в цветке два четырехгнездных пыльника, расположенных в трубке венчика. Развитие стенки пыльника идет центробежно. При этом тапетум образуется в результате деления париетального слоя, дающего также начало среднему слою (рис. 1, 1). В ходе последующих делений формируется эндотеций и несколько средних слоев (рис. 1, 2). В сформированном состоянии стенка микроспорангия представлена морфологически однородными клетками эпидермы, нерегулярно двуслойным эндотецием, 2–5 средними слоями, а также нерегулярно двуслойным секреторным тапетумом. Ряд клеток последнего содержит по два ядра. Со стороны связника тапетум многорядный. Микроспороциты располагаются в два ряда (рис. 1, 3). В течение мейотического периода развития пыльника его стенка претерпевает существенные изменения. Так, отмечается увеличение эпидермальных клеток, средние слои постепенно облитерируют, клетки тапетума вытягиваются в радиальном направлении, обращенном

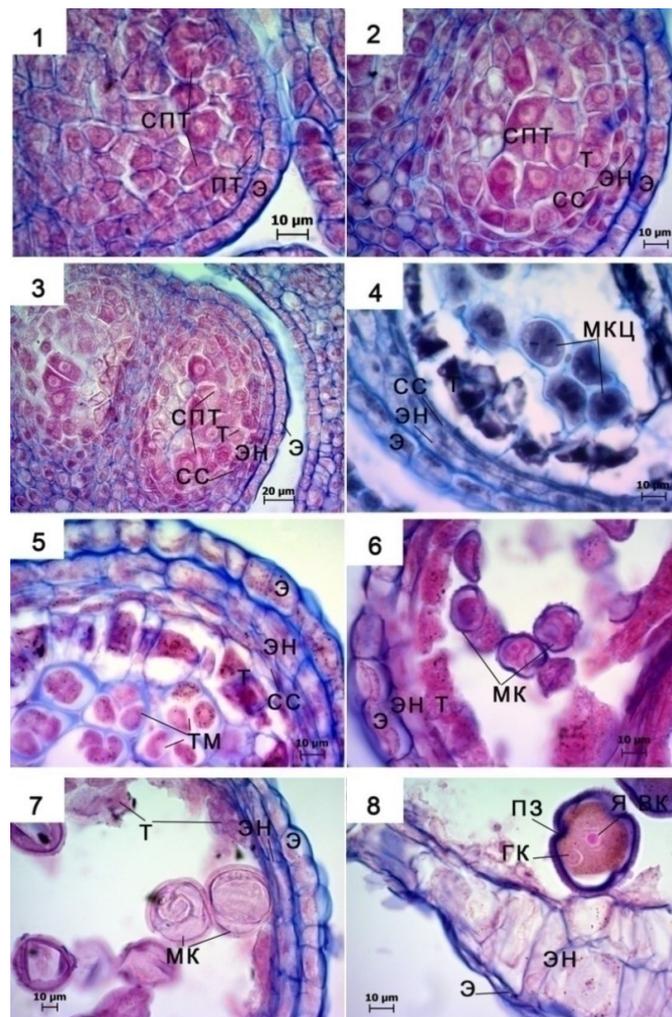


Рис. 1. Стадии развития микроспорангия и мужского гаметофита у *Jasminum nudiflorum*: 1, 2 – дифференциация клеточных слоев стенки микроспорангия; 3 – сформированная стенка микроспорангия; 4 – фрагмент микроспорангия на стадии мейотического деления микроспороцитов; 5 – фрагмент микроспорангия с тетрадами микроспор; 6 – микроспорангий с микроспорами; 7 – фрагмент микроспорангия на стадии вакуолизованных микроспор в период дифференцирующего деления; 8 – фрагмент стенки пыльника с фиброзным эндотецием и двухклеточное пыльцевое зерно (гк – генеративная клетка; МК – микроспоры; мкц – микроспороцит; пз – пыльцевое зерно; пт – парietальная ткань; спт – спорогенная ткань; сс – средний слой; т – тапетум; тм – тетрады микроспор; э – эпидерма; эн – эндотеций; я вк – ядро вегетативной клетки)

в сторону полости пыльника (рис. 1, 4, 5), а в последующем клетки тапетума дезинтегрируют (рис. 1, 6). В постмейотический период продолжается трансформация клеточных слоев стенки микроспорангия, связанная с дегенерацией тапетума и образованием фиброзных утолщений в клетках эндотеция и клеточных слоях, расположенных со стороны связника (рис. 1, 7, 8).

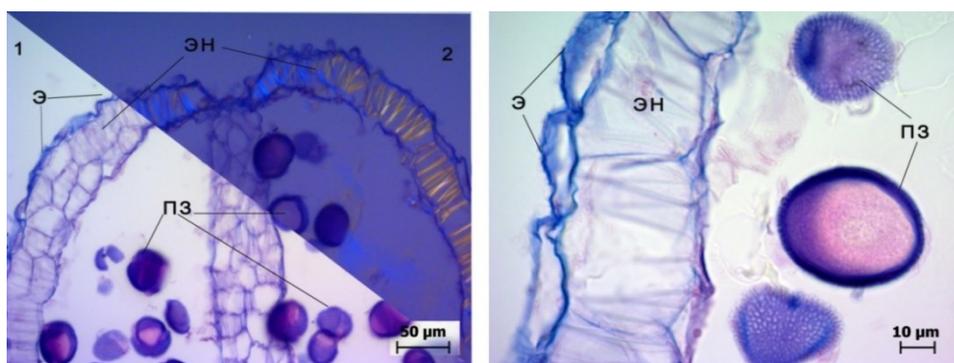


Рис. 2. Фрагменты зрелого пыльника *J. nudiflorum* с пыльцевыми зернами: 1 – изображение в светлом поле; 2 – изображение в поляризованном свете, где фиброзные утолщения эндотечия дают свечение; пз – пыльцевые зерна; э – эпидерма; эн – эндотечий

Таким образом, к моменту созревания пыльцевых зерен стенка микроспорангия *J. nudiflorum* представлена уплощенными клетками эпидермы, покрытой кутикулой, и нерегулярно двухслойным эндотечием с фиброзными утолщениями (рис. 2). Следует отметить, что, начиная со стадии микроспор, происходят деструкционные процессы в перегородке между гнездами пыльника, в результате которых она полностью разрушается к моменту его созревания, что приводит к вскрытию пыльника щелью по месту соединения гнезд.

Микроспорогенез идет по симультанному типу, при котором в ходе мейотического деления четыре клетки образуются одновременно после завершения двух делений (см. рис. 1, 4). Микроспоры в тетрадах располагаются преимущественно тетраэдрически. Однако отмечаются также случаи изобилатерального расположения микроспор (см. рис. 1, 5). В дальнейшем у микроспор формируется спородерма, а их содержимое вакуолизирует (см. рис. 1, 7). При этом ядро смещается к периферии, и микроспора переходит к дифференцирующему делению, в результате которого образуется двухклеточное пыльцевое зерно с более крупным ядром вегетативной клетки, расположенным в центральной части пыльцевого зерна, и небольшой генеративной клеткой, смещенной к его периферии (см. рис. 1, 8). Спермиогенное деление генеративной клетки, дающее начало двум спермиям удлинённой формы, у *J. nudiflorum* происходит непосредственно в пыльцевом зерне (рис. 2).

Зрелые пыльцевые зерна трехклеточные. Спермии веретеновидные. Спородерма пыльцевых зерен обладает сетчатой поверхностью и столбчатой структурой (рис. 3). Сравнение значений экваториального диаметра пыльцевых зерен двух популяции не выявило статически значимых различий между ними. В среднем диаметр пыльцевых зерен *J. nudiflorum* составляет  $42.80 \pm 0.15$  мкм.

Сравнение основных признаков строения стенки микроспорангия и формирования мужского гаметофита у *J. nudiflorum* показало их соответствие признакам мужской генеративной сферы других изученных видов рода *Jasminum*, в частности *J. pubescens* Willd., *J. sambac* Ait., *J. calophyllum* Wall., представленных в литературных источниках [3–6].

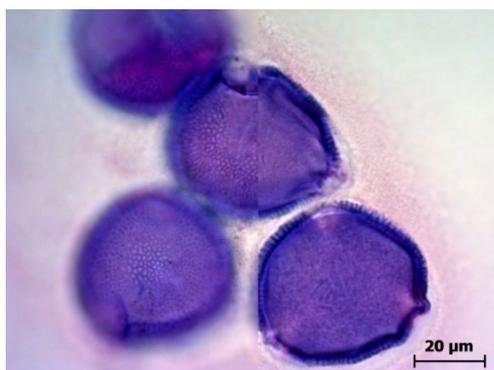
Рис. 3. Пыльцевые зерна *J. nudiflorum*

Табл. 1

Цитоморфологическая характеристика пыльцевых зерен *J. nudiflorum*

Участок	Состояние цветка	Морфологически нормальные пыльцевые зерна		Аномальные пыльцевые зерна, %	Стерильные пыльцевые зерна, %	
		%	<i>F</i>		%	<i>F</i>
1	без повреждений	84.94	0	10.42	5.28	0.29
2		85.15		9.57		
1	повреждение после мороза	11.41	4.70*	85.68	2.91	2.05
2		16.75		78.47		

Примечание. Участок: 1 – Никитский ботанический сад; 2 – пгт. Никита, район метеостанции; *F* – критерий Фишера; \* – различия статистически значимы при  $p < 0.05$ .

Данные цитоморфологической характеристики средних образцов пыльцы *J. nudiflorum* двух популяций показаны в табл. 1. Установлено, что в средних образцах пыльцы при положительных температурах воздуха независимо от места произрастания преобладают морфологически нормальные пыльцевые зерна, доля которых составляет около 85%. При этом единичных пыльцевых зерен *J. nudiflorum* отмечено образование пыльцевой трубки еще в закрытом пыльнике, в полости пыльцевого гнезда. Доля аномальных пыльцевых зерен, для которых характерна крупнозернистая цитоплазма вегетативной клетки и деструкция ядерных структур, составляет около 10%, а количество стерильных пыльцевых зерен находится в пределах 5%.

На Южном берегу Крыма в конце января – начале февраля температура воздуха может опускаться до  $-10^{\circ}\text{C}$ . В такие периоды отмечается обмерзание цветков. Анализ пыльцы из поврежденных морозами пыльников показал, что доля морфологически нормальных пыльцевых зерен снижается до 11–17% в зависимости от места произрастания, что существенно снижает генеративный потенциал вида в этот период. Основная же часть пыльцевых зерен (78–86%) имеет признаки деструкции цитоплазмы и ядер. Характерно, что количество стерильных пыльцевых зерен, у которых отмечается полная дегенерация цитоплазмы и ядерных структур, не зависит ни от места произрастания, ни от метеоусловий в период созревания пыльцы и составляет 3–5%, что свидетельствует

о стабильности доли летальных патологий мужского гаметофита у данного вида (см. табл. 1).

Таким образом, низкая доля стерильных пыльцевых зерен у *J. nudiflorum* свидетельствует об отсутствии серьезных аномалий в ходе развития мужского гаметофита, а следовательно, в периоды благоприятных метеоусловий мужская генеративная сфера данного вида потенциально способна обеспечить полноценное оплодотворение.

Следует отметить, что для определения причин слабого семяобразования у *J. nudiflorum* необходимо проведение исследований возможностей эффективного опыления с учетом того, что у ряда гетеростильных видов рода *Jasminum* при самоопылении и опылении цветков одной морфологической формы плоды не образуются [12–16]. Необходима также оценка состояния семязачатков и особенностей эмбрио- и эндоспермогенеза, поскольку аномалии женской генеративной сферы и формирования зародыша могут являться причинами абортирования плодов и семян.

### Заключение

Формирование клеточных слоев стенки пыльника *J. nudiflorum* имеет центробежную направленность. В сформированном микроспорангии стенка образована эпидермой, нерегулярно двухслойным эндотецием, несколькими средними и нерегулярно двухслойными секреторным тапетумом. Стенка зрелого пыльника представлена уплощенными клетками эпидермы, покрытыми кутикулой, и эндотецием с фиброзными утолщениями.

Микроспорогенез у *J. nudiflorum* идет по симультанному типу с образованием тетрад с тетраэдрически или изобилатерально расположением микроспор. Зрелые пыльцевые зерна у *J. nudiflorum* диаметром около 43 мкм трехклеточные, с сетчатой структурой спородермы.

В средних образцах пыльцы, независимо от места произрастания растения, при положительных температурах в период массового цветения преобладают морфологически нормальные пыльцевые зерна (около 85%), что свидетельствует о потенциальной способности мужского гаметофита *J. nudiflorum* к эффективному оплодотворению. При повреждении цветков в периоды заморозков снижается доля морфологически нормальных пыльцевых зерен до 11–16%.

### Литература

1. Голубева И.В. О некоторых биоморфологических особенностях осеннее-зимне-весеннецветущих деревьев и кустарников // Бюл. Гос. Никитского сада. – 1969. – Вып. 3. – С. 8–11.
2. Поддубная-Арнольди В.А. Цитозембриология покрытосеменных растений. Основы и перспективы. – М.: Наука, 1976. – 508 с.
3. Maheshwary Devi H. Embryology of *Jasminums* (*J. sambac*, *J. calophyllum*) and its bearing on the oil composition of Oleaceae // Acta Botanica India. – 1975. – V. 3, No 1 – P. 52–61.
4. Bhargava Y.R. Microsrogenes and male gametophyte in *Jasminum pubescens* Willd. // Curr. Sci. – 1980. – V. 49. – P. 911–912.

5. *Литвиненко Н.М.* Семейство Oleaceae // Сравнительная эмбриология цветковых растений. *Davidiaceae – Asteraceae* / Отв. ред. Т.Б. Батыгина, М.С. Яковлев. – Л.: Наука, 1987. – С. 154–158.
6. *Johri B.M., Ambegaokar K.B., Srivastava P.S.* Oleales // *Johri B.M., Ambegaokar K.B., Srivastava P.S. Comparative Embryology of Angiosperms.* – Berlin, Heidelberg: Springer, 1992. – P. 650–652.
7. *Паушева З.П.* Практикум по цитологии растений. – М.: Агропромиздат, 1990. – 271 с.
8. *Шевченко С.В., Чеботарь А.А.* Особенности эмбриологии маслины европейской (*Olea europaea*) // Цитолого-эмбриологические исследования высших растений. – Ялта, 1992. – С. 52–61.
9. *Жинкина Н.А., Воронова О.Н.* О методике окраски эмбриологических препаратов // Бот. журн. – 2000. – Т. 85, № 6. – С. 168–171.
10. *Шевченко С.В., Ругузов И.А., Ефремова Л.М.* Методика окраски постоянных препаратов метиловым зеленым и пиронином // Бюл. Гос. Никит. бот. сада. – 1986. – Вып. 60. – С. 99–101.
11. *Плохинский Н.А.* Биометрия. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1970. – 367 с.
12. *Гладкова В.Н.* Семейство маслиновые (Oleaceae) // Жизнь растений. Т. 5, Ч. 2: Цветковые растения / Ред. А.Л. Тахтаджян. – М.: Просвещение, 1980. – С. 371–375.
13. *Ganders F.* The biology of heterostyly // *New Zealand J. Bot.* – 1979. – V. 17, No 4. – P. 607–635. – doi: 10.1080/0028825X.1979.10432574.
14. *Френкель Р., Галун Э.* Механизмы опыления, размножения и селекции растений. – М.: Колос, 1982. – 384 с.
15. Методические рекомендации по изучению антропоэкологических особенностей цветковых растений. Морфологическое описание репродуктивной структуры / Сост. В.Н. Голубев, Ю.С. Волокитин. – Ялта, 1986. – 43 с.
16. *Thompson J.D.* How do visitation patterns vary among pollinators in relation to floral display and floral design in a generalist pollination system? // *Oecologia.* – 2001. – V. 126, No 3. – P. 386–394. – doi: 10.1007/s004420000531.

Поступила в редакцию  
04.07.17

---

**Кузьмина Татьяна Николаевна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории репродуктивной биологии и физиологии растений

Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН

ул. Никитский спуск, 52, пгт Никита, г. Ялта, 298648 Россия  
E-mail: [tnkuzmina@rambler.ru](mailto:tnkuzmina@rambler.ru)

**Development of the Male Generative Sphere  
in *Jasminum nudiflorum* Lindl. (Oleaceae)**

T.N. Kuzmina

Nikitsky Botanical Garden – National Scientific Center of Russian Academy of Sciences,  
Yalta, 298648 RussiaE-mail: [tnkuzmina@rambler.ru](mailto:tnkuzmina@rambler.ru)

Received July 4, 2017

**Abstract**

To reveal the causes for absence of fruits and seeds in *Jasminum nudiflorum* Lindl. (Oleaceae) in the Southern Coast of the Crimea, the male generative sphere genesis has been studied and the male gametophyte state during the period of mass blossoming has been determined. The analysis of the permanent preparations of flower buds of *J. nudiflorum* at different stages of development has demonstrated that the anther wall develops by the centrifugal type. The developed anther wall is formed by epidermis, endothecium, two or three middle layers, and multi-layer tapetum of the secretory type. The sporogenous tissue is represented by two layers of cells. Microsporogenesis is simultaneous. Obliteration of middle layers and tapetum begins at the stage of microsporogenesis. The mature anther of *J. nudiflorum* contains a three-celled pollen grain and its wall is composed of epidermis covered with cuticle, an irregular two-layered endothecium with fibrous bands.

The cytomorphological analysis of the average samples of *J. nudiflorum* pollen has shown that the proportion of morphologically normal pollen grains makes about 85% during the period of mass blossoming, thereby indicating the genetic stability of this type and the potential ability of the male gametophyte to fertilize efficiently. At the same time, freezing temperatures during the blossoming period of *J. nudiflorum* affect severely the state of the male gametophyte. The high proportion of morphologically normal pollen grains in *J. nudiflorum* excludes in the fertility of a male gametophyte a whole number of potential factors influencing the development of seeds in this sort of flowers and provides the grounds for analysis of its generative sphere peculiarities.

**Keywords:** *Jasminum nudiflorum*, Oleaceae, anther, microsporangium, tapetum, endothecium, pollen grain

**Figure Captions**

Fig. 1. The stages of microsporangium and male gametophyte development in *Jasminum nudiflorum*: 1, 2 – differentiation of cellular layers of the microsporangium wall; 3 – developed microsporangium wall; 4 – a microsporangium fragment at the stage of meiotic division of microsporocytes; 5 – a microsporangium fragment with tetrads of microspores; 6 – a microsporangium with microspores; 7 – a microsporangium fragment at the stage of vacuolated microspores during differential division; 8 – a fragment of the anther wall with fibrous endothecium and a two-celled pollen grain (gc – generative cell; mc – microspores; mcc – microsporocyte; pg – pollen grain; pt – parietal tissue; spt – sporogenous tissue; ml – middle layer; t – tapetum; tm – tetrads of microspores; e – epidermis; en – endothecium; n vc – vegetative cell nucleus).

Fig. 2. Fragments of the mature anther in *J. nudiflorum* with pollen grains (1 – bright-field image; 2 – polarized-light image, where fibrous thickenings of the endothecium glow; pg – pollen grains; e – epidermis; en – endothecium).

Fig. 3. The pollen grains of *J. nudiflorum*.

## References

1. Golubeva V.N. Some biomorphological peculiarities of autumn-winter-spring-flowering trees and shrubs. *Byull. Gos. Nikitsk. Bot. Sada*, 1969, no. 3, pp. 8–11. (In Russian)
2. Poddubnaya-Arnol'di V.A. *Tsitoembriologiya pokrytosemennykh rastenii. Osnovy i perspektivy* [Cytoembryology of Angiosperms. Fundamentals and Prospects]. Moscow, Nauka, 1976. 508 p. (In Russian)
3. Maheshwary Devi H. Embryology of jasminums (*J. sambac*, *J. calophyllum*) and its bearing on the oil composition of Oleaceae. *Acta Bot. India*, 1975, vol. 3, no. 1, pp. 52–61.
4. Bhargava Y.R. Microspergenes and male gametophyte in *Jasminum pubescens* Willd. *Curr. Sci.*, 1980, vol. 49, pp. 911–912.
5. Litvinenko N.M. Family of Oleaceae. In: *Sravnitel'naya embriologiya tsvetkovykh rastenii. Davidiaceae – Asteraceae* [Comparative Embryology of Flowering Plants. Davidiaceae – Asteraceae]. Batygina T.B., Yakovlev M.S. (Eds.). Leningrad, Nauka, 1987. pp. 154–158. (In Russian)
6. Johri B.M., Ambegaokar K.B., Srivastava P.S. Oleales. In: Johri B.M., Ambegaokar K.B., Srivastava P.S. *Comparative Embryology of Angiosperms*. Berlin, Heidelberg, Springer, 1992, pp. 650–652.
7. Pausheva Z.P. *Praktikum po tsitologii rastenii* [Practical Course on Plant Cytology]. Moscow, Agropromizdat, 1988. 271 p. (In Russian)
8. Shevchenko S.V., Chebotar' A.A. Embryological peculiarities of the olive (*Olea europaea*). In: *Tsitologo-embriologicheskie issledovaniya vysshykh rastenii* [Cytoembryological Studies of Higher Plants]. Yalta, 1992, pp. 52–61. (In Russian)
9. Zhinkina N.A., Voronova O.N. On staining technique for embryological preparations. *Bot. Zh.*, 2000, vol. 85, no. 6, pp. 168–171 (In Russian)
10. Shevchenko S.V., Ruguzov I.A., Efremova L.M. Methods for staining permanent preparations with methyl green and pyronin. *Byull. Gos. Nikitsk. Bot. Sada*, 1986, no. 60, pp. 99–101. (In Russian)
11. Plokhinskii N.A. *Biometriya* [Biometry]. Moscow, Izd. Mosk. Univ., 1970. 367 p. (In Russian)
12. Gladkova V.N. Family of Oleaceae. In: Takhtadzhyan A.L. (Ed.) *Zhizn' rastenii* [Life of Plants]. Vol. 5, Pt. 2: Flowering Plants. Moscow, Prosveshchenie, 1980, pp. 371–375. (In Russian)
13. Ganders F. The Biology of heterostyly. *N. Z. J. Bot.*, 1979, vol. 17, no. 4, pp. 607–635. doi: 10.1080/0028825X.1979.10432574.
14. Frankel R., Galun E. *Mekhanizmy opyleniya, razmnzheniya i seleksii rastenii* [Mechanisms of Pollination, Reproduction, and Breeding in Plants]. Moscow, Kolos, 1977. 384 p. (In Russian)
15. *Metodicheskie rekomendatsii po izucheniyu antekologicheskikh osobennostei tsvetkovykh rastenii. Morfoloicheskoe opisaniye reprodktivnoi struktury* [Methodological Recommendations for Studying Anthecological Features of Flowering Plants. Morphological Description of Reproductive Structures]. Yalta, 1986. 43 p. (In Russian)
16. Thompson J.D. How do visitation patterns vary among pollinators in relation to floral display and floral design in a generalist pollination system? *Oecologia*, 2001, vol. 126, no. 3, pp. 386–394. doi: 10.1007/s004420000531.

⟨ **Для цитирования:** Кузьмина Т.Н. Формирование мужской генеративной сферы у *Jasminum nudiflorum* Lindl. (Oleaceae) // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2018. – Т. 160, кн. 3. – С. 436–444. ⟩

⟨ **For citation:** Kuzmina T.N. Development of the male generative sphere in *Jasminum nudiflorum* Lindl. (Oleaceae). *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennyye Nauki*, 2018, vol. 160, no. 3, pp. 436–444. (In Russian) ⟩