

ЭМБРИОЛОГИЯ, ГЕНЕТИКА И БИОТЕХНОЛОГИЯ

МАТЕРИАЛЫ V МЕЖДУНАРОДНОЙ ШКОЛЫ
ДЛЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ,

*посвященной памяти
члена-корреспондента РАН, профессора
Татьяны Борисовны Батыгиной*



*Санкт-Петербург
2016*

**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Ботанический институт имени В.Л. Комарова
Российской академии наук
Русское ботаническое общество**



ЭМБРИОЛОГИЯ, ГЕНЕТИКА И БИОТЕХНОЛОГИЯ

**МАТЕРИАЛЫ
V МЕЖДУНАРОДНОЙ ШКОЛЫ
ДЛЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ,
посвященной памяти
члена-корреспондента РАН, профессора
Татьяны Борисовны Батыгиной
(Санкт-Петербург, 9 - 14 октября 2016)**

Санкт-Петербург
«Издательство «Левша. Санкт-Петербург»
2016

«Эмбриология, генетика, биотехнология». Материалы V международной Школы для молодых ученых, посвященной памяти члена-корреспондента РАН, профессора Татьяны Борисовны Батыгиной (Санкт-Петербург, 9-14 октября 2016 г.) - Санкт-Петербург: Издательство «Левша. Санкт-Петербург», 2016, 206 с.

В сборнике представлены материалы докладов участников V международной Школы для молодых ученых, посвященной памяти члена-корреспондента РАН, профессора Татьяны Борисовны Батыгиной. В них рассмотрены актуальные проблемы современной биологии развития, новые методологические и методические подходы к их изучению, в том числе, в рамках системной биологии растений. Изложены результаты анализа важнейших феноменов, связанных с репродукцией растений, структурно-функциональных аспектов и механизмов морфогенеза репродуктивных структур при половом, бесполом и апомиктичном способах воспроизведения, а также их использования в биотехнологии создания новых форм и тиражирования ценных генотипов *in vitro*. Приведены данные по оптимизации семенного размножения редких и ресурсных видов для сохранения биоразнообразия на основе фундаментальных исследований по их репродуктивной биологии.

Для научных сотрудников, преподавателей, аспирантов и студентов, специализирующихся в области биологии развития, эмбриологии и репродуктивной биологии, ботаники, систематики и филогении растений, биотехнологии.

Под редакцией

Кандидата биологических наук заведующего Лабораторией эмбриологии и репродуктивной биологии БИН РАН *Титовой Г.Е.*, доктора биологических наук, профессора, зав. Кафедрой Ботаники Российского государственного педагогического университета им А.И. Герцена *И. И. Шамрова*, кандидата биологических наук старшего научного сотрудника БИН РАН *Андроновой Е.В.*

*Конференция проведена при поддержке
Федерального агентства научных организаций*

и

Российского Фонда Фундаментальных исследований (проект № 16-04-20739 г.)

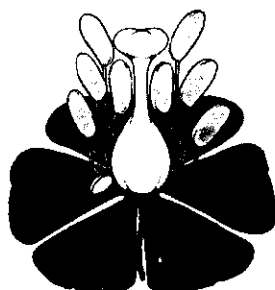


© Коллектив авторов, 2016

ISBN 978-5-93356-179-8

© Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, 2016

**Komarov Botanical Institute of Russian Academy of Sciences
Russian Botanical Society**



**EMBRYOLOGY, GENETICS
AND BIOTECHNOLOGY**

**PROCEEDINGS
OF V INTERNATIONAL SCHOOL
FOR THE YOUNG SCIENTISTS**
dedicated to the memory
of the corresponding member of RAS, Professor
Tatyana Borisovna Batygina
(Saint Petersburg, October 9-14, 2016)

Saint Petersburg
«Publisher «Levsha. St. Petersburg»
2016

UDK 573:581

«**Embryology, genetics, biotechnology**». Materials of V International School for young scientists devoted to the memory of corresponding member of PAS, Professor Tatyana Borisovna Batygina (St-Petersburg, 9-14 of October 2016 г.) - Санкт-Петербург: Publisher «Levsha. St.Petersburg, 2016, 206 с.

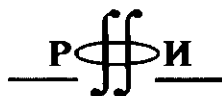
The reports theses of participators of V International School for young scientists devoted to the memory of corresponding member of PAS, Professor Tatyana Borisovna Batygina are presented in these materials. The actual problems of modern developmental biology, new methodological and technique approaches to their study including that within the system plant biology are considered here. The results of the analysis of important phenomena related to plant reproduction, structural and function aspects and mechanisms of reproductive structures morphogenesis at sexual, asexual and apomictic modes of propagation as well as their using in biotechnology of the creation of a new forms and duplication of value genotypes *in vitro* are contained. The data on optimization of seed propagation of rare and resource species for conservation of biodiversity on the base of fundamental investigations of their reproductive biology are provided.

For scientific researchers, teachers, PhD students and students specialized on developmental biology, embryology and reproductive biology, botany, systematics and phylogeny of plants, biotechnology.

Edited by

PhD, the head of Laboratory of embryology and reproductive biology of BIN RAS *Titova G.E.*, Doctor of Science, Professor, the head of the Department of Botany of Gertzen State Pedagogical University *Shamrov I.I.*, PhD, senior scientific researcher of BIN RAS *Andronova E.V.*

*The Conference is held with the support of
Federal Agency for Scientific Organizations
and
Russian Fund of Basic Researches (project № 16-04-20739 z.)*



© Collective of authors, 2016

ISBN 978-5-93356-179-8

© Komarov Botanical Institute of PAS, 2016



ТАТЬЯНА БОРИСОВНА БАТЫГИНА

Глубокоуважаемые коллеги!

Очередная, V Международная Школа для молодых ученых «Эмбриология, генетика и биотехнология» посвящена памяти члена-корреспондента РАН, заслуженного деятеля науки РФ, профессора **Татьяны Борисовны Батыгиной** – одного из признанных лидеров и талантливых организаторов отечественной науки, внесшего значительный вклад в формирование мировой эмбриологии растений. Следуя традициям Татьяны Борисовны, по инициативе которой были организованы I - IV Школы для молодых ученых (I – Санкт-Петербург, 2005; II – Уфа, 2007; III – Саратов, 2009; IV – Пермь, 2012), мы старались сохранить преемственность их задач: активное привлечение молодежи к проблемам биологии развития растений; демонстрация достижений современной науки в области познания важнейших феноменов в репродукции и морфогенеза репродуктивных структур, значимости эмбриологической информации для биотехнологических инноваций. Отдавая дань памяти Татьяны Борисовны, мы также стремились уделить особое внимание развитию ее идей.

Татьяна Борисовна прожила яркую, плодотворную творческую жизнь. Итоги этой жизни впечатляют: 65 лет активной научной деятельности, 55 лет работы в родной лаборатории, создание научной школы, подготовка более 30 кандидатов и 20 докторов биологических наук, свыше 500 трудов, включая 9 фундаментальных монографий. **Главный итог — создание основ новой интегральной научной дисциплины — биологии развития растений.** Фактически Татьяна Борисовна смогла опередить время и заглянуть в будущее науки. В немалой степени этому способствовали необычайно широкий кругозор Татьяны Борисовны, ее великолепное знание классической эмбриологии, неудержимое стремление постичь суть разнообразного спектра явлений, связанных с репродукцией растений, а также замечательные личностные качества этого ученого – стратегическое мышление, тонкое научное чутье, огромная работоспособность и безусловная пассионарность.

Всю свою жизнь Татьяна Борисовна рассматривала растительный организм и его репродуктивные органы как сложные интегрированные системы, развивающиеся сопряженно и в непрерывном взаимодействии. Еще в начале 1970-х годов ею был сформулирован комплексный системный подход к изучению морфогенеза репродуктивных структур, а в 1980-е годы – к системам репродукции растений. В последние годы особенно ярко проявлялось стремление Татьяны Борисовны к анализу закономерностей онтогенеза растений с позиций приоритетной проблемы биологии развития – проблемы целостности и надежности биосистем. Развивая представления о биологических объектах как о системах, она акцентировала внимание на основополагающих принципах их организации и придавала большое значение изучению интегрирующих механизмов развития. Не случайно на Школы для молодых ученых Татьяна Борисовна всегда приглашала для чтения лекций ведущих специалистов в области физиологии, генетики развития, эпигенетики, системной биологии растений.

Творческая биография Т.Б. Батыгиной неразрывно связана с развитием отечественной эмбриологической школы, сформированной С.Г. Навашиным, М.С. Навашиным, Е.Н. Герасимовой-Навашиной, В.А. Поддубной-Арнольди и др. Создав впоследствии свою научную школу, Татьяна Борисовна бережно хранила традиции, заложенные «корифеями» отечественной эмбриологии растений – представителями Петербургской, Московской, Саратовской, Пермской, Киевской и других научных школ. Всех своих учеников Татьяна Борисовна призывала чтить память учителей («Мы стояли на плечах гигантов!»), мыслить широко, не бояться высказывать смелые гипотезы.

Сохранение этих важных традиций является одной из приоритетных задач предстоящей Школы.

От имени Оргкомитета V Международной Школы

для молодых ученых «Эмбриология, генетика и биотехнология» - Г.Е. Титова

Dear colleagues!

The next, V International School for Young Scientists "Embryology, genetics and biotechnology," is dedicated to the memory of corresponding member of Russian Academy of Sciences, Honored Scientist of Russia, Professor **Tatiana Borisovna Batygina** – one of the recognized leaders and talented organizers of national science, who made a significant contribution to the formation of world plant embryology. Following the tradition of Tatyana Borisovna, who was the initiator of the I–IV Schools for Young Scientists (I – St. Petersburg, 2005; II – Ufa, 2007; III – Saratov, 2009; IV – Perm, 2012), we tried to keep the continuity of tasks: the active involvement of young people to the problems of plant developmental biology; demonstration of the achievements of modern science in the field of knowledge of the most important phenomena in the reproduction and morphogenesis of reproductive structures, the relevance of the embryological information for biotechnological innovations. Paying tribute to Tatyana Borisovna, we also strived to pay special attention to the development of her ideas.

Tatiana Borisovna lived a bright and fruitful creative life. The results of this life are impressive: 65 years of active scientific work, 55 years of work in the laboratory, creating of the scientific school, training of more than 30 candidates and 20 doctors of biological sciences, more than 500 scientific works, including 9 fundamental monographs. ***The main result is considered to be the creation of foundations for a new integrated scientific discipline – developmental biology of plants.*** In fact, Tatiana Borisovna was able to get ahead of time and look into the future of science. The unusually specious mind of Tatyana Borisovna, her excellent knowledge of classical embryology, irrepressible desire to understand the essence of the diverse range of phenomena related to plant reproduction in a large extent contributed to this, as well as the remarkable personality of this scientist – strategic thinking, subtle scientific intuition, a great capacity for work and unconditional passionarity.

Throughout her life, Tatiana Borisovna considered a plant organism and its reproductive organs as complex integrated systems, developing adjointly and in continuous interaction. Even in the early 1970s, she formulated a comprehensive system approach to the study of morphogenesis of reproductive structures, and in 1980th – to the systems of plant reproduction. In recent years, the tendency of Tatyana Borisovna to analyze ontogenesis regularities of plants from the standpoint of the priority problems of developmental biology – the problem of integrity and reliability in biosystems, was especially evident. Developing the ideas on biological objects as systems, she focused attention on the fundamental principles of their organization and attached great importance to investigation of integrated mechanisms of development. Not by chance Tatyana Borisovna always invited leading experts in the field of physiology, developmental genetics, epigenetics, system biology of plants to give lectures at the School for young scientists.

Biography of T.B. Batygina is inextricably related with the development of the domestic embryological school, formed by S.G. Nawashin, M.S. Navashin, E.N. Gerasimova-Navashina, V.A. Poddubnaya-Arnoldi and others. Subsequently created her own scientific school, Tatiana Borisovna carefully preserved the traditions established by "coryphaeuses" of domestic plant embryology – representatives of St. Petersburg, Moscow, Saratov, Perm, Kiev and other scientific schools. Tatiana Borisovna called all her learners to honor the memory of teachers ("We were standing on the shoulders of giants!"), to think freely, do not be afraid to express a bold hypothesis.

The preservation of these important traditions is one of the priority tasks of the upcoming School.

On behalf of the Organizing Committee of The International School for young scientists "Embryology, genetics and biotechnology" – G.E. Titova

ПУТЬ В НАУКЕ И ТВОРЧЕСКОЕ НАСЛЕДИЕ ТАТЬЯНЫ БОРИСОВНЫ БАТЫГИНОЙ (1927-2015)

Титова Г. Е.

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия
e-mail: galina_titova@mail.ru

Татьяна Борисовна Батыгина (Гуменская) родилась 24 октября 1927г. в Ленинграде, в семье потомственных интеллигентов, в юности стойко перенесла трудности военных лет. С 1947 по 1954 гг. Т.Б. учится на Биолого-почвенном факультете ЛГУ им. А.А. Жданова, где выполняет на кафедре генетики дипломную работу по биологии развития культурных форм бахчевых под руководством доцента В.С. Федорова. С 1951 по 1954гг. обучается в аспирантуре ВИР РАСХН и после защиты кандидатской диссертации по отдаленной гибридизации томатов (руководитель академик Д.Д. Брежнев, 1954г.) ее зачисляют в штат Отдела морфологии и анатомии БИН АН СССР, возглавляемого профессором В.Г. Александровым. С 1960г. и до конца жизни Т.Б. работает в лаборатории эмбриологии, созданной в составе Отдела в том же году (руководитель д.б.н., профессор М.С. Яковлев). Наставником Татьяны Борисовны стала Е.Н. Герасимова-Навашина – выдающийся ученый-эмбриолог, яркий последователь академика С.Г. Навашина. Под ее руководством Т.Б. выполняет первые работы по изучению оплодотворения у растений. Благодаря Е.Н. она приобрела особое отношение к теоретической биологии, получила первые навыки организационной работы.

Основные вехи дальнейшей научной карьеры: 1974г. – защита докторской диссертации; 1983г. – заведующая лабораторией Эмбриологии и репродуктивной биологии БИН; 1991г – профессор, 1993г. – Лауреат государственной премии РФ; 1995г. – заслуженный деятель науки РФ 1996г. – Лидер Ведущей научной школы РФ; 2002г. – Лауреат премии правительства РФ, 2003г. – член-корреспондент РАН.

В научном творчестве Т.Б. Батыгиной можно выделить несколько этапов:

1954-1974 гг. – Разработка проблемы отдаленной гибридизации у злаков.

В ходе работы над этой проблемой Татьяна Борисовна осуществила детальный анализ эмбриологических процессов при отдаленной гибридизации у пшеницы. Ее результатом явилась типизация основных нарушений в развитии репродуктивных структур при разных типах скрещиваний, приводящих к аномалиям процессов оплодотворения, эмбрио- и эндоспермогенеза, а также важное заключение о том, что «... любая экспериментальная работа в области изучения процессов репродукции ... должна опираться, прежде всего, на точное знание закономерностей индивидуального развития ... растения, на знание как отдельных процессов развития, так и их морфогенетических взаимосвязей» (Батыгина, 1974: С.5). Также Т.Б. был сформулирован ряд других важных положений, открывающих широкие перспективы в решении проблемы однодольности: открытие Graminad-типа эмбриогенеза у пшеницы и предположение о его существовании у других однодольных; представление о разной скорости онтогенетического смещения точки роста побега в эволюции однодольного зародыша в свете различных теорий его происхождения. Все эти положения нашли отражение в монографии Т.Б. Батыгиной «Эмбриология пшеницы» (1974), ставшей настольной книгой как для селекционеров, так и ее многочисленных учеников.

1974-1984гг. – Работа по созданию в лаборатории эмбриологии нового направления исследований – экспериментальной эмбриологии, направленной на изучение главных проблем биологии развития растений – морфогенеза и дифференциации репродуктивных структур.

В эти годы Татьяна Борисовна (совместно с коллегами) разработала **комплексный системный подход к изучению морфогенеза репродуктивных структур:** сравнительный анализ развития генеративных структур *in situ*, *in vivo* и *in vitro* у модельных видов с разными жизненными формами и способами репродукции; сопоставление кинетики морфологических и физиолого-биохимических процессов; моделирование условий для

разных стадий развития (с учетом результатов морфо-биохимического исследования *in vivo*); Именно такой методологический подход, основанный на синтезе данных различных ботанических дисциплин, позволяет вскрыть причины склонности разных видов к определенным способам воспроизведения и механизмы их реализации посредством конкретных путей морфогенеза (Batygina, Vasilyeva, 1981; Batygina, 1984).

В результате анализа оригинальных данных и ревизии сложного понятийного аппарата, используемого для описания процессов морфогенеза *in vivo* и *in vitro*, Т.Б. разработала **классификацию путей морфогенеза *in vivo* и *in vitro* и высказала основополагающую идею об их универсальности** (Батыгина и др., 1978). В это же время ею была инициирована разработка вопросов периодизации эмбриогенеза цветковых растений (на основе представлений П.Г. Светлова (1960) о критических стадиях развития и идей И.И. Шмальгаузена (1968) о прогрессивной автономизации эмбриогенеза). С использованием комплексного подхода была выявлена важнейшая критическая стадия эмбриогенеза – стадия автономности зародыша, которая рассматривалась как особое структурно-функциональное состояние, отражающее независимость зародыша от тканей материнского спорофита и проявляющееся в способности к саморегуляции (завершению эмбриогенеза вне материнского организма и развитию в нормальное растение). Было показано, что главным свойством стадии автономности зародыша является гормональная независимость, определяемая по его способности к прорастанию на среде без гормонов *in vitro*. Особое заключение касалось видоспецифичности данной стадии - как конкретного свойства, обусловленного характером морфогенетических и морфо-физиологических корреляций в развитии зародыша и семени (Батыгина, Васильева, 1983, и др.).

1984-1990гг. – Проведение исследований по сравнительной эмбриологии и завершение публикации 5-томного издания «Сравнительная эмбриология цветковых растений» (1981-1990) (Государственная премия РФ, 1993 г.). **Разработка Татьяной Борисовной оригинальной стратегии научных исследований лаборатории:** расширение границ традиционной эмбриологии растений (как разноплановой дисциплины, изучающей не только закономерности онто- и филогенеза, но и взаимосвязи организма с окружающей средой, участие процессов репродукции в формировании и поддержании биологического разнообразия) и практическая ориентация получаемых результатов.

В качестве **важнейшего направления исследований** Татьяна Борисовна выделяет изучение **репродуктивной биологии** – направления, возникшего на стыке эмбриологии, антокологии, карпологии, генетики, физиологии, селекции и других смежных дисциплин, связанных с изучением семенного размножения растений. Преимущества комплексного подхода к познанию морфогенеза репродуктивных структур, их функций, взаимодействия в процессе развития и эволюции, его значения для управления этапами онтогенеза растений Т.Б. раскрывает в монографии «Хлебное зерно» (Батыгина, 1987). Не в меньшей степени Т.Б. стремится к логическому объединению разрабатываемых в лаборатории проблем в **единую задачу – создание теории репродукции растений**. Разработка этой теории становится делом всей ее жизни, основным «стержнем» развития не только родной лаборатории, но и объединяющим началом для многих отечественных эмбриологов.

В 1980-х гг. Татьяна Борисовна создает **концепцию систем репродукции растений**, базирующуюся на принципиально новом, нетрадиционном подходе к оценке многообразия типов и способов репродукции – как с точки зрения характера генетической информации, передаваемой потомству, так и морфогенетических способов ее реализации. Мощным стимулом для ее создания явилось **открытие феномена эмбриодогении**, новой категории вегетативного размножения, объединившей комплекс явлений неясного статуса (кливажная, интегументальная, нуцеллярная полиэмбриония, псевдовивипария) на основе общего способа образования нового спорофита – эмбриоидогенеза, а также тесно связанного с ним феномена полиэмбрионии и генетической гетерогенности семян. Это открытие, повлекшее пересмотр существующих взглядов на способы воспроизведения и размножения растений, привело к созданию новой классификации систем репродукции, основанной на двух главных критериях: способе репродукции (половой – с участием

мейоза и оплодотворения; бесполой – без участия мейоза и оплодотворения) и способе образования нового спорофита (эмбрио-, эмбриоидо- и гемморизогенез). Детальное изучение разных аспектов этих процессов позволило Т.Б. свести в единую систему представления о способах репродукции — установление статуса и взаимоотношения типов, способов и форм семенного и вегетативного размножения (реализация которых определяет репродуктивную стратегию вида и обеспечивает пластичность, толерантность систем репродукции) (Batygina, 1987, 1989, и др.).

1990-2000гг. – Масштабная работа по комплексной оценке многообразных явлений, связанных с репродукцией растений: ревизия понятийного, концептуального аппарата, поиск новых подходов к решению проблем с привлечением знаний различных дисциплин (в рамках 3-хтомного фундаментального издания «Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции»; 1994-2000). К работе были привлечены как сотрудники лаборатории эмбриологии БИН, так и крупнейшие отечественные и зарубежные специалисты. Осуществление этого, без преувеличения, титанического труда, выполненного в тяжелое для отечественной науки время, стало возможным благодаря неисчерпаемому оптимизму, высокому международному авторитету Татьяны Борисовны и ее безусловному признанию в качестве одного из лидеров мировой эмбриологии растений.

Параллельно лаборатория проводит активные экспериментальные исследования по морфогенезу репродуктивных структур и изучению систем репродукции на аутоэкологическом и популяционном уровнях. Ведется разработка проблем прикладного значения (работы по тиражированию ценных генотипов растений *in vitro*, отдаленной гибридизации, использованию мутантов, получению гаплоидов на основе теоретических разработок Т.Б., репатриации редких видов орхидных с использованием растений, полученных в культуре тканей). В 1996г. коллектив лаборатории под руководством Т.Б. Батыгиной был официально признан **Ведущей научной школой РФ** ("Разработка теоретических основ семенной репродукции цветковых растений"), объединяющей большое число учеников из различных городов России и стран СНГ. В 2002г. за цикл фундаментальных и прикладных исследований в области репродукции растений коллектив лаборатории во главе с Т.Б. Батыгиной (11 чел.) был удостоен премии Правительства РФ.

2000-2015гг. – Теоретическое осмысление Т.Б. Батыгиной накопленных в предыдущие годы знаний и развитие заложенных в них идей.

В 2001г. Т.Б. Батыгиной (совм. с В.Е. Васильевой) была предложена **развернутая теория критических периодов** – применительно ко всем репродуктивным структурам растений. В ней было дано новое определение критических стадий, характеризующихся детерминированностью частей организма в отношении их дальнейшей дифференцировки и чувствительностью к факторам среды, воздействие которых приводит к переключению программ развития на альтернативные пути. Были введены понятия «общие» и «специфические» критические стадии, обосновано положение, что именно их комбинации определяют таксоноспецифичность морфогенеза, пластичность и толерантность систем репродукции видов и онтогенеза в целом; рассмотрены возможности применения критических стадий в биотехнологиях (Batygina, Vasilyeva, 2001, 2003).

В эти же годы Т.Б. Батыгиной была поднята на **новый уровень понимания проблема идентификации инициальных клеток половых зародышей и эмбриоидов *in vivo* и *in vitro*, а также роли ствольных клеток в морфогенезе и эволюции растений**. В продолжение этой идеи, феномен полиэмбрионии и генетической гетерогенности семян был впервые рассмотрен Т.Б. с позиции представлений о ствольных клетках растений, объясняющих различную генетическую природу зародышей при разных формах апомиксиса с учетом клонирования материнского и дочернего организмов. Дальнейший анализ вопросов ствольности и тотипотентности клеток, роли критических периодов в морфогенезе растений стал основой для формулировки положений об **универсальности феномена переключения программ развития**, обуславливающего переходы между различными морфопроцессами в онто- и филогенезе, а также **ключевой роли ствольных и**

соматических клеток в механизме этого явления как основы пластичности систем репродукции (Batygina, 2001, 2005; Батыгина, Виноградова, 2007, и др.)

В последние годы особенно ярко проявлялось стремление Татьяны Борисовны к анализу систем репродукции и закономерностей онтогенеза с позиций приоритетной проблемы биологии развития – **проблемы целостности и надежности биосистем**. Развивая представления о биологических объектах как системах, она акцентировала внимание на основополагающие принципы организации биосистем. Среди них – взаимодействие компонентов биологических систем разных уровней организации друг с другом и окружающей средой; появление у новых систем (возникающих при объединении систем низшего порядка в крупные функциональные единицы) уникальных свойств, отсутствующих на предыдущем уровне; наличие у биосистем свойств, несводимых к сумме свойств составляющих подсистем. С этих позиций Т.Б. постоянно развивала подход к изучению онтогенеза как к живой интегрированной биосистеме и подчеркивала **необходимость изучения интегрирующих механизмов развития**. Татьяна Борисовна начала активное обсуждение проблемы гомологии клеточных элементов репродуктивных структур, раскрыла особую роль феномена эмбриогенеза в междисциплинарном синтезе знаний не только в области биологии развития, но и в других биологических дисциплинах (Батыгина, Осадчий, 2015; Batygina, Osadtchiy, 2016).

Концептуальные разработки Т.Б. Батыгиной в эти годы нашли отражение в ее многочисленных монографиях и учебниках: «Размножение растений» (2002); «Живорождение у растений и животных: беспозвоночные и низшие хордовые» (2006); «Ботаника с основами фитоценологии: Анатомия и морфология растений» (2006); «Stem cells of plants in ontogenesis and evolution» (2010); «Morphogenetic Developmental Programs. Stem cells» (2011). Особое внимание в ее трудах по-прежнему уделялось разработке теоретических основ культивирования репродуктивных биосистем *in vitro* как основе создания новых биотехнологий (коллективные монографии «Эмбриологические основы андроклинии у пшеницы» - 2005г.; «От микроспоры к сорту» - 2010г.).

Самым крупным итогом многолетних научных поисков Т. Б. Батыгиной стала ее последняя монография «Биология развития растений. Симфония жизни» (2014), выход в свет которой можно рассматривать как одно из наиболее значимых событий. Монография фактически является единственной сводкой, в которой изложены основы теории репродукции, обозначены ключевые направления дальнейших исследований. Данный труд – это одновременно и научный фундамент, и программа научных поисков для каждого ученого-биолога независимо от сферы его научных интересов.

Научные работы Татьяны Борисовны способствовали укреплению международного авторитета отечественной науки и получили высокое признание мирового сообщества (медаль им. Г. Менделя - Чехословакия, 1984г.; медаль Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН «За вклад в ботанику» - 2014г.; член совета международной ассоциации IASPRR - с 1990г., и его почетный пожизненный член; член редколлегий журналов «Acta Biologica Cracoviensia», «The International Journal of Plant Reproductive Biology» и др.

Научно-педагогическую деятельность Татьяны Борисовны всегда отличала активная жизненная позиция, требовательность, умение привлечь внимание молодежи к проблемам биологии. Она была инициатором и организатором проведения 4-х международных школ молодых ученых «Эмбриология, биотехнология и генетика растений» (Санкт-Петербург, 2005; Уфа, 2007; Саратов, 2010; Пермь, 2012). Благодаря особому отношению Т.Б. к начинающим исследователям на этих школах всегда ощущалась атмосфера добросердечности, искреннего интереса к докладам и работам молодых ученых.

Успешность Татьяны Борисовны в науке определяли не только ее уникальные личностные качества, но и верная память учителям, активные контакты с отечественными и зарубежными школами эмбриологов. Этот прочный «оплот» Татьяны Борисовны будет служить надежной опорой и нынешнему поколению эмбриологов.

**TATYANA BORISOVNA BATYGINA (1927-2015),
LEGACY AND SCIENTIFIC CAREER**

Titova G.E.

Komarov Botanical Institute of RAS, Sankt Petersburg, Russia

e-mail: galina_titova@mail.ru

Tatyana Borisovna Batygina (Gumenskaya) was born on 24 October 1927 in Leningrad, in the family of hereditary intellectuals, in the youth she steadfastly endured the difficulties of the war years. From 1947 to 1954 T.B. studies on Biological Faculty of Leningrad State University named after AA Zhdanov, where at the Department of Genetics performs the graduate work on developmental biology of cultural forms of melons under the supervision of Associate Professor V.S. Fedorov. From 1951 to 1954gg she enters a PhD programme of All-Union Vavilov Institute of Plant Breeding and after defended a PhD thesis on tomatoes distant hybridization (supervised by the academician D. D. Brezhnev) she got a permanency in the Department of Anatomy and Morphology of Komarov Botanical Institute of AS USSR hosted by Professor V.G. Aleksandrov. Since 1960 and up to the end of life T.B. working in a laboratory of embryology, created as a part of the Department in the same year (the head – doctor of biological sciences, Professor M. S. Yakovlev). Her supervisor was E.N. Gerassimova-Navashina – an outstanding scientist and embryologist, bright follower of Academician S.G. Nawashin. Under her leadership T.B. performs the first works on the study of fertilization in plants. Due to E.N. she acquired a special relation to theoretical biology, received the first skills of organizational work.

Milestones of further scientific career: 1974 - Doctoral thesis; 1983 - Head of the Laboratory of Embryology and Reproductive Biology BIN; 1991 - Professor, 1993 - Laureate of the State Prize of the Russian Federation; 1995 - Honored Scientist of Russia, 1996 - The leader of the Leading Russian scientific schools; 2002 - Laureate of the Government Award, 2003 - Corresponding Member of Russian Academy of Sciences.

Several stages could be distinguished in scientific work of T.B. Batygina:

1954-1974 – elaboration of the problem distant hybridization in cereals.

During the work on this issue Tatyana Borisovna carried out a detailed analysis of embryological processes in distant hybridization of wheat. The result was typization of the main violations in the development of reproductive structures in different types of crossings, leading to anomalies in fertilization process, embryo- and endospermogenesis as well as important conclusion that "... any experimental work in the field of reproduction processes ... must be based, first of all, on accurate knowledge of the laws of individual development ... of plants, on the knowledge about both certain developmental processes, and their morphogenetic relationships "(Batygina 1974: C.5). Also T.B. formulated a number of other important provisions, opening up broad prospects in the solution of the problem of monocotly: discovering of Graminad-type of embryogenesis in wheat and the assumption of its existence in other monocots; understanding of the different rates of ontogenetic shifting of shoot apex in the evolution of the monocot embryo in the light of various theories of its origin. All these statements are reflected in the monograph of T.B. Batygina "Embryology of wheat" (1974) that has become a reference book for breeders, as well as her numerous learners.

1974-1984 – the work on the creation of a new investigation direction in the laboratory – experimental embryology, aimed at the study of the main problems of plant developmental biology – morphogenesis and differentiation of reproductive structures.

During these years, Tatyana Borisovna (with colleagues) has developed ***a comprehensive system approach to the study of morphogenesis of reproductive structures:*** a comparative analysis of the development of the generative structures *in situ*, *in vivo* and *in vitro* in model species with different life forms and modes of reproduction; a comparison of the kinetics of morphological, physiological and biochemical processes; simulation of conditions or the different stages of development (taking into account the results of the

morphological and biochemical studies *in vivo*). It is such methodological approach, based on a synthesis of data from various botanical disciplines, allows discover the causes of tendency to modes of reproduction and the mechanisms of their implementation through specific pathways of morphogenesis (Batygina, Vasilyeva, 1981; Batygina, 1984).

As a result of analysis of the original data and the revision of the complex terminology apparatus used to describe the process of morphogenesis *in vivo* and *in vitro*, TB elaborated ***the classification of pathways of morphogenesis in vivo and in vitro, and expressed the fundamental idea on their versatility*** (Batygina et al., 1978). At the same time she was initiator of development of issues on embryogenesis periodization in flowering plants (on the basis of notions of P.G. Svetlov (1960) about the critical stages of development and ideas of I.I. Schmalhausen (1968) on the progressive autonomy of embryogenesis). Using an integrated approach the most important critical stage of embryogenesis - the stage of the autonomy of the embryo has been identified, which is considered as a special structural and functional state, reflecting the embryo independence from the tissues of the parent sporophyte and manifests in the ability to selfregulation (the completion of embryogenesis outside maternal organism and the development of the normal plant). It was shown that the main feature of the stage of embryo autonomy is hormone independence determined by its ability to germinate on the medium without hormones *in vitro*. Special conclusion concerned the species-specificity of the stage – as a concrete properties due to the nature of morphogenetic and morpho-physiological correlations in the development of the embryo and seed (Batygina, Vasiliev, 1983, etc.).

1984-1990 – Conducting researchers on comparative embryology and the completion of the publication of 5-volume edition of "Comparative embryology of flowering plants" (1981-1990) (State Prize of the Russian Federation, 1993). Development by Tatyana Borisovna of original strategy of scientific researches in the laboratory: the expansion of the boundaries of the traditional plant embryology (as diverse discipline that studies not only the laws of ontogeny and phylogeny, but also the organism relationship with the environment, reproduction processes involved in the formation and maintenance of biological diversity) and practical orientation of the results obtained.

As ***a major research direction*** Tatyana Borisovna allocates the study of ***reproductive biology*** - trend that emerged at the junction of embryology, antecology, carpology, genetics, physiology, breeding and other disciplines related to the study of seed plant propagation. Benefits of an integrated approach to the knowledge of the morphogenesis of reproductive structures, their functions and interaction in the process of development and evolution, its value to control the stages of plant ontogenesis T.B. reveals in the monograph "Cereal grain" (Batygina, 1987). Not less T.B. tends to a logical association of problems elaborating in the laboratory in a ***single task - the establishment of the theory of plant reproduction***. The development of this theory becomes a matter of her life, the main "core" of the laboratory not only native, but also a rallying point for many domestic embryologists.

In 1980-ies. Tatyana Borisovna creates ***the concept of systems of plant reproduction***, based on a fundamentally new, unconventional approach to the assessment of the variety of types and modes of reproduction - both from the aspect of the genetic information transmitted to posterity, and morphogenetic pathways of its realization. A powerful impetus for its creation was the discovery of the phenomenon of embriodogeny, a new category of vegetative propagation, joined together the complex of phenomena of unknown status (cleavage, integumentary, nucellar polyembryony, pseudovivipary) based on a general mode of the formation of a new sporophyte - embryoidogenesis, as well as the closely related phenomenon of polyembryony and genetic heterogeneity of seeds. This discovery, resulting in the revision of the existing views on the pathways of renewal and propagation of plants, led to the creation of a new classification of the reproduction system based on two main criteria: the mode of reproduction (sexual - with the participation of meiosis and fertilization; asexual - without the participation of meiosis and fertilization) and mode of forming new sporophyte (embryo-, embryoido- and gemmorhizogenesis). A detailed study of the different aspects of these

processes has allowed T.B. reduced to a single system the ideas on reproduction modes - establishment of the status and relationship of types, modes and forms of seed and vegetative propagation (the implementation of which determines the reproductive strategy of species and provides the flexibility, tolerance of reproductive systems) (Batygina, 1987, 1989, et al.).

1990-2000 - The large-scale work on a comprehensive assessment of the diverse phenomena associated with the reproduction of plants: the revision of the conceptual apparatus, the search for a new approaches to solving problems involving knowledge of different disciplines (within 3-volumed fundamental edition "Embryology of flowering plants. The terminology and concepts", 1994-2000). Both the colleagues of the laboratory of embryology BIN and major domestic and foreign specialists were involved in this work. Implementation of that, without exaggeration, titanic publication, performed in a difficult time for Russian science, has become possible thanks to the inexhaustible optimism, the high international authority of Tatyana Borisovna and her unconditional recognition as one of the world leaders in plant embryology.

In parallel, the laboratory carries out extensive experimental researches on morphogenesis of reproductive structures and the study of reproduction systems on autoecological and population levels. The problems of application value are under development (work on replication of genotypes *in vitro*, distant hybridization, use of mutants, obtaining haploids based on theoretical developments of T.B., repatriation of rare species of orchids using plants obtained in tissue culture). In 1996 Laboratory team led by T.B. Batygina was officially recognized as the **Leading scientific schools** of the Russian Federation ("Development of theoretical bases of seed reproduction of flowering plants"), combining a large number of learners from various Russian and CIS cities. In 2002 for a series of fundamental and applied researches in the field of plant reproduction laboratory collective headed by T.B. Batygina (11 pers.) was awarded the Russian Government Prize.

2000-2015gg. - Theoretical comprehension by T.B. Batygina of knowledge accumulated in previous years and the development of ideas inherent in them.

In 2001 T.B. Batygina (together with Vasilyeva V.E.) suggested **the detailed theory on critical periods** – applied for all reproductive plant structures. A new definition of the critical stages was given, characterized by determinism of organism parts with respect to their further differentiation and sensitivity to environmental factors, the effect of which leads to switching over developmental programs to alternative pathways. The concepts of "general" and "specific" critical stages were introduced, the position was justified that their combination determines taxon specifics of morphogenesis, the plasticity and tolerance of reproduction systems of species and ontogenesis as a whole; the possibility of applying the critical stages in biotechnology was considered (Batygina, Vasilyeva, 2001, 2003).

During these years T.B. Batygina was raised to **a new level of understanding of the problem of identifying initial cells of the sexual embryos and embryoids in vivo and in vitro, as well as the role of stem cells in morphogenesis and evolution of plants**. In continuation of this idea, the phenomenon polyembryony and genetic heterogeneity of seeds was first considered by T.B. from the perspective of the notions on plant stem cells, explaining the different genetic nature of embryos at different forms of apomixis with the account of cloning of the maternal and daughter organisms. Further analysis of the questions on stem cells and cell totipotency, the role of critical periods in the morphogenesis of plants became the basis for the formulation of the provisions of **the universality of the phenomenon of switching over developmental programs**, which determines the transitions between different morphoprocesses in ontogeny and phylogeny, as well as **the key role of stem cells and somatic cells in the mechanism of this phenomenon as the basics of plasticity of reproduction systems** (Batygina, 2001, 2005; Batygina, Vinogradova, 2007, etc.).

In recent years, tendency of Tatyana Borisovna to analyze reproduction systems and ontogenesis regularities from the standpoint of the priority problem of developmental biology – **the problem of integrity and reliability of biosystems** was especially evident. Developing the ideas of biological objects as the systems, she focused attention on the fundamental

principles of the organization of biosystems. Among them - the interaction of the components of biological systems of different organization levels with each other and with the environment; appearance of unique properties in new systems (arising from the merger of the lower-order systems in the large functional units), that are absent at the previous level; availability of biosystems properties irreducible to the sum of the properties of the components of the subsystems. From this standpoint, T.B. constantly evolving approach to the study of ontogenesis as a live integrated biosystem and stressed ***the need to the study of integrating developmental mechanisms***. Tatyana Borisovna started an active discussion of the problem on the homology of the cellular elements of reproductive structures, discovered a special role of the phenomenon of embryoidogeny in interdisciplinary synthesis of knowledge not only in the field of developmental biology, but also in other biological disciplines (Batygina, Osadchy, 2015; Batygina, Osadtchiy, 2016).

Conceptual elaboration of T.B. Batygina in these years is reflected in her numerous monographs and textbooks: "Propagation of Plants" (2002); "Viviparity of plants and animals: invertebrates and lower chordates" (2006); "Botany with bases of phytocenology: Anatomy and Morphology of Plants (2006); "Stem cells of plants in ontogenesis and evolution» (2010); «Morphogenetic Developmental Programs. Stem cells» (2011). Particular attention in her writings continued to be given to the development of the theoretical foundations of the culture of reproductive biological systems *in vitro* as the basis for the creation of new biotechnologies (collective monographs "Embryological bases of androclyny in wheat" - 2005; "From microspores to sort" – 2010).

The last monograph of T.B. Batygina - "The Biology of plant development. Symphony of Life " (2014), became the major result of the years of her scientific researches, the enter of which could be regarded as one of the most significant events. The book is in fact a summary, in which the bases of the reproduction theory and key areas for further researches are outlined. This work is both a scientific fundament and the program of scientific researches for each scientist, biologist, regardless of the scope of his scientific interests.

The scientific works of Tatyana Borisovna contributed to strengthening the international authority of the national science and received high recognition from the international community (Medal of Mendel - Czechoslovakia, 1984; medal of Komarov Botanical Institute of RAS "For contribution to botany" - 2014; member of the Board of the international Association IASPRR - since 1990, and its honorary life member; a member of the editorial boards of journals «Acta Biologica Cracoviensia», «The international journal of Plant Reproductive Biology» et al.

Scientific-pedagogical activity of Tatyana Borisovna was always distinguished by proactive attitude, rigor, ability to draw the attention of young people to the problems of biology. She was the initiator and organizer of the 4 international schools for young scientists "Embryology, biotechnology and plant genetics" (St. Petersburg, 2005; Ufa, 2007; Saratov, 2010, Perm, 2012). Due to the special relation of T.B. to novice researchers the atmosphere of kindly sincere interest to the reports and the work of young scientists always feel at these schools.

Tatyana Borisovna's success in science is defined by her unique personality and loyal memory of teachers, active contacts with other domestic and foreign schools of embryologists. This bulwark of Tatyana Borisovna will be support and for the current generation of embryologists.

**ТАТЬЯНА БОРИСОВНА БАТЫГИНА – ИНИЦИАТОР
МЕЖДУНАРОДНЫХ ШКОЛ ДЛЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ «ЭМБРИОЛОГИЯ,
ГЕНЕТИКА И БИОТЕХНОЛОГИЯ»**

(на примере IV Школы, Пермь, 3–9 декабря 2012 г.)

Л.В. Новоселова, В.А. Верещагина

Пермский государственный национальный исследовательский университет,

Пермь

e-mail: Novoselova@psu.ru

e-mail: vva@psu.ru

Татьяна Борисовна Батыгина лично была организатором проведения четырех Международных школ для молодых ученых «Эмбриология, генетика и биотехнология» в Санкт-Петербурге, Уфе, Саратове и Перми. Удивительно теплой была атмосфера их проведения, детально продумана преемственность и профессионально составлены научные программы. Эти Школы стали событиями, которые объединили специалистов России и зарубежных стран благодаря опыту, контактам и целеустремленности Т.Б. Батыгиной.

Кафедру ботаники и генетики растений Пермского государственного университета многое связывает с лабораторией эмбриологии и репродуктивной биологии Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН. Научные связи были установлены еще в ту пору, когда лабораторию возглавлял заслуженный деятель науки РФ, д.б.н., профессор М.С. Яковлев. В 1969 году в университете совместно с Ботаническим институтом проводился первый симпозиум по антропоэкологии. В качестве участника в составе большой группы ученых БИН была молодая и энергичная Т.Б. Батыгина. С этого времени в течение более сорока лет мы поддерживали с ней и лабораторией эмбриологии и репродуктивной биологии самые теплые личные и рабочие отношения, встречаясь на конференциях. Многократно Татьяна Борисовна и сотрудники лаборатории давали отзывы на диссертации по эмбриологии и репродуктивной биологии, защищаемые в Пермском университете. Татьяна Борисовна часто выступала оппонентом по диссертациям, а ее научный анализ отличали высокая требовательность, объективность и доброжелательность.

По инициативе Татьяны Борисовны и при ее активном участии 3–9 декабря 2012 г. в нашем университете была проведена IV Школа для молодых ученых «Эмбриология, генетика и биотехнология». Решение о проведении Школы в Перми было принято на международной конференции, посвященной 50-летию юбилею лаборатории эмбриологии и репродуктивной биологии в декабре 2010 г.

В работе Школы приняли участие представители из четырех стран – России, Украины, Узбекистана и Монголии. Россию представляли ученые из научных центров и 22-х высших учебных заведений Москвы, Санкт-Петербурга, Екатеринбурга, Перми, Новосибирска, Саратова, Уфы, Красноярска, Липецка. Общее число участников – 250, в том числе 139 студентов и магистрантов, 8 аспирантов, 40 преподавателей, 24 лицеиста. 39 человек приняли заочное участие с публикацией материалов в сборнике. На Школе прочитано 11 лекций, 13 устных докладов, представлено 11 стендовых докладов. В сборник материалов Школы включено 46 публикаций. Программа Школы включала пленарную сессию «Общие вопросы биологии развития и репродукции» и четыре секции – «Морфогенез мужских и женских репродуктивных структур при амфимиксисе. Механизмы регуляции», «Апомиксис. Генетический контроль и надежность репродукции», «Репродуктивная биология, системы репродукции», «Морфогенез *in vitro*. Биотехнологии». Также проведены два круглых стола «Морфогенетические программы развития в онтогенезе и эволюции. Стволовые клетки», «Экспериментальный апомиксис: теория и практика». На торжественном открытии прозвучало приветственное обращение к участникам Школы председателя оргкомитета, члена-корреспондента РАН, заслуженного деятеля науки РФ Т.Б.

Батыгиной, ректора Пермского государственного национального исследовательского университета И.Ю.Макарихина и декана биологического факультета Н.И.Литвиненко. В своих выступлениях они отметили важность проведения таких Школ для молодых ученых – как потенциальной возможности появления новых идей, расширения научного кругозора и научных контактов, интеграции различных биологических дисциплин, знакомства с новыми методами исследований и их комплексным использованием.

Школу открывала лекция Т.Б. Батыгиной «Нетрадиционные представления о репродукции. Пути морфогенеза, феномен эмбриодогении и каллусогении в онтогенезе и эволюции». С докладом об истории развития исследований по репродуктивной биологии в Пермском государственном университете выступила профессор кафедры ботаники и генетики растений, заслуженный работник высшего образования РФ В.А. Верещагина. Она показала, что начало исследований цветения и опыления растений в Пермском университете относится к середине прошлого века и связано с именем профессора А.Н. Пономарева, который создал школу антэкологов, его ученики провели антэкологические исследования во всех растительных зонах на территории бывшего Советского союза от тундр до высокогорий Памира. Научное направление, заложенное А.Н. Пономаревым, продолжает развиваться до сих пор.

Области исследований, принадлежащие сфере репродуктивной биологии, чрезвычайно важны для селекции. Они включают развитие цветка, развитие семязачатков и пыльцы, опыление, рост пыльцевых трубок, взаимодействия пыльцы и рыльца, оплодотворение, развитие зародыша и эндосперма; оплодотворение *in vivo* и *in vitro*, апомиксис. По мнению В.А. Верещагиной, репродуктивная биология – это кластер, т.е. структура, объединяющая несколько равноправных частей – антэкологию, эмбриологию, генетику, биотехнологию, которые сохраняют полноценную функциональную работоспособность, исследуя общий объект.

Особое внимание докладчиком было уделено эмбриологии растений, поскольку эмбриологические данные демонстрируют экспрессию генов, контролирующих развитие репродуктивных органов цветка. Эмбриологические исследования начала В.А. Верещагина, будучи аспирантом. Эти исследования требовали специальных знаний, оборудования и квалифицированных консультаций. Большую роль в овладении методами исследований сыграла поддержка ведущих эмбриологов страны. Состоялись стажировки в лаборатории И.Д. Романова (ВИР) под заботливой опекой Л.И. Орел, на кафедре высших растений МГУ у В.А. Поддубной-Арнольди, где в полном объеме был освоен курс эмбриологии и большой практикум, а также стажировка в лаборатории эмбриологии БИН у М.С. Яковлева и М.Д. Иоффе. В.А. Верещагина исследовала эмбриологию растений из разных семейств с полиморфными цветками. Был проведен антэкологический и эмбриологический анализ цветков хазмогамных и клейстогамных, обоеполюх и с мужской стерильностью при гинодиэции, а также гетеростильных; показаны различия в проявлении мужской стерильности у гинодиэтичных видов в зависимости от генетического контроля. Этот материал лег в основу докторской диссертации «Гинодиэция, клейстогамия и гетеростилия у покрытосеменных (морфологические и эмбриологические аспекты)», защищенной в Ботаническом институте РАН (1981г.). Затем к эмбриологическим исследованиям подключились ученики В.А. Верещагиной, защитившие кандидатские и докторские диссертации. В 1990г. докторскую диссертацию «Половой полиморфизм цветковых растений» защитила ученица А.Н. Пономарева Е.И. Демьянова. В настоящее время в Пермском университете читаются специальные курсы по эмбриологии и биотехнологии, ведутся практикумы. Лаборатории оснащены первоклассным оборудованием.

Процессы биологического воспроизводства затрагивают и связывают самые разные области биологии. Поэтому с участием кафедры ботаники и генетики растений на факультете создана магистерская программа «Биология размножения и развития», предлагающая комплексное изучение процессов репродукции в основных систематических группах (прокариоты, грибы, растения, животные). Опытом реализации этой программы поделились профессор Л.В. Новоселова и доцент В.В. Жук (ПГНИУ).

Осипова М.А. (С.-Петербург) в лекции «Роль основных транскрипционных факторов в развитии растений» представила коллективное исследование (Л.А.Лутова, В.Е. Творогова, И.Е. Додуева) о генетической регуляции активности меристем, изученной на модельном объекте *Arabidopsis thaliana*. На мутантах *A. thaliana* было показано, что многие из них несут мутации в генах, кодирующих транскрипционные факторы (ТФ). Среди этих факторов, регулирующих активность меристем, особое внимание привлекают ТФ с гомеодоменом семейств KNOX и WOX. Для понимания того, насколько универсальны механизмы регуляции в меристемах растений, были исследованы также другие системы с наличием меристематической активности – клубеньки бобовых и опухоли на корнеплоде редиса. Лекция была прочитана эмоционально, логично, прекрасно иллюстрирована многочисленными слайдами.

Впечатляющей была лекция профессора А.Ю. Борисова (Санкт-Петербург). «Взаимовыгодные растительно-микробные системы: генетика, эволюция, применение в сельскохозяйственной практике». В этой лекции очень убедительно, с анализом применения комплекса методов было показано взаимовыгодное взаимодействие высшего растения (горох посевной), бактерий *Rhizobium*, образующих клубеньки на корнях бобовых, и микоризных грибов. Выявлены гены, контролирующие процессы взаимодействия в этом комплексе. Показана перспектива практического использования полученных результатов.

Основой лекции проф. С.И. Малецкого (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск) «Менделевская наследственность и репродуктивная биология растений: исторические комментарии и современное состояние» стал детальный анализ статьи Г. Менделя о наследовании признаков у ястребинок, мало известной современным биологам. Было обосновано понятие «эпигенетический контроль признаков». Интересной оказалась экстраполяция результатов, полученных Менделем, на другие объекты, в частности на сахарную свеклу и землянику гибридную. Сотрудниками лаборатории С.И. Малецкого на заседаниях секций были представлены доклады, развивающие эту тематику. Это «Эпигенетический контроль типа пола цветков у *Fragaria x ananassa* Duch. в семенных поколениях» (С.О. Батурич) и «Влияние детергента Тритон Х-100 на растения сахарной свеклы *Beta vulgaris* L.» (С.С. Кирикович, Е.В. Левитес). Изученные особенности наследования признаков у сахарной свеклы и выявление деталей биологии ее репродуктивной сферы в настоящее время успешно используются в селекции. Завершил пленарную сессию доклад Г.Р. Кудояровой (Уфа) «Роль градиентов гормонов в регуляции роста и репродуктивного развития растений». Доклады-лекции ведущих ученых состоялись и в дни работы секций Школы. С такими обобщающими докладами выступили В.С. Тырнов (Саратов) «Андрогенез *in vivo* у растений: закономерности, эволюционное и селекционное значение»; И.Н. Третьякова (Красноярск) «Соматический эмбриогенез хвойных в культуре *in vitro* как основа инновационных биотехнологий»; Л.В. Новоселова (Пермь) «Система размножения видов рода *Medicago* L. (*Fabaceae*)»; Н.Л. Колясникова (Пермь) «Эмбриология некоторых кормовых бобовых трав». Заслуживает особого внимания доклад проф. И.Н. Третьяковой, которая вместе со своими сотрудниками из Института леса РАН (Красноярск) исследует возможности получения эмбриогенных клеточных линий у хвойных растений, занимается

разработкой биотехнологии получения соматических зародышей и изучением процесса морфогенеза и его регуляции у таких зародышей. На Школе было представлено три доклада сотрудников лаборатории по этой тематике. Были найдены деревья-доноры с высоким репродуктивным потенциалом у лиственницы сибирской, кедра сибирского и кедрового стланика; построена цитофизиологическая модель индукции соматического эмбриогенеза. Разработки И.Н. Третьяковой и ее сотрудников защищены патентами и имеют большое значение для практики.

Всего было заслушано 13 устных докладов. Доклады молодых ученых Осиповой М.А. (С.-Петербург), Брейгиной М.А. (Москва), Виноградовой Г.Ю. (С.-Петербург), Волковой О.А. (Москва), Твороговой В.Е. (Санкт-Петербург), Дорофеевой М.М. (Пермь), Гуторовой О.В. (Саратов), Балабовой Д.В. (Барнаул) были отмечены дипломами. Одиннадцать докладов, преимущественно молодых исследователей из Москвы, Новосибирска, Красноярска, Перми, Астраханской области были вынесены на постерную сессию. Почти половина из них были посвящены культуре растений *in vitro*. Авторы ставили перед собой различные задачи: оптимизация размножения редких видов и сортов (*Iris glaucescens*, *Pinus pumila*, гладиолуса гибридного, гибридов тополя), получение диплоидных и гаплоидных линий (лиственница сибирская), размножение межродовых гибридов. Привлек внимание участников интерес к изучению голосеменных растений и водного папоротника сальвинии. В связи с загрязнением среды тяжелыми металлами вызвал интерес доклад о влиянии ионов никеля и меди на прорастание пыльцы на модельном объекте. Представленные доклады были содержательны, объекты интересны, использованные методы – современные, авторы владеют ими свободно.

В резолюции по итогам работы Школы ее участники отметили целостную, интегрированную направленность школы, объединяющую в рамках репродуктивной биологии возможности разных важнейших биологических дисциплин – антропологии, эмбриологии, генетики и биотехнологии; теоретическое и экспериментальное обоснование идей, разработок, поисковых исследований, которые могут быть положены в основу инновационных проектов; практическую реализацию идей и разработок, выражающуюся в разработке технологий или их отдельных элементов (это касается клеточных фитобиотехнологий, получения гаплоидных и апомиктичных растений, создание сортов, линий и гибридов). Уровень решаемых вопросов и прикладных разработок, как отмечалось в обсуждении, не уступает лучшим зарубежным аналогам, а в ряде случаев их превосходит.

Участники школы отметили хороший организационный уровень принимающей стороны, четкую работу оргкомитета конференции, возможность свободной дискуссии, интересную экскурсионную и культурную программу; не вызвала замечаний и бытовая сторона организации Школы. Еще раз мы убедились в том, что общение и обмен информацией между маститыми учеными и молодыми исследователями, важны и необходимы. Уверены, что Ботанический институт РАН и впредь будет поддерживать работу таких научных Школ, инициированных Татьяной Борисовной Батыгиной.

**TATYANA BORISOVNA BATYGINA – INITIATOR OF THE
INTERNATIONAL SCHOOL FOR YOUNG SCIENTISTS "EMBRYOLOGY,
GENETICS AND BIOTECHNOLOGY."**

(through the example of IV School, Perm, 3–9 December, 2012)

L.V. Novoselova, V.A. Vereschagina
Perm state national research university, Perm
e-mail: Novoselova@psu.ru
e-mail: vva@psu.ru

Tatyana Batygina was the organizer of the four international schools for young scientists "Embryology, genetics and biotechnology" in St. Petersburg, Ufa, Saratov and Perm. The atmosphere of these schools was surprisingly warm, the continuity had been thoroughly thought out and scientific programmes were compiled professionally. Thanks to the experience, contacts and determination of T.B. Batygina these schools have become an event, which gathered the experts from Russia and foreign countries.

Department of Botany and Genetics, Perm State University has a lot in common with the Laboratory of Embryology and Reproductive Biology, Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences. Scientific relations were established at a time when the laboratory was headed by Professor M.S. Yakovlev, Honored Science Worker of the Russian Federation, Doctor of Biology. In 1969, the university together with the Botanical Institute held the first symposium on anthoecology. Young and energetic T.B. Batygina was a participant in a large group of scientists of Botanical Institute. Since then, for more than forty years, we have maintained the warmest personal and working relations with her and the laboratory, having meetings at different conferences. For many times Tatyana Batygina and other scientists from laboratory had written the reports on the thesis on embryology and reproductive biology, defended at the Perm State University. Tatyana often acted as a reviewer for PhD and Doctoral theses, and her scientific analysis is characterized by high demands, objectivity and goodwill.

At the initiative of Tatyana Batygina and with her active participation, the IV School for Young Scientists "Embryology, genetics and biotechnology" was held in our university during the period of 3-9 December, 2012. The decision to hold the School in Perm was made at the international conference dedicated to the 50th anniversary of Embryology and Reproductive Biology Laboratory in December 2010.

The representatives of four countries took part in this School: Russia, Ukraine, Uzbekistan and Mongolia. Russia was represented by scientists from research centers and 22 higher education institutions of Moscow, St. Petersburg, Yekaterinburg, Perm, Novosibirsk, Saratov, Ufa, Krasnoyarsk, Lipetsk. The total number of participants was 250 people, which included 139 students and undergraduates, 8 graduate students, 40 teachers, 24 Lyceum students. 39 people participated in absentia with the publication of materials in the theses. During the period of the School 11 lectures were read, 13 reports were given, 11 poster papers were presented. The materials of the School included 46 publications. The program of the School included a plenary session called "General Issues of Developmental Biology and Reproduction" and four sections: "Morphogenesis of male and female reproductive structures at amphimixis. Mechanisms of regulation", "Apomixis. Genetic control and reliability of reproduction", "Reproductive biology, reproductive systems", "Morphogenesis *in vitro*. Biotechnology." Also two roundtable discussions were held: "Morphogenetic programmes of development in ontogeny and evolution. Stem cells", "Experimental apomixis: Theory and Practice.

" On the opening ceremony a welcome address to the participants of the School was said by the organizing committee of the School, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, honored science worker of the Russian Federation T.B. Batygina, Rector of Perm State National Research University I.Yu. Makarihin and Dean of the Faculty of Biology N.I. Litvinenko. In their speeches, they mentioned the importance of such Schools for young scientists as an opportunity to create new ideas, broaden scientific outlook and expand academic contacts, as well as the possibility of integration of different biological disciplines, exploring of new methods of research and its complex use.

School was opened with the lecture of T.B. Batygina called "Unconventional ideas about reproduction. Pathways of morphogenesis, a phenomenon of embryoidogeny and callusogeny in ontogeny and evolution." Professor of the Department of Botany and Plant Genetics V.A. Vereshchagina, Honored Worker of Higher Education of the Russian Federation, gave a report on the history of research on the reproductive biology at the Perm State University. She showed that the beginning of flowering and pollination studies at the Perm University refers to the middle of the previous century and is connected with the name of Professor A.N. Ponomarev, who created anthoecology school; his students conducted anthoecology research in all the vegetation zones in the former Soviet Union from the tundra to the high mountains of the Pamirs. The scientific field founded by A.N. Ponomarev, is still in the process of developing.

The research areas that belong to the field of reproductive biology are extremely important for selection. These include the development of the flower, the development of ovules and pollen, pollination, pollen tube growth, pollen and stigma interactions, fertilization, embryo development and endosperm; fertilization *in vivo* and *in vitro*, apomixis. According to V.A. Vereshchagina, reproductive biology is a cluster, i.e., structure which units several equal parts - anthoecology, embryology, genetics, biotechnology, which maintain full functional capacity, exploring the shared object. The reporter paid a particular attention to the plant embryology as far as embryological data demonstrate the expression of genes that control the development of the reproductive organs of the flower. V.A. Vereshchagina began the embryological research as a postgraduate student. This research required special knowledge, equipment and expert advice. A major role in mastering the methods of this research was played by the support of the leading embryologists of the country. There were internships in the laboratory of I.D. Romanov (Vavilov Institute of Plant Industry) under the attentive guarding of L.I. Orel, at the department of higher plants of Moscow State University with V.A. Poddubnaya-Arnoldi, where she fully mastered the course of embryology, and in the embryology laboratory of The Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences with M.S. Yakovlev and M.D. Ioffe. V.A. Vereshchagina researched the embryology of plants of different families with polymorphic flowers. The anthoecological and embryological analyzes of chasmogamous, cleistogamous flowers, bisexual and male sterile with ginodioecy flowers and heterostylous flowers were conducted; also the differences in the display of male sterility in ginodioecious types depending on the genetic control were shown. This material provided the basis of her doctoral thesis "Angiosperms' ginodioecy, cleistogamy and heterostyly (morphological and embryological aspects)" which was defended at The Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences(1981.). After some time Vereshchagina's students who defended master and doctoral theses joined embryological research. In 1990 A.N. Ponomarev's student E.I. Demyanova defended her doctoral thesis "Sexual polymorphism of flowering plants." At the present time, there are special courses on embryology and

biotechnology and the practical courses at the Perm State University. Laboratories are provided with the first-class equipment.

Biological reproduction processes affect and connect different fields of biology. Therefore, with the help of the Department of Botany and Plant Genetics master's degree program "Biology of reproduction and development" was established at the Faculty of Biology, that offers a comprehensive study of the reproduction process in the major taxonomic groups (prokaryotes, fungi, plants, animals). The Professor L.V. Novoselova and Associate Professor V.V. Zhuk (Perm State University) shared the experience in implementing of this program.

M.A. Osipov (St. Petersburg) during her lecture "The Role of the major transcription factors in the development of plants" presented collaborative study (L.A. Lutova, V.E. Tvorogova, I.E. Dodueva) of the genetic activity regulation of meristem studied on a model object *Arabidopsis thaliana*. On the example of *A. thaliana* mutants it was shown that many of them carry mutations in genes encoding transcription factors (TF). Among the factors that regulate the activity of meristems, particular attention is drawn to the TF with homeodomain families KNOX and WOX. To understand how much universal are mechanisms of regulation in meristems of plant, other systems with the presence of meristematic activity were investigate, for example, tubercule and tumors on the root crops of radish. The lecture was rather emotional, logical, and well-illustrated with numerous slides.

The lecture by Professor A.Y. Borisov (St. Petersburg) was impressive. "Mutually beneficial plant-microbe systems: genetics, evolution, appliance in agricultural practices." With the help of very convincing information and analysis of the use of complex techniques were shown the mutually beneficial interactions of higher plants (edible pea), *Rhizobium* bacteria, which forms nodules on the roots of leguminous plants with mycorrhizal fungi. The genes that control the processes of interaction in this complex are identified. The prospects for the practical use of the results are shown.

The basis of the lecture of prof. S.I. Maletsky (The Institute of cytology and genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk) "Mendelian genetic heredity and reproductive biology of plants: historical comments and modern state" was a detailed analysis of the Mendel's articles on the hawkweeds' inheritance of characters, which is little known to modern biologists. The definition of the term "epigenetic control of characters" was explained. Another interesting information was an extrapolation of the results obtained by Mendel, to other objects, in particular to sugar beetroot and strawberry hybrid. The scientists from the laboratory of S.I. Maletsky presented at the section meetings the reports developing this theme. These reports are "*Fragaria x ananassa* Duch. epigenetic type control of sex of flowers in the seminal generations"(S.O. Baturin) and" Effect of the detergent Triton X-100 on the sugar beetroot plants *Beta vulgaris* L.» (S.S. Kirikovich, E.V. Lewites). The studied characteristics of inheritance of traits in sugar beetroot and identification of details of the biology of its reproductive system is currently successfully used in selection. The plenary session was finished by the report of G.R. Kudoyarova (Ufa), "The Role of the gradients of hormones in regulating growth and reproductive development of plants." Reports-lectures of the leading scientists were also held during the days of the School sections. These summarizing reports were presented by V.S. Tyrnov (Saratov) "Androgenesis *in vivo* in plants: patterns, evolutionary and selective value"; I.N. Tretyakova (Krasnoyarsk) "Somatic embryogenesis of conifers in *in vitro* culture as a basis of innovative biotechnology"; L.V. Novoselova (Perm) "Selective system of types of the genus *Medicago* L. (*Fabaceae*)»; N.L. Kolyasnikova (Perm) "Embryology of some forage legumes." Special attention is paid to the report of

prof. I.N. Tretyakova, who together with her colleagues from the Institute of Forest RAS (Krasnoyarsk), explores the possibility of obtaining embryogenic cell lines from conifers, develops biotechnology of obtaining somatic embryos and studies the process of morphogenesis and its regulation of such embryos. Three laboratory scientists' reports on this subject were presented during the period of the School. Trees-donors were found with high reproductive potential in the Siberian larch, Siberian cedar (pine) and dwarf Siberian pine; cytophysiological model of induction of somatic embryogenesis was built. The developments of I.N. Tretyakova and her colleagues are patented and are very important for the practice.

In total 13 reports were presented. The reports of the following young scientists M.A. Osipova (St. Petersburg), M.A. Breygina (Moscow), G.U. Vinogradova (St. Petersburg), O.A. Volkova (Moscow), V.E. Tvorogova (St. Petersburg), M.M. Dorofeeva (Perm), O.V. Gutorova (Saratov), D.V. Balabova (Barnaul) were awarded with diplomas. Eleven reports, mostly of young researchers from Moscow, Novosibirsk, Krasnoyarsk, Perm, Astrakhan region were brought to the poster session. Almost a half of them were devoted to the *in vitro* culture of plants. The authors set different tasks: optimization of the selection of rare species and varieties (*Iris glaucescens*, *Rinus pumila*, gladiolus hybrid, poplar hybrids), obtaining diploid and haploid lines (Siberian larch), reproduction of intergenetic hybrids. The attention of the participants was drawn to the interest in the study of gymnosperms and water fern *Salvinia*. Because of the pollution caused by heavy metals, a lot of attention was drawn to the report on the impact of nickel and copper ions on pollen germination on the model object. The presentations were informative, objects were interesting, the methods which authors used freely were modern.

In the resolution on the results of the School, the participants noted a holistic, integrated direction of the School which, in the frame of reproductive biology, brings together the most important possibilities of different biological disciplines - anthoecology, embryology, genetics and biotechnology; theoretical and experimental study of ideas, exploratory research that can be the basis for innovative projects; the practical implementation of ideas and development, expressed in the development of technologies or its particular elements (this refers to the cell phytobiotechnology, producing haploid and apomictic plants, the creation of varieties, lines and hybrids). The level of the issues involved and applications, as noted in the discussion, is as good as the best foreign analogues, and in some cases exceed them.

Participants noted a high level of School organization of the host country, an accurate work of the Organizing Committee, the possibility of free discussion, interesting excursions and cultural program; participants were also satisfied with the accommodation and everyday issues. Once again we were convinced that the communication and exchange of information between the experienced scientists and young researchers, are important and necessary. We are sure that The Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences will continue to support the work of the scientific school, initiated by Tatyana Borisovna Batygina.

MARVELS OF TAPETUM

S.V.S. Chauhan, Seema Chauhan

Academy of Life Sciences, 8/13 I Kaushalpur, Bye Pass Road, Agra-282005, India

Tapetum is the inner most layer of the anther wall surrounding the microsporogenous cells. It is either secretory, or glandular in some species and amoeboid, or plasmodial in others. Tapetum holds considerable physiological significance. It is a nutritive jacket through which all the nutrients required by sporogenous cells pass. The importance of tapetum is demonstrated by the male-sterility resulting from any lesion in tapetal biogenesis. Tapetum plays important role in various physiological functions e.g. supply of nutrients to the developing microspores; sporopollenin synthesis; development of endothecium; production of callase, pollenkit and trephine; controls meiosis, recognition of proteins and mRNA and tapetal genes. A variety of chemical compounds, namely reducing sugars, amino acids, lipids, pollenkit, tryphine and number of proteins pass unmodified through the tapetal cells from connective cells and middle layers into the microsporangium. It is well established that pollen libraries contain a high proportion of cDNA cognate to pollen-specific or pollen expressed transcripts. Several experiments with anther-specific cDNAs by *in situ* hybridization have shown that the corresponding transcripts are localized within the tapetum in all cases. The question arises that why should tapetal messages dominate the mRNA population of the young anther when several other cell types, including the sporocytes and their derivatives are present within the microsporangium? It is likely that during early stages of anther development the tapetum is the transcriptionally dominant cell-type either in terms of the number of different transcripts produced, the quantity of individual mRNA species or both. The results of large number of experiments suggest that TAPETUM produce a number of highly expressed mRNAs. Thus, whatever the function of the corresponding genes, the protein products they specify are evidently required in large quantity e.g. structural components of the pollen wall such as sporopollenin, enzymes like $\beta(1,3)$ -glucanase and a large supply of simple nutrients. In contrast to the tapetum, the sporogenous cells do not synthesize the battery of highly abundant cell specific mRNA. Changes in the constitution of the pool of tapetum-specific transcripts presumably reflect the ontogeny of the tissue. The tapetum-specific transcripts presumably reflect the ontogeny of the tissue. The tapetum-specific transcripts, A3 and A9 which are the earliest anther-specific messages described, appear at archsporial cell stage only for a short time after differentiation of tapetum and sporogenous cells lineages.

ГАПЛОИДИЯ В КУЛЬТУРЕ ПЫЛЬНИКОВ ТРИТИКАЛЕ: ВЛИЯНИЕ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД

В.Н. Акинина, О.В. Хомякова, А.В. Поминов

Научно-исследовательский институт Юго-Востока, Саратов

e-mail: kostina_vichka@mail.ru

Скорость и эффективность являются главными факторами затрат селекционного процесса. Одним из методов традиционной селекции растений является необходимость выращивания большого числа гибридных поколений для получения гомозиготных форм, поиск и отбор среди них элитных растений для будущих сортов. Использование гаплоидов приводит к сокращению сроков селекционного процесса (в среднем на 4-5 лет) и повышает его эффективность.

Существуют три метода получения гаплоидных растений тритикале: метод селективной элиминации хромосом, культура пыльников и культура изолированных микроспор. В условиях Поволжья метод селективной элиминации хромосом для получения гаплоидов злаков имеет ряд ограничений, связанных с влиянием высоких температур и сухости воздуха на частоту оплодотворения и формирование дифференцированных зародышей (Дьячук, 2003). Культура пыльников является одним из методов массового получения гаплоидных растений тритикале (Игнатова, 2011).

Как известно, наиболее распространенными индукционными питательными средами для культивирования пыльников у видов *Poaeseae* являются N-6 (Chu, 1978) и C-17 (Wang and Chen, 1986), при этом среда C-17 характеризуется более низкой концентрацией нитратного и аммонийного азота, а также имеет другой состав витаминов.

Сравнительная эффективность этих питательных сред для различных этапов получения гаплоидных растений была изучена на 7 генотипах гексаплоидного тритикале. В среднем по всем генотипам выход эмбриогенных пыльников на питательной среде C-17 и N-6 составил 15,5 и 18,9% соответственно. Самое высокое значение признака отмечено для гибрида F₃L-1/Корнет на питательной среде N-6 – 24,3%. Частота новообразований в среднем составила 29,5% и 44%. Регенерация растений от полученных новообразований варьировала от 1,0 до 23,0% (в среднем по двум питательным средам 10,1 и 12,4%). Наибольшая частота регенерации растений выявлена у гибрида F₃L-22/Кентавр на питательной среде N-6.

Анализ вариантов позволил выявить различную долю влияния генотипа, состава питательных сред и их взаимодействия на отдельные параметры андрогенеза *in vitro*. Наибольший вклад на показатель индукции «эмбриогенных пыльников» и «индукции новообразований» оказал генотип (58,1 и 75,0% соответственно). Доля влияния питательной среды была незначительной (2,1 и 3,2%), но статистически достоверной. Влияние сочетания этих факторов составило 29,2 и 20,1%. Для регенерации растений доля влияния генотипа и взаимодействия генотип/питательная среда была примерно одинаковой (45,5 и 51,7%). Регенерация зеленых растений обусловлена, главным образом, взаимодействием генотип/питательная среда (69,8%).

Таким образом, проведенные исследования показали, что все изученные генотипы с различной частотой формировали гаплоидные растения в культуре пыльников. В тоже время, их ранжир по разным этапам гаплопродукции (формирование андрогенетических объектов и регенерация растений) не совпадал, что свидетельствует о различном генетическом контроле этих показателей андрогенеза *in vitro* у тритикале.

Наши результаты подтверждают установленные ранее факты, что высокий процент альбинизма в культуре пыльников тритикале является одним из препятствий широкого использования этой гаплоидной биотехнологии (Игнатова, 2011, Chaudhary et.al., 2005; Pratap et.al., 2005).

HAPLOIDY IN TRITICALE ANTHHER CULTURE - THE INFLUENCE OF THE MEDIUM COMPOSITION

V.N. Akinina, O.V. Khomyakova, A.V. Pominov

State Scientific Institution "Agricultural Research Institute of South-East Region"
(ARISER), Saratov

e-mail: kostina_vichka@mail.ru

Speed and efficiency play a very important role in plant improvement due to the need for cost control. DH reduces breeding process (typical 5-7 inbreeding generation) necessary to stabilize a hybrid genotype to only one.

There are three methods of triticale haploid plants production: distant hybridization following selective chromosome elimination, anther and microspore culture. Method of the selective chromosome elimination for haploid production in *Poaceae* has a series of limitations in Povolzhie region, including of high temperatures and air dryness influence on the fertilization frequency and formation of differentiated embryos (Dyatchouk, 2003). Anther culture is one of the methods of triticale mass haploid production (Ignatova, 2011).

It is known that the most widely spread nutrient mediums for *Poaceae* anther culture are N-6 (Chu, 1978) and C-17 (Wang and Chen, 1986), therewith C-17 medium is characterized by the lower nitric and ammonia nitrogen and also by another vitamins composition.

The comparative effectiveness of these nutrient mediums at the different stages of haploid production was studied for 7 triticale genotypes. Averaged over the genotypes the of embryogenic anthers frequency composed 15,5% for C-7 and 18,9% for N-6 nutrient medium. The main significance of this index was noted for hybrid cross F₃L-1/Kornet on N-6 nutrient medium (24,3%).

The new formation frequency composed in the middle 29,5% and 44%. Plantlet regeneration efficiency ranged from 1,0 to 23,05 per cent (averaged over two nutrient mediums 10,1 and 12,4). The main significance of this index was noted for hybrid cross F₃L-22/Kentavr.

Variance analysis allows revealing the different investment of genotype, medium composition and their interaction at the stages of triticale androgenesis. It was found that the embryogenic anthers and new formation frequency were significantly associated with the genotypes - investment is 58,1% and 75% accordingly. There was low but significant correlation between the genotypes and nutrient medium - investment is 2,1 and 3,2%. Significant interactions between genotypes and nutrient medium composition was observed (45, 5 and 51,7%). The plantlet regeneration is mostly associated with interaction genotype x nutrient medium (investment is 69,8%).

Thus the conducting study shows that all genotypes formed haploid plants in anther culture with different efficiency whereas their arrangement at different stages did not coincided. It confirmed that genetically independent components are involved in triticale anther culture *in vitro* ability.

This suggests that different components of androgenesis are governed by different genes leading to independent inheritance of these parameters.

Our results are in agreement with data (Ignatova et al., 2005; Chaudhary et al., 2005; Pratap et al., 2005) and confirmed that high frequency of albino plants is a particular problem in triticale anther culture.

ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ КАЛЛУСНЫХ ТКАНЕЙ ВИДОВ И ГИБРИДОВ ПШЕНИЦЫ

Н.А. Алтаева, А.Б. Искакова, Н.В. Терлецкая

РГП «Институт биологии и биотехнологии растений» КН МОН РК, Алматы
e-mail: daizy-c@mail.ru

Основу морфогенеза составляет цитодифференцировка, которую можно определить как выбор клетками одной из многих программ, заданных генотипом данного организма (Шаяхметов, 2001). Клетки приобретают способность выполнять определенную функцию, что неизбежно сопровождается возникновением сложной системы регуляторных механизмов, возникновением коррелятивных связей между ними. В основе сложного процесса морфогенеза лежит изменение и регуляция активности генов. Кроме того, процессы эмбриогенеза в нативных условиях испытывают влияние материнского организма. Эту зависимость зародыша от материнского растения можно устранить воспроизведением эмбриогенеза в контролируемых условиях *in vitro*.

Цель исследований: изучение морфогенных каллусных тканей, полученных из незрелых зародышей различных видов и межвидовых гибридов пшеницы.

Цитологические исследования каллусных тканей изучаемых видов и гибридов пшеницы проводили на временных давленных препаратах, окрашенных в 2%-ном растворе ацетокармина, приготовленном по стандартной методике Паушевой. Фотосъемку осуществляли с помощью микроскопа «MICROS», видеокамеры YONGXIN OPTICS CAM V200 и компьютерной программы YONGXIN OPTICS ScorePhoto версии 2.4 при увеличении x10 (общие планы) и x40 (отдельные клетки и группы клеток).

Морфогенные каллусы пшеницы характеризовались плотной однородной компактной структурой. Клетки каллуса имели относительно одинаковую форму и размеры. Изодиаметрическая форма клеток, хорошо окрашенные ядра и цитоплазма, а также плотное прилегание клеток друг к другу в зонах, выделенных как «морфогенные», указывало на то, что клетки являются меристематическими. Они имели более мелкие размеры и интенсивную окраску по сравнению с более крупными вакуолизированными клетками каллуса разнообразной формы, лежащими глубже. Отмечены также зоны геммогенеза, ризогенеза, формирующиеся сосудистые пучки. При анализе неморфогенных каллусов пшеницы отмечено, что мелких, «плотно упакованных» меристематических клеток очень мало. Каллус составляли неорганизованно расположенные клетки разнообразной формы, среди которых было много безъядерных, с неокрашенной цитоплазмой, предположительно погибших.

Наблюдения за развитием зародышей видов и гибридов пшеницы *in vitro* выявили различия по каллусогенезу, морфогенезу и проценту регенерации растений. Отмечено, что у *T.kiharae* блокируется каллусогенез. Показано, что имеет место выраженный эффект превосходства гибридных форм по отношению к родительским по показателю регенерационной способности, а также частая прямая регенерация из незрелых зародышей гибридов, минуя этап каллусогенеза. Факт, что сорта и виды пшеницы существенно различаются по способности к морфогенезу и регенерации, подтверждает существование генетической системы контроля этих признаков.

CYTOLOGICAL STUDIES CALLUS TISSUES SPECIES AND HYBRIDS OF WHEAT

N.A. Altayeva, A.B. Iskakova, N.V. Terletsкая

"Institute of Plants Biology and Biotechnology" of Committee of Science of Ministry of
Education and Science of Republic of Kazakhstan, Almaty.

e-mail: daizy-c@mail.ru

The basis of morphogenesis is cytodifferentiation, which can be defined as the range by cells one of the many programs, specified the genotype of the organism (Shayahmetov, 2001). The cells acquire the ability to perform a certain function, which is inevitably accompanied by the emergence of a complex system of regulatory mechanisms, the emergence of correlative links between them. At the core of complex process of morphogenesis a change and regulation the gene activity lays. In addition, embryogenesis processes are influenced by the maternal organism under native conditions. This dependence of the embryo on the mother plant can be eliminated by playback of embryogenesis under controlled conditions *in vitro*.

Objective: to study the morphogenic callus, derived from of immature embryos of different species and interspecific hybrids of wheat.

Cytological studies of callus tissues of the species and of hybrids of wheat studied was carried out on temporary squashed preparations, painted in 2% acetocarmine, solution prepared by standard Pausheva methods. Photography was performed using «MICROS» of the microscope, camcorder YONGXIN OPTICS CAM V200 and of a computer program YONGXIN OPTICS ScopePhoto version 2.4 with an increase in x10 (overall plans) and x40 (individual cells and groups of cells).

Morphogenic calluses of wheat were characterized by a homogeneous dense compact structure. The callus cells have fairly identical size and forms. The izodiametrik form of cells, well stained nuclei and cytoplasm, and the close fit of cells to each other in the areas allocated as "morphogenic", indicate on that the cells are meristematic.

They had smaller sizes and intense color as compared with larger vacuolated cells of callus which have diverse forms and lay deeper. Also we marked the gemmogenesis zone, rhizogenesis and vascular bundles. In the analysis of non-morphogenic calluses of wheat it was noted that small, "densely packed" meristematic cells was very small. Callus formed unorganized situated cells having different shapes. Among them there were many denuclearized cells and cells with uncolored cytoplasm, presumably dead.

Observations of the development of embryos of species and hybrids of wheat *in vitro* show differences by callusogenesis, morphogenesis, and the percentage of plant regeneration. It is noted that *T.kiharae* blocked callusogenesis.

A pronounced effect of superiority of hybrid forms in relation to the parent in terms of regenerative capacity and also a straight regeneration from immature embryos hybrids, bypassing the stage of callusogenesis were shown. The fact that the variety and species of wheat differ significantly by their ability to morphogenesis and regeneration, confirms the existence of the genetic control systems of these traits.

ПУТИ РАЗВИТИЯ МИКРОСПОР ПШЕНИЦЫ *IN VITRO* И ПРОЦЕССЫ ОБРАЗОВАНИЯ СПОНТАННЫХ ДИГАПЛОИДНЫХ РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ

Б.Б. Анапияев, К.М. Искакова, Е.Б. Бейсенбек

Институт инженерии высоких технологий,

НАО «Казахский национальный исследовательский технический университет

им. К.И. Сатпаева», Алматы, Казахстан

e-mail: bak_anapiyayev@mail.ru

Проблеме развитию микроспор *in vitro*, изучению процессов морфогенеза и регенерации растений и разработке гаплоидной биотехнологии пшеницы посвящено много работ (Zeng, Ouyang, 1980; Sunderland, 1984; Батыгина, 1986; Круглова, 2002). Однако, эти исследования не дали однозначного ответа на вопрос о путях развития микроспор *in vitro*. В наших исследованиях путей развития микроспор пшеницы *in vitro* в процесс деления было вовлечено более 70 % микроспор. Однако часть из них на начальных сроках культивирования начали дегенерировать или приостанавливали свое дальнейшее развитие. По результатам первого митотического деления, образующиеся структуры можно было подразделять по размерам клетки, плотности и интенсивности окрашивания. В первом случае (путь А) образовывались две «неравные» клетки, которые по размерам и плотности окрашивания различались между собой. Они были условно классифицированы на вегетативные (крупные и интенсивно окрашенные) и генеративные (мелкие) клетки. Во втором случае (путь В) после первого митотического деления образовывались «равные» клетки, которые не различались между собой по размерам, плотности и интенсивности окрашивания. По результатам наших наблюдений в развитии микроспор пшеницы, возможно и у других культур, существует и третий путь, названный нами, как эмбриоидогенный путь развития - путь Е. При развитии микроспор по пути Е происходит деление клеток меристемного типа с образованием эмбриоидов и морфогенных каллусов, способных к регенерации растений (Анапияев и др., 2003). На наш взгляд, именно развитие микроспор по пути Е определяет переключение программы развития с гаметофитного на спорофитный путь. При этом иногда наблюдался эндомитоз во время первого митотического деления, которое может быть источником дигаплоидных эмбриоидов и каллусных структур. По результатам цитозембриологических исследований нами составлена схема путей деления микроспор пшеницы *in vitro* (Анапияев, 2003). Как правило, при культивировании микроспор *in vitro*, можно встретить с различной частотой, все пути развития. Возможно, между различными путями развития существует конкуренция, что повышает вероятность существования механизма регуляции процессами деления и развития микроспор *in vitro*.

Таким образом, первое митотическое деление микроспор *in vitro* является критическим периодом, который определяет в дальнейшем морфогенетическую потенцию. Развитие микроспор *in vitro* по пути Е является самым благоприятным для быстрого образования эмбриоидов, которые формируются уже на 18-23 день культивирования, что способствует формированию спонтанных гомозиготных дигаплоидных растений-регенерантов в результате эндомитоза.

**WAYS OF DEVELOPMENT OF WHEAT MICROSPORES *IN VITRO* AND
PROCESSES OF SPONTANEOUS FORMATION OF DOUBLED HAPLOID
REGENERANT- PLANTS**

B.B. Anapiyayev, K.M. Iskakova, Y.B. Beisenbek

*Institute of engineering high technologies, Kazakh national research technical
university*

named after K.I. Satpaev, Almaty, Kazakhstan

e-mail: bak_anapiyayev@mail.ru

A great number of researches were devoted to the problem of microspores development *in vitro*, and to the study of the processes of morphogenesis and regeneration of plants and development of haploid biotechnology of wheat (Zeng, Ouyang 1980, Sunderland, 1984, Batygina, 1986, Kruglova, 2002). However, these researches haven't given a definite answer to a question of pathways of development of wheat microspores *in vitro*. In our researches of pathways of development of wheat microspores *in vitro* more than 70% microspores were involved into the division process. However the part of them at initial stages of cultivation started to degenerate or stopped their further development at various stages of cellular division. According to the results of the first mitotic division, the forming structures could be subdivided by the cell sizes, density and intensity of coloring. In the first case (A) two "unequal" cells were formed and they differed by sizes and density of coloring. They were conditionally classified on vegetative (large and intensively colored) and generative (small) cells. In the second case (B) after the first mitotic division the "equal" cells which did not differ by the sizes, density and intensity of coloring were formed. According to the results of our observation in development of wheat microspores there is a pathway we called embryoidogenic pathway of development (E), it is possible that other cultures also possess the third way. In our opinion, exactly this way (E) of development of wheat microspores determines switching over the development program from the gametophytic into the sporophytic pathway. At the same time endomitosis was sometimes observed during the first mitotic division that could be a source of doubled haploid embryoids and callus structures. By the results of cytoembryological researches we constituted the scheme of pathways of division of wheat microspores *in vitro* (Anapiyaev, 2003). As a rule, in case of microspores cultivation *in vitro*, it is possible to observe all pathways of development with various frequency. Perhaps, there is a competition between various pathways of development that increases probability of existence of the mechanism of regulation of the processes of division and development of microspores *in vitro*.

Thus, the first mitotic division of wheat microspores *in vitro* is the critical period which later defines a morphogenetic potentiality. Development of microspores *in vitro* in the E pathway is the most favorable for quick formation of embryoids which are formed for 18-23 days of cultivation and promotes the formation of spontaneous homozygous doubled haploid regenerant-plants as a result of the endomitosis.

КОМПЛЕКСНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИИ РЕДКИХ ВИДОВ ОРХИДНЫХ В СВЯЗИ С РАЗРАБОТКОЙ БИОТЕХНОЛОГИЙ ИХ РАЗМНОЖЕНИЯ

Е.В. Андропова

Ботанический институт им В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург,
e-mail: elena.andronova@mail.ru

Орхидные давно привлекают любителей и ученых не только как высоко декоративные растения, но и как интересные объекты для изучения. Они относятся к редким растениям и внесены в Приложение СИТЕС. В Красную Книгу РФ (2008) включены 65 видов орхидных из 146, произрастающих в России. Практически все дикорастущие виды растений относятся к биологическим ресурсам и представляют собой важную часть сырьевого потенциала России. Одной из задач в деле сохранения и расширения биоресурсной базы является разработка технологий для перехода от изъятия биологических объектов из природных популяций к их культивированию (Биологические ресурсы РФ, <http://www.sevin.ru/bioresrus/>). Спрос на биосырье орхидных существует, но он не может быть удовлетворен. Во-первых, вследствие очень длительного периода возобновления биоресурса природные источники быстро заканчиваются. Во-вторых, не существует эффективных технологий культивирования. Разработка таких технологий невозможна без детальных исследований биологи редких таксонов, в особенности репродуктивной биологии.

В течение длительного периода времени в БИН РАН проводится **комплексное изучение биологии орхидных**, с использованием традиционных и современных методов **систематики, эмбриологии и генетики**. Исследования до 2000 г. затрагивали вопросы оптимизации методик культивирования *in vitro*, установления факторов, влияющих на процент прорастания семян орхидных, изучение морфогенеза семян и проростков орхидных. Исследования в период 2000-2007 гг. были сконцентрированы на изучении гетерогенности семян и семенного потомства, системы опыления и скрещивания, на установлении различий в развитии растений, развивающихся в культуре *in vitro* и естественных условиях. С 2007 года по настоящее время проводится ревизия видового и внутривидового разнообразия, анализируются причины снижения численности популяций, изучаются особенности размножения и факторы, приводящие к снижению реальной семенной продуктивности (в том числе причины формирования нежизнеспособных семян), выявляются особенности генетической структуры популяций, проводится скрининг и клонирование редких форм. Особое внимание уделяется наиболее редким таксонам (*Cypripedium shanxiense* S. C. Chen, включен в Приложение к ККРФ, *Dactylorhiza ochroleuca* (Wüst. ex Boll.) Holub, *Orchis stevenii* Rehb. f.). При исследовании генетической структуры популяций представителей родов *Cypripedium* и *Dactylorhiza* было подтверждено существование межвидовых интрогрессивно гибридных комплексов, идентифицированных ранее по морфологическим признакам (Аверьянов, 1996, 1998, 2000). Были описаны новые комплексы, образующиеся с участием редких таксонов (например, между *D. ochroleuca* и *D. incarnata*, между *C. shanxiense* и *C. calceolus*). Изучение их структуры и естественного возобновления, продолжается в настоящее время. Эта работа относится к фундаментальным исследованиям микроэволюционных процессов и факторов, определяющих динамику биоразнообразия.

За длительный период изучения некоторые виды орхидных стали модельными объектами для решения важных фундаментальных вопросов в области биологии развития, биотехнологии, генетики популяций и исследования живых систем.

Автор признательна проф. Т.Б. Батыгиной – инициатору работ по культивированию *in vitro* северных видов орхидных в России за предоставленную возможность проведения исследований и за формирование сети научных контактов, которые существуют и поддерживаются по настоящий день.

A COMPREHENSIVE STUDY OF THE BIOLOGY OF RARE SPECIES ORCHID IN THE DEVELOPMENT OF BIOTECHNOLOGICAL METHODS OF REPRODUCTION

E.V. Andronova

Komarov Botanical Institute RAS, Sankt-Petersburg,
e-mail: elena.andronova@mail.ru

Orchids for a long time have attracted lovers and scientists not only as a highly ornamental plant, but as interesting objects of study. They belong to the rare plants listed in the CITES Appendix. 65 of the 146 species of orchids growing in Russia are included in Red Book of the Russian Federation (2008). Virtually all wild plant species refer to the biological resources and represent an important part of the raw materials potential of Russia. One of the objectives in the conservation and expansion of bio-resource base is the development of technologies for the transition from removing of biological objects from natural populations to their cultivation (Biological resources of the Russian Federation, <http://www.sevin.ru/bioresrus/>). The demand for biological raw materials of orchids exist, but it can't be satisfied. Firstly, there is a very long period of resumption of bio- resource, so the natural sources are rapidly running out. Secondly, there is no technology of cultivation. The development of such technologies is impossible without detailed studies of the biology of rare taxa, especially reproductive biology.

For a long period in the Komarov Botanical Institute a comprehensive study of the biology of orchids, using traditional and modern methods of systematics, embryology and genetics was conducted. Prior to 2000 the studies addressed the issues of optimization of methods of *in vitro* cultivation, establishment of the factors influencing the germination percentage of seeds of orchids, the study of the morphogenesis of seeds and seedlings of orchids. The studies in the period of 2000-2007 focused on the reseach of heterogeneity of seeds and seed progeny, pollination system and crossing, on the establishment of differences in plant development, forming *in vitro* and *in vivo*. From 2007 to the present time the revision of specific and intraspecific diversity, analyzis of reasons of the populations decline, investigations of the characteristic features of propagation and the factors leading to the decline in real seed productivity (including the reasons for the formation of nonviable seeds), the revealing of peculiarities of genetic structure in populations, the selection and cloning of rare forms were carried out. Special attention is given to the most rare taxa (*Cypripedium shanxiense* S. C. Chen, *Dactylorhiza ochroleuca* (Wüst. ex Boll.) Holub, *Orchis stevenii* Rchb. f.). In the study of the genetic structure of populations of the genera *Cypripedium* and *Dactylorhiza*, the existence of interspecific introgressive hybrid complexes previously described according to their morphology (Averianov, 1996, 1998, 2000) was confirmed. The new complexes formed with participation of rare taxa (between *D. ochroleuca* and *D. incarnata*; between *C. shanxiense* and *C. calceolus*) were described. The study of their structure and natural regeneration is currently ongoing. This work includes fundamental studies of microevolutionary processes and factors determining the dynamics of biodiversity.

Over a long period of study of some orchids species have become a model objects for the solution important fundamental questions in the field of developmental biology, biotechnology, genetics of populations, studies of living systems.

The author is grateful to Professor T. B. Batygina – the initiator of the works on *in vitro* culture of the orchids northern species in Russia, for the opportunity to conduct research and for the formation of a network of scientific contacts that exist and are maintained to this day.

ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ ПЫЛЬНИКА У НЕКОТОРЫХ ВИДОВ *KALANCHOE* (CRASSULACEAE) В УСЛОВИЯХ ИНТРОДУКЦИИ

Г.М. Анисимова

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург

e-mail: galina0353@mail.ru

Изучено строение пыльника у 5 видов рода *Kalanchoe*: *K. laxiflora*, *K. nyikae*, *K. rosei*, *K. rotundifolia*, *K. tubiflora* (сем. Crassulaceae). Материалом для исследования послужили растения, произрастающие в оранжереях Ботанического сада им. Петра Великого БИН РАН. В течение 2009-2016 гг. нами проводится мониторинг по выявлению особенностей организации репродуктивных структур для оценки успешности адаптации растений в условиях интродукции и возможности их продуцировать жизнеспособные семена.

Проведенное исследование показало, что взятые виды характеризуются как чертами сходства, так и различия. Сходство проявляется, прежде всего, в общей структуре андроеца и пыльника. Андроец состоит из 8 тычинок, расположенных в 2 круга, которые прикрепляются к внутренней стороне нижней части венчика. Пыльники 4-гнездные, вскрываются двумя продольными щелями. Формирование стенки пыльника происходит по типу двудольных, или центробежного типу. Сформированная стенка состоит из эпидермиса, эндотеция, 1-4 средних слоев и тапетума. Клетки эпидермиса небольших размеров. В процессе развития они вытягиваются в антиклинальном направлении, при этом их внутренние периклиальные и антиклинальные стенки утолщаются, а на наружных тангентальных откладывается толстый слой кутикулы. Тапетум секреторный, образован, как правило, одноядерными клетками. К моменту вскрывания средние слои и тапетум разрушаются. Различия в строении пыльника касаются числа средних слоев: 1-2 у *K. rotundifolia*, 2 у *K. laxiflora*, 2-3 у *K. nyikae* и *K. rosei*, 2-4 у *K. tubiflora*. Изученные виды различаются также строением клеток эндотеция. У *K. tubiflora* и *K. rotundifolia* фиброзные утолщения в них образуются почти по всей стенке микроспорангия до области стомиума и в ее средней части накапливаются танины. У *K. laxiflora* и *K. rosei* фиброзные утолщения и танины обнаруживаются в большинстве клеток эндотеция, за исключением области стомиума. У *K. nyikae* танины выявляются только в клетках эндотеция вблизи связника.

Спорогенная ткань 2-3-слойная. Микроспорогенез завершается образованием тетраэдральных, реже изобилатеральных тетрад. Зрелые пыльцевые зерна овально-продолговатые, одиночные, 2-клеточные. Наряду с типичными обнаружены пыльцевые зерна, которые отличаются строением и, как правило, меньшими размерами. Интегральным показателем репродуктивного состояния мужских эмбриональных структур является оценка качества пыльцевых зерен: ее значения при прорастивании на питательной среде различаются от низких у *K. tubiflora* (34.34%), средних у *K. rosei* (46, 7%) и *K. laxiflora* (52.49%) до высоких у *K. nyikae* и *K. rotundifolia* (81.29%). Таким образом, при прогнозировании семенной продуктивности изученных растений необходимо учитывать показатели фертильности пыльцы.

PECULIARITIES OF ANTHER STRUCTURE IN SOME SPECIES OF *KALANCHOE* (CRASSULACEAE) UNDER INTRODUCTION

G.M. Anisimova

Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg

e-mail: galina0353@mail.ru

The structure of the anther in 5 species of the genus *Kalanchoe*: *K. laxiflora*, *K. nyikae*, *K. rosei*, *K. rotundifolia*, *K. tubiflora* (Crassulaceae family) was investigated. The material for the study was collected from the plants growing in the greenhouses of the Great Peter Botanical Garden of Komarov Botanical Institute (BIN RAS). During 2009-2016 years we monitored to identify the features of reproductive structures organization to assess the success of plant adaptation in the conditions of their introduction and the possibility to produce viable seeds.

The investigation showed that the species studied are characterized both by similarities and differences. Similarity is manifested primarily in the structure of androecium and anther. Androecium consists of 8 stamens, arranged in 2 circles, which are attached to the inner side of the lower part of the corolla. Anthers are 4-sporangiate, opened two longitudinal slots. Formation of the anther wall occurs by dicotyledonous type or centrifugal type. Formed wall consists of epidermis, endothecium, 1-4 middle layers and tapetum. Epidermal cells have small size. In the process of development, they are drawn in anticlinal direction, while their internal periclinal and anticlinal walls are thicken, a thick layer of cuticle is deposited on the outer tangential wall. Secretory tapetum is usually formed by uninuclear cells. By the time of anther dehiscence the middle layers and tapetum are destroyed. Differences in the anther structure concern the number of middle layers: 1-2 in *K. rotundifolia*, 2 in *K. laxiflora*, 2-3 in *K. nyikae* and *K. rosei*, 2-4 in *K. tubiflora*. The species studied are also differed in the structure of endothecial cells. In *K. tubiflora* and *K. rotundifolia* fibrous thickening in them are almost formed the entire microsporangium wall up to the stomium area and tannins are accumulated in its middle part. In *K. laxiflora* and *K. rosei* fibrous thickening and tannins found in most endothecium cells, except for the stomium. In *K. nyikae* the tannins are revealed only in the cells of endothecium near the connective.

Sporogenous tissue is 2-3-layered. Microsporogenesis is completed by the formation of tetrahedral, rarely isobilateral tetrads of microspores. Mature pollen grains are ovate-oblong, single, bicellular. In addition to typical pollen grains we found pollen grains of different structure which are generally smaller in size. Pollen grain quality assessment is the integral indicator of reproductive status of male embryonal structures: its value at germination on the medium differs from the low in *K. tubiflora* (34.34%), medium at *K. rosei* (46, 7%) and *K. laxiflora* (52.49%) to high in *K. nyikae* and *K. rotundifolia* (81.29%). Thus, in the prediction of seed productivity of the plants studied indicators of pollen fertility must be taken into account.

МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ ГАПЛОИДОВ У КУКУРУЗЫ НА ОСНОВЕ НАСЛЕДУЕМОГО И НЕНАСЛЕДУЕМОГО ПАРТЕНОГЕНЕЗА

Н.В. Апанасова, О.В. Гуторова

*Национальный исследовательский Саратовский государственный университет
имени Н.Г. Чернышевского, Саратов*

e-mail: apanasova.natasha@mail.ru, olga.gutorova@mail.ru

Гаплоиды являются ценным материалом для решения различных фундаментальных и прикладных задач генетики и селекции. В связи с тем, что в норме гаплоиды встречаются с очень низкой частотой (1:1000), разработка различных методов повышения частоты их образования является актуальной. Выделяют наследуемый и ненаследуемый (индуцированный) партеногенез. В обоих случаях из неоплодотворенной яйцеклетки с редуцированным числом хромосом развивается гаплоидный зародыш материнского типа, т. е. матроклиный гаплоид. Линии кукурузы с наследуемым партеногенезом стабильно сохраняют данный признак в последующих поколениях и могут служить материалом для создания линий с нередуцированным (диплоидным) апомиксисом. Ненаследуемый партеногенез может быть индуцирован при опылении растений пыльцой линий-гаплоиндукторов. Ненаследуемые формы гаплоидии целесообразно использовать для получения чистых линий. Отсутствие у созданных линий склонности к партеногенезу позволяет избежать возникновения гаплоидов в поле и снижения урожайности.

Целью данной работы было создание новых универсальных генетически маркированных линий кукурузы (партеногенетических и гаплоиндуцирующих) для получения матроклиных гаплоидов с высокими частотами. Маркирование линий доминантными и рецессивными генами облегчит отбор гаплоидов среди потомства и позволит выбраковывать диплоидные гибриды даже на стадии сухих зерновок.

Используя цитозембриологический анализ и методы подсчета частот гаплоидии и полиэмбрионии, в потомстве гибрида между линиями ТМ (тестер Мангельсдорфа, маркированный рецессивными генами) и партеногенетической линией АТ-1, были отобраны варианты с высокой частотой наследуемого партеногенеза. На их основе была получена группа партеногенетических линий АТТМ, маркированных рецессивными генами и, характеризующихся высокой частотой развития партеногенетических зародышей (до 7%). Данные линии могут быть использованы для проведения генетического анализа, сохранения чистоты материала, облегчения отбора в расщепляющемся потомстве, создания новых партеногенетических линий и других целей.

На основе созданных сотрудниками Саратовского государственного университета гаплоиндуцирующих линий в результате многолетнего отбора была создана группа линий ЗМС-П, маркированных доминантными генами окраски зародыша, эндосперма и вегетативных органов. Растения засухоустойчивы, что позволяет успешно использовать их в условиях Нижнего Поволжья. Частота возникновения гаплоидов при использовании данных линий в качестве опылителя может достигать 10%. Это позволяет получать гаплоиды в количестве, достаточном для проведения различных селекционных работ.

METHODS OF CORN HAPLOIDS PRODUCTION ON THE BASIS OF THE HERITABLE AND NONHERITABLE PARTHENOGENESIS

N.V. Apanasova, O.V. Gutorova

National Research Saratov State University by N.G. Chernyshevsky, Saratov

e-mail: apanasova.natasha@mail.ru, olga.gutorova@mail.ru

Haploids are a valuable material for the decision of various genetics and selection fundamental and applied problems. In connection with that in norm haploids meets with very low frequency (1:1000), development of various methods to increase haploids frequency is important. The heritable and nonheritable (induced) parthenogenesis are distinguished. In both cases haploid embryo of maternal type, i.e. matroclinal haploid develops from an unfertilized egg cell with the reduced chromosome number. Maize lines with a heritable parthenogenesis keeps stable the given trait in following generations and can serve as stuff for building lines with nonreduced (diploid) apomixis. The nonheritable parthenogenesis can be induced by plants pollination with haploinducing lines pollen. Nonheritable haploidy forms are reasonable for using for pure lines reception. Absence of tendency to a parthenogenesis at the created lines allows to avoid haploids originating in field and decreasing in productivity.

The purpose of the work given was the creating of a new universal genetical marked maize lines (parthenogenetic and haploinducing) for matroclinal haploids reception with high frequencies. Marking of lines by dominant and recessive genes will facilitate haploids screening in progeny and allow culling the diploid hybrids even at a stage of dry corn seeds.

Using cytoembryological analysis and methods of haploidy and polyembryony frequencies calculation, in progeny of the hybrid between lines TM (tester of Mangelsdorf, marked by recessive genes) and parthenogenetic line AT-1, variants with high frequency of a heritable parthenogenesis have been taken. On their basis the bunch of the parthenogenetic lines ATTM marked by recessive genes and described by high frequency of parthenogenetic embryo development (up to 7 %) has been received. The given lines can be used for carrying out genetical analysis, material purity conservation, simplification of selection in segregated progeny, creating of new parthenogenetic lines and other purposes.

On the basis of haploinducing lines created by Saratov state university researchers as a result of perennial selection the bunch of lines ZMS-P, marked by dominant genes of embryo, endosperm and vegetative organs coloration had been created. Plants are drought-resistant, that allows using them successfully in the conditions of the Nizhny Volga region. Frequency of haploids appearance using the given lines as the pollinators can reach 10 %. It allows receiving haploids in amount, sufficient for carrying out various selection works.

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ НАДЕЖНОСТИ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ У РОДОДЕНДРОНОВ (*RHODODENDRON L.*)

А.А. Бабро

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург

e-mail: ABabro@binran.ru

Принцип целостности и механизмов системы надёжности – резервы, отказы, апоптоз, клонирование, переключение программ развития - входит в число основных принципов формирования систем репродукции (Батыгина, 2013).

Исследование эмбриологии растений с учетом теории надежности приобретает особое значение при выращивании в условиях интродукции, когда новые условия произрастания, в том числе во время критических периодов развития репродуктивных структур, зачастую вызывают больше отказов на различных этапах развития, чем это происходит в природе. Однако при успешной интродукции система надежности растения за счет различных резервов обеспечивает семенное размножение. Условия, выходящие за пределы действия системы надежности данного вида, приводят к отказу на соответствующей стадии развития и, в конечном итоге, отсутствию семенного потомства.

У рододендронов (на примере *R. schlippenbachii* и *R. luteum*) в ботанических садах Санкт-Петербурга был выявлен ряд резервов на стадиях микроспорогенеза, цветения, опыления, прорастания и других.

У *R. schlippenbachii* андроцей представлен 10 тычинками, среди которых можно выделить две группы – имеющие большую длину с абаксиальной стороны цветка, имеющие меньшую длину – с адаксиальной.

Существенные различия между ними касаются времени достижения микроспорами одной из критических стадий – стадии сильновакуолизированной микроспоры, когда особенно велика вероятность отказа. В условиях Санкт-Петербурга микроспоры в абаксиальных тычинках достигают данной критической стадии поздней осенью и остаются на ней в течение зимы, что приводит к большому количеству отказов, проявляющихся в разрушении ядра и цитоплазмы. За счет асинхронности в развитии микроспоры в пыльниках адаксиальных тычинок входят в период зимнего покоя после прохождения мейоза, не достигнув указанной стадии, которая наступает весной следующего года и протекает в более благоприятных условиях.

Для видов рода *Rhododendron* характерна аллогамия. Однако исследование показало, что у *R. luteum* в качестве резервной системы скрещивания на заключительных этапах цветения наблюдается автогамия. В этом случае опыление может происходить при контакте рыльца пестика с пыльцой, попавшей на венчик и тычиночные нити.

Также определенные резервы можно наблюдать и в процессе развития семязачатков и семян, при прорастании.

Благодаря действию системы надежности в большинстве случаев опыление и завязывание семян у рассматриваемых видов все же происходит, и лишь в редких случаях, при воздействии факторов, выходящих за пределы действия их системы надежности, наблюдается полное отсутствие семян.

Изучение элементов системы надежности различных видов, возможно, поможет в будущем оценивать перспективность их интродукции в тех или иных условиях.

SOME ASPECTS OF REPRODUCTION SYSTEM RELIABILITY IN RHODODENDRONS (*RHODODENDRON* L.)

A.A. Babro

Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg
e-mail: ABabro@binran.ru

The principle of integrity and mechanisms of reliability system - reserves, failures, apoptosis, cloning and switching over developmental program is one of the main principles of reproduction systems formation (Batygina, 2013).

Embryological research with the use of reliability theory obtains a special significance for plants introduction. The new environmental factors often cause more failures in reproductive structures during all of their developmental stages than it usually being in nature. Especially these factors affect the plants during their critical periods and stages. However, when introduction is successful, the seed reproduction is ensured by the reliability system of the plant species for the expense of some reserves. The conditions, overstepping the limits of the species' reliability system, causes the total failure in certain developmental stages and finally the absence of seed reproduction.

In rhododendrons in Botanical garden of Saint-Petersburg (*R. schlippenbachii* and *R. luteum* were studied) a certain reserves at the stages of microsporogenesis, flowering, pollination, germination and others were found out.

The androecium in *R. schlippenbachii* consists of 10 stamens, and two groups of them can be distinguished – the longer stamens on abaxial side of flower and the shorter ones on adaxial side.

The essential distinctions between these groups of stamens concern the time of reaching the highly-vacuolized microspore stage – one of the critical stages when the probability of the failure is especially high. In Saint-Petersburg, the microspores in the abaxial stamens' anthers reach this critical stage in autumn and keep in it during winter. It causes a lot of failures seen as nucleus and cytoplasm degeneration. Microspores in the anthers of adaxial stamens enter the winter dormancy just after the meiosis without reaching this critical stage because of the asynchronism in microspore development between the groups of stamens. They pass the highly-vacuolized stage in the spring of the next year, under the more favourable conditions.

Allogamy is characteristic for *Rhododendron* genus. However, autogamy as a reserve crossing system in *R. luteum* is present when flower being fading. Pollination in this case may occur during contact of the stigma and pollen adhered to corolla and filaments.

Some reserves may be found out also during ovules and seeds development and germination of seeds.

The knowledge of the elements of plant's reserves could probably help us to evaluate the perspectives of its introduction in certain condition.

СИСТЕМЫ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК РАСТЕНИЙ И ЖИВОТНЫХ – ОСНОВА РАЗВИТИЯ, ВЫЖИВАНИЯ И РЕПРОДУКЦИИ ОРГАНИЗМА

Т.Б.Батыгина¹, В.В.Исаева²

¹Ботанический институт им. В.Л. Комарова, Санкт-Петербург;

²Институт проблем экологии и эволюции РАН им. А.Н. Северцова, Москва,

Институт биологии моря ДВО РАН им. А.В. Жирмунского, Владивосток

e-mail: vv_iseava@mail.ru

В эволюции каждого таксона растений и животных развилась своя система стволовых клеток как основа гибкого и устойчивого развития, выживания и репродукции на всех стадиях онтогенеза и жизненного цикла (Batygina, 2010, 2011; Shukalyuk, Isaeva, 2013). В жизненном цикле растений и животных, помимо полового процесса, нередко наблюдается агамная репродукция путем естественного клонирования организма. Множественные пути формирования индивида растений включают половую репродукцию, партеногенез, эмбриоидогению и гемморизогию (Batygina, 2010, 2011). Способы возникновения индивида животных также весьма разнообразны: половое воспроизведение, партеногенез, полиэмбриония и различные типы агамной репродукции (почкование и деление).

Фундаментальным отличием растений от животных признана способность к поддержанию тотипотентных или плюрипотентных стволовых клеток в течение всей жизни (Lohman, 2008; Sablowski, 2010; Альберт, Ежова, 2013). Однако поддержание в течение всей жизни организма тотипотентных/плюрипотентных стволовых клеток, обеспечивающих половое и бесполое размножение, характерно для многих беспозвоночных животных, включая представителей хордовых (Rinkevich et al., 2009; Исаева, 2010; Shukalyuk, Isaeva, 2012). У растений тотипотентные стволовые клетки могут образовываться *de novo* (Альберт, Ежова, 2013), путем дедифференцировки (Lohman, 2008; Batygina, 2011), но у некоторых животных обнаружена спецификация тотипотентных/плюрипотентных клеток *de novo* (см. Shukalyuk, Isaeva, 2012). Отличительной особенностью растений признано также наличие генетических систем, прекращающих существование пула стволовых клеток, например, флоральной меристемы (Альберт, Ежова, 2013), однако и у животных многие популяции стволовых клеток характеризуются экспрессией специфического набора генов (Shukalyuk, Isaeva, 2012) и прекращают свое существование в ходе онтогенеза.

Новый индивид растения может развиваться из одной соматической клетки (Batygina, 1991, 2010; Lohman, 2008; Sablowski, 2010), тогда как у животных только зигота и ранние бластомеры могут обеспечить возникновение целого организма. При бесполом размножении животных новый индивид или зооид колонии развивается из комплекса стволовых клеток, а не из единственной клетки (Rinkevich et al., 2009; Исаева, 2010). Растения отличает и невозможность активного перемещения стволовых клеток (Gilbert, 2006; Sablowski, 2010).

Возможность осуществления репродуктивной стратегии, сочетающей половое и бесполое размножение, клеточной основой которой служат тотипотентные/плюрипотентные стволовые клетки, определяет сходство систем стволовых клеток растений и животных. Различия же проявляются в способности к активной подвижности стволовых клеток лишь у животных и к развитию клонального организма из одной стволовой клетки только у растений. Системы стволовых клеток обеспечивают индивидуальное развитие, выживание (поддерживая тканевую гомеостаз, осуществляя физиологическую и репаративную регенерацию) и репродукцию, половую и агамную, всех многоклеточных организмов.

**STEM CELL SYSTEMS
IN PLANTS AND ANIMALS – THE BASIS OF DEVELOPMENT, SURVIVAL
AND REPRODUCTION**

T.B.Batygina¹, V.V.Isaeva²

¹*Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg*

²*Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences,
Moscow,*

*Zhirmunsky Institute of Marine Biology of the Russian Academy of Sciences,,
Vladivostok*

e-mail: vv_isaeva@mail.ru

In the evolution of each taxon of plants and animals, their own system of stem cells developed as a basis of flexible and sustainable development, survival and reproduction at all stages of ontogeny and life cycle (Batygina, 2010, 2011; Shukalyuk, Isaeva, 2013). In the life cycle of some plants and animals, in addition to the sexual process, there is agamic reproduction by the natural cloning of an organism. Multiple pathways of individual plant formation include sexual reproduction, parthenogenesis, embryoidogeny and gemmorhizogeny (Batygina, 2010, 2011). The pathways of individual animal formation are also widely diversified: sexual reproduction, parthenogenesis, polyembryony and various types of agamic reproduction (budding and fission).

The ability to maintain totipotent or pluripotent stem cells throughout life was recognized as a fundamental difference between plants and animals (Lohman, 2008; Sablowski, 2010; Albert, Ezhova, 2013). However, the maintenance throughout the life of the organism toti/pluripotent stem cells, providing sexual and asexual reproduction, is typical for many invertebrates, including Chordata (Rinkevich et al, 2009; Isaeva, 2010; Shukalyuk, Isaeva, 2012). Plants totipotent stem cells can be generated *de novo* (Albert, Ezhova, 2013), by dedifferentiation (Lohman, 2008; Batygina, 2011), but in some animals specification of toti/pluripotent cells *de novo* was shown (see Shukalyuk, Isaeva, 2012). The presence of genetic systems, terminating the existence of the stem cell pool, for example, a floral meristem, is recognized as a distinctive feature of the plant (Albert, Ezhova, 2013), but in animals, pluripotent stem cells are also characterized by the expression of a specific key genes (Shukalyuk, Isaeva, 2012), and many populations of stem cells become extinct during ontogeny.

A new plant individual can develop from a single somatic cell (Batygina, 1991, 2010; Lohman, 2008; Sablowski, 2010), while in animals only the zygote and early blastomeres can provide the appearance of the whole organism. In asexual reproduction of animals a new individual or zooid in colony develops from a complex of stem cells, not from a single cell (Rinkevich et al, 2009; Isaeva, 2010). Plants are distinguished from animals also with the inability of stem cells to active movement (Gilbert, 2006; Sablowski, 2010).

The similarity of stem cell systems in plants and animals is determined by the reproductive strategy that combines sexual and asexual reproduction, with toti/pluripotent stem cells as the cellular basis of such strategy. Differences are manifesting in the active motility of stem cells only in animals, and ability of a whole clonal organism development from a single stem cell only in plants. Stem cell systems provide individual development, survival (maintaining tissue homeostasis, carrying out physiological and reparative regeneration) and reproduction, sexual and agamic, in all multicellular organisms.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ АПОМИКСИСА

В.Б. Брюхин

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург

Санкт-Петербургский государственный университет

(ybrukhin@gmail.com)

Апомиксис – это способ бесполого воспроизведения растений посредством семян, который встречается у более, чем 400 видов растений, принадлежащих к почти 40 семействам. Считается, что апомиксис эволюционировал от половых предков независимо у нескольких таксонов. Апомиксис может рассматриваться как вариация полового способа репродукции размножения, при котором определенные этапы утрачены, дерегулированы, асинхронизированы либо существенно сокращены и изменены. Таким образом, апомиксис и половое воспроизведение тесно взаимосвязаны, при этом многие регуляторные механизмы у них являются общими. Молекулярные и генетические основы, лежащие в основе апомиксиса и амфимиксиса до сих пор остаются плохо изученными. Способность производить клоны материнского растения, а следовательно закреплять желаемые генетические признаки во многих последующих поколениях различных видов культурных растений, может привести к ускорению создания эффективных стратегий растениеводства на основе знаний о генетических аспектах апомиксиса. Потенциал апомиксиса в качестве технологии нового поколения для разведения растений привлекает огромный интерес к выяснению механизмов его молекулярно-генетической регуляции.

В докладе планируется обсудить основные стратегии изучения молекулярно-генетической регуляции апомиксиса: i) идентификация и характеристика генов, ответственных за апомиксис у природных апомиктов, а также ii) попытка индуцировать некоторые признаки апомиксиса у растений, в природе размножающихся только половым путем, посредством нокаута или экспрессии определенных генов. Также планируется осветить функцию и фенотипическое проявление частичного либо полного нокаута некоторых генов, ответственных за отдельные этапы апомиксиса: i) Мегаспорогенез и отсутствие редукции мегаспоры (*DYAD = SWI1*, *msd* – *megasporogenesis defective*, *mac1* – *multiple archegonial cells1*, ранний мейотический ген *IME1*, *RIM11* – содержащий консервативный субдомен протеинкиназы, *am1* – *ameiotic1*, *afd* – *absence of first division*, *el1* – *elongate1*, *tri* – *triploid inducer*, *am1* – *ameiotic1*, *DMC1*; *OSD1* и другие; ii) Мегagamетогенез (развитие зародышевого мешка): *Gf1* – *Gametophytic factor1*, *fem* – *female gametophytic factor*, *andarta*, *tistrya*, *PRL* – *Prolifera*, *CDC*, *IG* – *Indeterminate Gametophyte*, *SWA1* – *Slow Walker1*, *LO1* – *Lethal Ovule1* и другие; iii) Активация яйцеклетки и партеногенез: *ig*, *hap* – *haploid initiator*, *SERK* – *Somatic Embryogenesis Receptor Kinase*, *Ptg* – *parthenogenesis*, *Spg*; iv) Развитие эндосперма и импринтинг: *FIE* – *Fertilization Independent Endosperm*, *FIS1* – *Fertilization Independent Seed*, *MEA* – *Medea*, *PICKLE* – фактор *CHD3*, ремоделирующий хроматин, *LEC1* – *Leafy Cotyledon1* (субъединица *HAP3*, связывающаяся с боксом *CCAT*), *LEC2* – *Leafy Cotyledon2* (семейство транскрипционных факторов *B3*) и другие.

MOLECULAR AND GENETIC REGULATION OF APOMIXIS

V. B. Brukhin

Komarov Botanic Institute RAS, Saint Petersburg

Saint Petersburg State University

(ybrukhin@gmail.com)

Apomixis is asexual way of plant reproduction through seeds, which could be found in more than 400 plant species representing almost 40 families. It is believed that apomixis evolved independently in several taxa from sexual ancestors. Apomixis could be considered as a developmental variation of sexual reproduction in which some steps are lost, reduced, deregulated, asynchronised or changed. Thus, apomictic and sexual reproduction are closely related and they share many regulatory components. Molecular and genetic basis underlying apomixis and amphimixis (sexual reproduction) regulation still remains poorly understood. The ability to produce maternal clones and therefore to fix useful traits in the further generations of various crop plants could streamline agricultural breeding strategies based on the genetic aspects of apomixis. The potential of apomixis as a next generation technology for plant breeding attracts huge interest to elucidate molecular and genetic mechanisms of its regulation.

In my talk I am going to discuss the main strategies to understand the genetic and molecular control of apomixis regulation: i) identification and characterization of genes causing apomixis in apomictic species and ii) Attempts to induce the apomictic traits and mimic apomixis in non-apomictic species, which normally propagate only through the sexual way, by knockout and expression of the certain genes. Also the function and phenotypic expression of the knocked out genes affected apomixis traits will be elucidated: i) Megasporogenesis and nonreduction of megaspore (*DYAD = SWI1, msd – megasporogenesis defective, mac1- multiple archegonial cells1, IME1 – early meiotic gene, RIM11- contains conserved protein kinase, am1 – ameiotic1, afd – absence of first division, ell – elongate1, tri – triploid inducer, am1 - ameiotic1, DMCI; OSD1, and others;* ii) Megagametogenesis (embryo sac development): *Gf1 – Gametophytic factor1, fem – female gametophytic factor, andarta, tistrya, PRL – Prolifera, CDC, IG – Indeterminate Gametophyte, SWA1 – Slow Walker1, LO1 – Lethal Ovule1, and others;* iii) Egg activation and parthenogenesis: *ig, hap – haploid initiator, SERK – Somatic Embryogenesis Receptor Kinase, Ptg - parthenogenesis, Spg;* iv) Endosperm development and genomic imprinting: *FIE – Fertilization Independent Endosperm, FIS1 – Fertilization Independent Seed, MEA – Medea, PICKLE – CHD3 chromatin-remodeling factor, LEC1- Leafy Cotyledon1 (CCAT box-binding HAP3 subunit), LEC2- Leafy Cotyledon2 (B3 family of transcription factors) and others.*

АНОМАЛИИ МЕЙОЗА И ФОРМИРОВАНИЯ ПЫЛЬЦЫ У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *Trollius*

Л.В. Буглова

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, Новосибирск

e-mail: astro11@rambler.ru

Уточнен ряд вопросов, касающихся несоответствия между обнаруженным ранее большим количеством нарушений в мейозе у представителей рода *Trollius* и довольно хорошей жизнеспособностью зрелой пыльцы (Буглова, 2015).

Особенностью купальниц является большое количество тычинок с мелкой пыльцой (около 18 мкм). Роль средних слоев, как питательных для развития микроспор, слабо выражена: первый средний слой не разрушается и сохраняется в зрелом пыльнике, а второй (и третий, если есть) разрушаются в течение мейотического периода. Поэтому элиминацию части мейоцитов для питания остальных можно отнести к разряду полезных адаптивных явлений.

Мы обнаружили зависимость между типами нарушений и расположением тычинок не только в пределах цветка, но также и расположением мейоцитов в пределах гнезда пыльника.

В пыльниках внешнего ряда включаются разнообразные механизмы нарушения деления и развития пыльцы. В зоне между тапетумом и нормально развивающимися мейоцитами в центре пыльника регулярно наблюдается остановка мейоза на разных стадиях: между профазой I и интеркинезом, между первым и вторым делениями. Мейоциты здесь становятся тапетоподобными – крупными двуядерными клетками с повышенной базофильностью. Далее они резко увеличиваются в размерах, теряют базофильность и элиминируются раньше, чем нормальные клетки тапетума. В нашей предыдущей работе такие клетки описаны на стадии тетрад как «промежуточные». В пыльниках с незначительным содержанием подобных клеток развивается нормальная пыльца. В пыльниках, где масса таких клеток значительна, или они формируются в его центральной части, практически все мейоциты делятся с нарушениями.

Нарушения функционирования веретена деления наблюдаются и во время первого и во время второго деления мейоза. Соответственно, деление может прекратиться на двуядерной стадии, регистрируется по наличию ядер с перетяжками, или на стадии тетрад. При этом образуются неравные по размерам микроспоры вплоть до безъядерных.

Выявлены слипания хроматид в группы и выбросы хромосом за пределы метафазной пластинки. Последнее явление, как правило, приводит к образованию внешне нормальных тетрад, но на стадии тетрад зарегистрирован апоптоз, который может быть вызван подобными нарушениями.

Во внешнем ряду пыльников незначительное количество пыльцы, дожившей до стадии зрелости, является 100% стерильным.

Несмотря на такое большое количество нарушений, в средних рядах пыльников генезис спорогенной ткани проходит более менее нормально, и формируется жизнеспособная фертильная пыльца.

Род *Trollius* является «древним», т.е. не претерпевшим адаптационных ароморфозов, таких как, уменьшение и стабилизация количества тычинок. При этом у его представителей сформировался механизм, обеспечивающий полноценное питание развивающейся пыльцы, с использованием не только тапетума, но и части спорогенной ткани. Возможно этот механизм, в числе прочего, обеспечил выживание и успешное освоение районов с суровыми климатическими условиями.

ABNORMALITIES OF MEIOSIS AND POLLEN PRODUCTION IN *TROLLIUS* SPECIES

L.V. Buglova

Central Siberian Botanical Garden SB RAS, Novosibirsk

e-mail: astro11@rambler.ru

Inconsistency between previously revealed significant abnormalities of meiosis and fairly good viability of mature pollen grains in *Trollius* species have been revised in this paper (Buglova, 2015).

The significance of anther middle layers in nutrition of microspore developing is feebly marked; the first middle layer does not destroy and remains in mature anthers, the second middle layer (and the third one, if present) destroys during meiotic period. Therefore, the partial elimination of meiocytes is more likely to be classified as a valuable adaptive event aimed at surviving of the residuary meiocytes.

We found out the correlation between the type of abnormalities and stamina location, and the arrangement of meiocytes in an anther, as well.

Different mechanisms of abnormalities in meiotic division and pollen development have been registered into the outer line anthers. In the central zone of anther, located between tapetum and normally developed meiocytes, the meiosis terminates regularly at the different stages: between prophase I and interkinesis, and between the first and the second cell divisions. Here, meiocytes become large tapetum-like double-nucleated highly basophilic cells. Then, they increase in size dramatically, their basophilia decreases, and finally, these cells eliminate earlier than the normal tapetum cells. In anthers, where their amount is negligible, pollen grains could develop normally; and on the contrary, if anthers contain many such cells, or they occupy the center of the anthers, almost all meiocytes divided with disorders.

Cleavage spindle disturbances occur both at the first and the second meiotic cell division. The cell division could terminate at the double-nucleus stage, which can be registered by the presence of two nuclei with constriction <http://www.lingvo-online.ru/ru/Search/Translate/GlossaryItemExtraInfo?text=%d0%bf%d0%b5%d1%80%d0%b5%d1%82%d1%8f%d0%b6%d0%ba%d0%b0&translation=constriction&srcLang=ru&destLang=en>, consequently, or at the stage of tetrads. If this is the case, microspores unequal in size or even nuclear-free are produced.

We have also determined chromatid cohesion into groups and its emission outward the metaphase plate. The last phenomenon usually leads to the forming of phenotypically normal tetrads. However, they are exposed to apoptosis at the stage of tetrads, which can be induced by this kind of abnormalities.

The outer line of anthers contains a negligible amount of pollen grains, which are 100% sterile.

Outer row ranks have a large number of abnormalities, but in the middle ranks form viable and fertile pollen. The genus *Trollius* is «ancient», e.g., has not transformed significantly via adaptive aromorphosis, like decreasing and stabilization the number of anthers. Thus in *Trollius* species formed a mechanism for developing pollen nutrition, using not only the tapetum, but also a part of sporogenous tissue. Perhaps this mechanism, among other things, provided plants successful setting and survival in regions with harsh climatic condition.

О ГИСТОЛОГИЧЕСКОМ ПРОЦЕССИНГЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ТКАНЕЙ (ИСТОЧНИКИ АРТЕФАКТОВ ПРИ ФИКСАЦИИ, ПЕРЕЖИВАЮЩИЕ СРЕЗЫ РАСТИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ)

А.Ю. Буданцев

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино

e-mail: budantsev@mail.ru

Конечная цель изучения гистологических и цитологических микропрепаратов заключается в понимании нативной организации клеток и тканей. Но из практического опыта применения микроскопии для изучения морфологии клеток и межклеточной коммуникации известно, что процедуры, которые входят в процесс подготовки микропрепаратов (гистологический процессинг) приводят к различным нарушениям прижизненной морфологии клеток и тканей. Такие нарушения выражаются сжатием, набуханием тканей и клеток, локальными деформациями, уплотнением тканей, разрушением определенных компонентов тканей и др. Эти нарушения связаны с разными скоростями проникновения в ткань реагентов, входящих в процедуры гистологического процессинга, с механизмами взаимодействия реагентов с внутриклеточными и межклеточными химическими комплексами и др.

Первая операция гистологического процессинга, как правило, связана с химической фиксацией образцов нативной ткани. Изучение деформации тканей при фиксации представляет важную проблему для правильной интерпретации геометрических параметров клеток и тканей при микрометрическом анализе, и при выполнении трех мерных реконструкций структур разного уровня организации. Изучение деформации тканей при фиксации представляет довольно сложную задачу и волюмометрические методы, используемые в аналитической и физической химии (например, с использованием пикнометров) практически нельзя использовать. Мы пытаемся разработать методы анализа изображения образцов тканей в динамике фиксации для решения указанной задачи. Объектом исследования была выбрана апикальная часть корешков лука (*Allium cepa*). Изучены деформации корневых апексов при действии водных, спиртосодержащих и хромсодержащих фиксаторов. Проводились измерения длины, диаметров, площади периметра и длины периметра, объема и площади поверхности образцов апекса в процессе фиксации. Показано, что наиболее выражены деформации при применении спиртосодержащих фиксаторов.

Химические фиксаторы обычно представляют смеси химически активных соединений: спирты, альдегиды, органические и неорганические кислоты, органические растворители и др. Часто в одном фиксаторе содержатся сильный окислитель и восстановитель и, таким образом, смесь фиксатора становится нестационарной и неопределенной системой в связи с продуктами окислительно-восстановительных реакций. Изучение реакций внутри сложного фиксатора имеют значение для правильного и эффективного их использования, правильной интерпретации морфологической картины и изменению протокола фиксации. Мы использовали спектральный метод для оценки реакций внутри известного фиксатора Навашина. Показано, что фиксатор Навашина представляет собой *неустойчивую* в химическом отношении смесь, и фиксация происходит в нестационарном растворе переменного состава, включающего: *хромовую кислоту, формальдегид, уксусную кислоту, муравьиную кислоту и ацетат хрома (III)*.

Наконец, представляет интерес возможность использования срезов нативной растительной ткани (переживающих срезов) в морфологических и функциональных исследованиях. Обсуждение этой проблемы представляет интерес в связи с большим прогрессом использования переживающих срезов нервной ткани в экспериментальной клеточной биологии. Нами сконструирован специальный микротом-резак для получения срезов нативной (в том числе растительной) ткани. Результаты будут представлены для обсуждения.

THE HISTOLOGICAL PROCESSING OF PLANT TISSUES (FIXATION'S ARTEFACTS, SLICES OF PLANT TISSUES)

A.Yu. Budantsev

Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of the Russian Academy of Sciences, Puschino

e-mail: budantsev@mail.ru

It is well known that the procedures included in the process of preparing sections for microscopy (histological processing) lead to various damages of the of cells and tissues morphology.

Study of tissue deformation during fixing (shrinkage, swelling tissues and cells, local deformations of certain tissue components etc.) is an important issue for the interpretation of the geometric parameters of cells and tissues and for the three-dimensional reconstruction of the cells and tissues structures. The study of these damages in fixing are the complex problem and volumetric methods applying in analytical and physical chemistry can not be used practically. We are trying to develop methods of image analysis of tissue samples in the dynamics of fixation for solving this problem. The object of research – the apical part of the root of onion (*Allium cepa*). The deformations of root apex under the influence of water-, alcohol- chromium-containing and retainers were studied. The measurements of length, diameters, square perimeter and perimeter length, volume and surface area of the apex of the samples during fixation are carried out. It is shown that the most damages are revealed at using alcohol-containing fixatives.

Chemical mixtures are typically present a composition of chemically active compounds: alcohols, aldehydes, organic and inorganic acids, organic solvents, etc. Frequently the same retainer contains a strong oxidizing and a reducing agent, and thus, the mixture of the retainer turns to be unsteady and uncertain system. The study of complex reactions inside the lock is important for the proper and effective use, the correct interpretation of the morphological picture and the change of fixation protocol. We used the spectral method to assess the reactions within the well-known Navashin retainer. It is shown that Navashin retainer is chemically unstable mixture and the fixing occurs in a transient variable composition solution comprising: *chromic acid, formaldehyde, acetic acid, formic acid and chromium acetate (III)*.

Finally, there is the possibility of using of native plant tissue slices (surviving slices) in morphological and functional studies. Discussion of this issue is of interest in connection with the great progress in the studies of sections of nerve native tissue in the experimental cell biology. We have designed a special microtome-cutter for obtaining microtome native tissue sections, particular in plant tissue. The results will be presented for discussion.

ДОРАЗВИТИЕ ЗАРОДЫША ПОСЛЕ ДИССЕМИНАЦИИ КАК ОДНА ИЗ РЕПРОДУКТИВНЫХ СТРАТЕГИЙ ПОКРЫТОСЕМЕННЫХ

О.Г. Бутузова

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург

e-mail: OButuzova@binran.ru

Исследование семян с доразвитием зародыша после диссеминации проводится в Ботаническом институте им. В.Л. Комарова РАН в течение многих лет. Несмотря на то, что многие ученые отмечали наличие в семенах голосеменных и покрытосеменных недоразвитого зародыша (Goebel, 1898; Martin, 1946; Тахтаджян, 1961 и др.), именно И.В. Грушвицкий одним из первых стал рассматривать этот признак, как явление, широко распространенное в растительном мире.

Изучение этого явления в настоящее время в лаборатории эмбриологии БИН проводится по различным аспектам: физиологическому – выявление оптимальных режимов проращивания и механизмов преодоления физиологического механизма торможения (ФМТ) прорастания; структурному – выявление особенностей формирования семени с недоразвитым зародышем; систематическому – оценка значимости признака доразвития зародыша для филогении покрытосеменных; эволюционному – установление степени пластичности явления и его адаптационных возможностей, а также корреляции с другими репродуктивными стратегиями растений.

В исследовании используются цито-эмбриологические методы, мониторинг проращивания семян при различных температурных режимах и гормональных обработках, метод культуры изолированных зародышей. Работа проводится на модельных объектах, относящихся к семействам двудольных (*Ranunculaceae*, *Raeoniaceae*) и однодольных (*Liliaceae*), контрастирующих по следующим признакам: степень дифференциации зародыша на момент диссеминации, жизненная форма, экологические условия произрастания и тип покоя семян (по классификации Николаевой (1977).

В результате был разработан комплексный подход, который позволил выявить ряд морфогенетических и морфо-физиологических корреляций в развитии зародыша и окружающих его структур семени, а также основные критические периоды в их развитии при оптимальном температурном режиме и установить характер их нарушений при действии неблагоприятных температур и гормонального (ГК₃) фактора (Титова и др., 1999; Бутузова, 2010)

Ранее был выявлен ряд особенностей эмбриогенеза и формирования семени у видов с доразвитием зародыша (Поздова и др. 1998; Butuzova et al., 2002; Титова, Поздова, 2005): наличие особой эндоспермальной полости вокруг зародыша, развитие специфической зональности в строении эндосперма, раннее отложение запасных веществ в клетках зародыша и эндосперма, ранняя специализация элементов интегументальной части семенной кожуры (до оплодотворения), необычайно продолжительное функционирование специализированных структур микропиллярной (нуцеллярный колпачок, связанный с клетками суспензора зародыша) и халазальной (гипостаза, подиум, постамент, антиподы) частей семени, которые сохраняются вплоть до диссеминации, высокая степень гисто- и органогенной дифференциации зародыша на момент завершения доразвития, частое срастание семядолей.

Дальнейшее изучение явления и анализ литературных данных по формированию семян с недоразвитым зародышем у разных таксонов покрытосеменных позволил выявить еще целый ряд черт, проявляющихся у разных видов различным образом: наличие париетальной ткани, мощного перисперма, эндоспермального гаустория, пахихалазы; длительное функционирование одной из синергид; руминации разных частей семени (семенной кожуры, нуцеллуса, эндосперма), иррегулярность первых клеточных делений в зародыше, гетерокотилия и другие.

EMBRYO POSTDEVELOPMENT AFTER DISSEMINATION AS ONE OF REPRODUCTIVE STRATEGIES IN ANGIOSPERMS

O.G. Butuzova

Komarov Botanical Institute of RAS, St-Petersburg

e-mail: OButuzova@binran.ru

Investigation of seeds with embryo postdevelopment after the dissemination is carried out in the Komarov Botanical Institute of RAS for many years. Despite the fact that many scientists have noted the presence of underdeveloped embryo in seeds of gymnosperms and angiosperms (Goebel, 1898, by Martin, 1946 Takhtajan 1961 et al.), it was I.V. Grushvitsky, who one of the first regarded this feature as a phenomenon that is widespread in the plant world.

In the laboratory of embryology BIN RAS the study on this phenomenon is currently held on various aspects: physiological – revealing of optimal germination conditions and methods to overcome the physiological mechanism of inhibition (PhMI) of germination; structural – identifying features of formation of seed with underdeveloped embryo; systematic – assessment of the significance of the underdeveloped embryo to the phylogeny of angiosperms; evolutionary – establishing the degree of the plasticity of phenomenon and adaptation options, as well as the correlations with other plant reproductive strategies.

Cytoembryological techniques, monitoring of seed germination under different temperature conditions and hormonal treatments, the method of culture of isolated embryos were used in the researches. Work is carried out on the model objects belonging to the families of dicots (Ranunculaceae, Paeoniaceae) and monocots (Liliaceae), contrasting by the following features: degree of embryo differentiation at the time of dissemination, life form, ecological conditions of growth and the type of seed dormancy (after Nikolaeva classification, 1977).

As a result, a comprehensive approach has been elaborated, which revealed a number of morphogenetic and morpho-physiological correlations in the development of the embryo and its surrounding structures of the seed, as well as the main critical periods in their development at the optimal temperature conditions and determine the nature of their violations under the influence of unfavourable temperatures and hormonal (GK₃) factor (Titova et al., 1999; Butuzova, 2010).

Previously a series of peculiarities of embryogenesis and formation of seed in the species with embryo postdevelopment was revealed (Pozdova et al 1998; Butuzova et al, 2002; Titova, Pozdova., 2005): existence of a special endospermal cavity around the embryo, the development of specific zonality in endosperm structure, early accumulation of reserve nutrients in the cells of embryo and endosperm, early specialization (before fertilization) of the elements of seed coat integumentary part, unusually prolong function of specialized structures in micropylar (nucellar cap associated with embryo suspensor cells) and chalazal (hypostase, podium, postament, antipodes) parts of the seed, which are preserved up to dissemination, the high degree of histo- and organogenous differentiation of embryo at the time postdevelopment complete, often fusion of the cotyledons.

Further study of the phenomenon and analysis of literature data on the formation of seeds with underdeveloped embryo in different taxa of angiosperms allows reveal a whole series of features that manifest in different ways: the presence of the parietal tissue, massive perisperm, endospermal haustorium, pachihalaza, long-term function of synergids; rumination of different parts of the seed (seed coat, nucellus, endosperm), irregularity of the first cell division in the embryo, heterocotyly and others.

БИОЛОГИЯ ПРОРАСТАНИЯ СЕМЯН *PAEONIA SUFFRUTICOSA* ANDREWS В УСЛОВИЯХ ИНТРОДУКЦИИ

О.Г. Бутузова, Н.А. Жинкина

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург

e-mail: OButuzova@binran.ru

Виды рода *Paeonia* L. являются традиционными объектами исследования в лаборатории эмбриологии и репродуктивной биологии БИН РАН. Особенность этого рода в формировании двух типов зародышей – полового, не дифференцированного на органы, который прекращает свое развитие и уступает место соматическому, дифференцированному на органы (Vatygina, Bruchin, 1994).

Семена большинства видов пиона характеризуются наличием морфофизиологического эпикотильного типа покоя (по классификации Николаевой, 1977), который обусловлен недоразвитием зародыша и физиологическим механизмом торможения прорастания (ФМТ). Развитие апексов корня и побега находится под воздействием разных ФМТ и требует неодинаковых условий для его снятия: для преодоления покоя корня – преимущественно высокие температуры, апекса побега – преимущественно низкие температуры (Бутузова и др., 2009; Бутузова, Жинкина, 2014). Этим обусловлено затрудненное прорастание семян.

В данной работе проводилось изучение доразвития зародыша и прорастания семян древовидного пиона *Paeonia suffruticosa* Andrews. Семена собирали с растений, интродуцированных в Ботаническом саду БИН РАН. Цветение начиналось в середине мая, семена созревали в августе. Проводился мониторинг проращивания свежесобранных семян при разных температурных режимах: 0-3, 9-10 и 20-22°C. Семена на разных стадиях развития фиксировали в FAA, препараты изготавливали по общепринятой цитоэмбриологической методике, для окраски использовали сафранин с алциановым синим. Получены предварительные данные по структуре зародыша на момент диссеминации и в процессе доразвития при оптимальных режимах.

На момент диссеминации зародыш в семени имеет длину 2.5-2.8 мм, при этом отношение длины зародыша и эндосперма составляет 0.12-0.15. Зародыш находится на торпедовидной стадии развития, состоит из гипокотиль-корневой оси, апекса побега, представленного бугорком из двух слоев меристематических клеток и двух семядолей лопатчатой формы, по длине примерно равные гипокотилю. Проводящая система зародыша представлена центральным цилиндром в гипокотиле и пятью тяжами прокамбия в семядолях. В клетках коры гипокотиль корневой оси и паренхимы семядолей наблюдается большое количество запасных веществ – крахмала и предположительно белков.

Семена *P. suffruticosa* быстро теряют всхожесть, поэтому наилучшие результаты были получены при проращивании свежесобранных семян. Для доразвития зародыша и прорастания семени требуется двухэтапная стратификация: доразвитие зародыша происходит при 9-10 и 20-22°C, после чего наблюдается выход зародышевого корешка, но дальнейшее развитие апекса побега осуществляется при пониженных температурах (0-3°C).

Таким образом, оптимальные условия для прорастания семян *P. suffruticosa* сходны с условиями, необходимыми для преодоления эпикотильного морфофизиологического покоя у других видов рода *Paeonia* (Цингер, 1951; Николаева, 1984).

GERMINATION BIOLOGY OF SEEDS IN *PAEONIA SUFFRUTICOSA* ANDREWS AT INTRODUCTION

O.G. Butuzova, N.A. Zhinkina

Komarov Botanical Institute PAS, St-Petersburg

e-mail: OButuzova@binran.ru

Species of the genus *Paeonia* L. are traditional research objects in the laboratory of embryology and reproductive biology BIN RAS. The peculiarity of this species is in the formation of two types of embryos – sexual embryo, not differentiated on organs, which stops their development and gives way to the somatic one, differentiated on organs (Batygina, Bruchin, 1994).

Seeds of most species of peony are characterized by morphophysiological epicotyl type of dormancy (classification according to Nikolaeva, 1977), which is due to underdevelopment of the embryo and the presence of physiological mechanism of inhibition of germination (PhMI). Development of root and shoot apices is exposed to various PhMI and requires dissimilar conditions to remove it: to overcome the root dormancy – mostly high temperatures, the apex of the shoot – mainly low temperatures (Butuzova et al, 2009; Butuzova, Zhinkin 2014.). The main difficulty in seed germination is conditioned by this.

In this work the study of embryo postdevelopment and seed germination of tree peony *Paeonia suffruticosa* Andrews was carried out. Seeds were collected from plants introduced in the Botanical Garden of BIN RAS. Flowering begins in mid-May, the seeds mature in August. The germination was monitored on freshly collected seeds at different temperatures: 0-3, 9-10, and 20-22°C. The seeds at different stages of development were fixed in FAA, preparations were made according to the common cytoembryological technique, with safranin and alcian blue for coloring. Preliminary data on the structure of the embryo at the time of dissemination and in the process of development under optimal conditions were obtained.

At the time of dissemination the embryo in the seed has a length of 2.5-2.8 mm, wherein the ratio of the length of embryo and endosperm is of 0.12-0.15. The embryo is at the torpedo stage of development, consists of hypocotyl-root axis, shoot apex represented by tubercle of two layers of meristematic cells and two cotyledons of spatulate shape, in length approximately equal to hypocotyl. Conductive system of the embryo is represented by a central cylinder in the hypocotyl and the five procambium bundles in the cotyledons. In the cells of the core in hypocotyl-root axis and cotyledon parenchyma a large amount of reserve nutrients – starch and presumably proteins are observed.

Seeds of *P. suffruticosa* quickly lose viability, therefore, the best results were obtained in the germination of freshly harvested seeds. For the postdevelopment of the embryo and seed germination a two-stage stratification is required: postdevelopment of the embryo occurs at 9-10 and 20-22°C, after that the output of the embryonic root is observed, but the further development of the shoot apex takes place at low temperatures (0-3°C).

Thus, the optimal conditions for the germination of *P. suffruticosa* seeds are similar to the conditions necessary to overcome epicotyl morphophysiological dormancy in other species of the genus *Paeonia* (Zinger, 1951; Nikolaeva, 1984).

МОРФОГЕНЕТИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯЦИИ: АНАЛИЗ ПРОГРАММ РАЗВИТИЯ ЖЕНСКОГО ГАМЕТОФИТА ПОКРЫТОСЕМЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Г.Ю. Виноградова

Ботанический институт имени В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия

e-mail: vinogradova-galina@binran.ru

Развитие женского гаметофита (зародышевого мешка) покрытосеменных растений контролируется системой тканей семязачатка, связанных сетью транспортных потоков веществ, обеспечивающих физиологический баланс, полярность и морфогенетический градиент (позиционную информацию). Е.Н. Герасимова-Навашина (1954, 1971, 1984) неоднократно подчеркивала, что развитие зародышевого мешка происходит в теснейшей взаимосвязи с окружающими структурами семязачатка с установлением тесных «гуморальных и трофических воздействий» (1971), а рост зародышевого мешка в определенной степени является проявлением «морфогенетических и морфофизиологических коррелятивно-следственных связей с тканями спорофита» (1984). Большое значение изучению морфогенетических корреляций придавала в своих работах Т.Б. Батыгина (1974, 1993, 1999, 2003, 2010, 2014, и др.).

Выявление корреляций в морфогенезе семязачатка и зародышевого мешка открывает широкие возможности для анализа закономерностей развития этих репродуктивных структур и позволяет прогнозировать программы развития женского гаметофита и их возможном переключении.

Зародышевый мешок цветковых растений – лабильная и адаптивная система, что подтверждается разнообразием типов развития (моно-, би-, тетраспорические), а также вариативностью его строения. Образование дополнительных яйцеклеток вместо синергид или антипод, инвертированных зародышевых мешков у многих растений, вероятно, связано с изменением программы развития (специализации) клеток зародышевого мешка. Анализ морфогенетических корреляций в развитии семязачатка и зародышевого мешка у *Allium ramosum* и *A. schoenoprasum* показал, что одним из возможных факторов, определяющих судьбу клетки в зародышевом мешке, является характер распределения ядер и заложения клеточных пластинок в процессе клеткообразования в зависимости от формы зародышевого мешка. У *A. ramosum* в одинаково зауженных концах зародышевого мешка топография клеток идентична, следствием чего, по-видимому, является одинаковая их специализация – по типу яйцевого аппарата. У *A. schoenoprasum* зародышевый мешок с узким микропиллярным концом, где формируется яйцевой аппарат, и более вариативным по форме халазальным – от относительно широкого до узкого, что определяет специфику расположения клеток и их специализацию: как антипод (в широком конце) или яйцевого аппарата (в зауженном). Форма зародышевого мешка связана со структурной организацией базальной части семязачатка и характером транспорта питательных веществ.

Форма зародышевого мешка, зависящая от динамики развития окружающих структур семязачатка, играет важную роль в распределении ядер на ценоцитных стадиях, особенно при тетраспорических типах. На основании морфогенетических корреляций выявлены закономерности деления ядер и их миграции при тетраспорическом развитии Drusa-типа (у *Dioscorea caucasica*) и Ренаеа-типа (у *Euphorbia palustris*). Показана связь распределения ядер 1+3 при Drusa-типе с ранней деструкцией париетальной ткани и преимущественным ростом зародышевого мешка в направлении микропиле, а также с увеличением массивности базальной части семязачатка и расширением халазального конца зародышевого мешка. У *E. palustris* становление тетраполярной организации (Ренаеа-тип) связано с последовательной сменой вектора роста зародышевого мешка, обусловленной поэтапной деструкцией прилегающих тканей семязачатка: сначала клеток париетальной ткани, потом – латеральных слоев нуцеллуса, а затем – его базальной части. Следствием такого коррелятивного развития является изменение полярности гаметофита: переход от биполярного состояния 2+2 к биполярному 1+3, и далее к тетраполярному 1+1+1+1.

MORPHOGENETIC CORRELATIONS: ANALYSIS OF FEMALE GAMETOPHYTE DEVELOPMENTAL PROGRAMS IN ANGIOSPERMS

G.Yu. Vinogradova

Komarov Botanical Institute of Russian Academy of Sciences, St.-Petersburg, Russia

e-mail: vinogradova-galina@binran.ru

The development of the Angiosperm's female gametophyte (embryo sac) is controlled by the ovule tissues, which linked with the transport network of nutritive substances that provides physiological balance, polarity and morphogenetic gradient (positional information). E.N. Gerassimova-Navashina (1954, 1971, 1984) emphasized that the embryo sac development proceed in the closest relationship with the surrounding structures of the ovule and with the establishment of close "humoral and trophic impacts" (1971), and the embryo sac growth to a certain extent is a result of "morphogenetic and morphophysiological correlative-consecutive relations with ovule tissues" (1984). T.B. Batygina in her scientific works (1974, 1993, 1999, 2003, 2010, 2014 et al.) attached important significance of the study of morphogenetic correlations in reproductive structures development.

Detection of correlations in the ovule and embryo sac morphogenesis opens wide possibilities for the analysis of the peculiarities in reproductive structures development and allows make the predictions about the developmental programs of female gametophyte and their possible switching over.

Embryo sac of flowering plants is the labile and adaptive system, as evidenced by the variety of development types (mono-, bi-, tetrasporic), as well as the variability of its structure. In many plants the formation of extra egg cells instead of synergid or antipodes, inverted embryo sacs, probably occurs due to a change in developmental programs (specialization) of embryo sac cells. Analysis of morphogenetic correlation in *Allium ramosum* and *A. schoenoprasum* ovule and embryo sac development showed that one of the factors determining the fate of embryo sac cells is the nuclei distribution and pattern of cell plates formation in the process of cellularization, linked to the form of embryo sac. In *A. ramosum* the cells topography in both narrow ends of the embryo sac is identical, in the consequence of it, apparently, their specialization by egg apparatus type is identical. In *A. schoenoprasum* embryo sac has narrow micropylar end, where the egg apparatus is formed, the chalazal end is more variable - from the relatively wide to narrow that determines the specificity of cells topography and their specialization: as the antipode (in the wide end) or the egg apparatus (in the narrow end). The form of embryo sac depends on the structural organization of the ovule basal part and the ways of transport of nutrients.

A form of embryo sac, depending on the dynamics of development of ovule surrounding structures, plays an important role in the distribution of nuclei at the coenocyte stages, especially for tetrasporic types. Based on the morphogenetic, correlation the principles of nuclei divisions and their migration in the tetrasporic development of Drusa-type (in *Dioscorea caucasica*) and Penaea-type (in *Euphorbia palustris*) were detected. The nuclei localization in Drusa-type (1+3) has relation with early destruction of parietal tissue and intensified growth of embryo sac to micropyle, as well as with the increase of massiveness of the ovule basal part and chalazal expansion of embryo sac. In *E. palustris* the establishment of the tetrapolar organization (Penaea-type) is associated with a succession of growth vector of the embryo sac which is caused a gradual destruction of adjacent ovule tissues: parietal cells first, then lateral layers of nucellus, and then its basal part. The change of gametophyte polarization: transition from a bipolar condition 2 +2 to a bipolar 1 +3, and to a tetrapolar 1 +1 +1 +1, is the consequence of this correlative development.

ЭВОЛЮЦИЯ СИСТЕМ СЕМЕННОЙ РЕПРОДУКЦИИ В ПРОЦЕССЕ ОКУЛЬТУРИВАНИЯ РАСТЕНИЙ (НА ПРИМЕРЕ БОБОВЫХ)

Вишнякова М.А.

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург
e-mail: m.vishnykova@vir.nw.ru

Синдром доместикации (окультуривания) включает признаки, по которым произошло улучшение растений по сравнению с его дикими формами. У бобовых, в частности, это укрупнение семян, нарастрескиваемость бобов, уменьшение периода покоя семян и т.д. Анализ систем семенной репродукции культурных и культивируемых видов, а также их диких родичей обнаруживает тенденцию утраты последними аллогамии в процессе доместикации. Большинство культурных бобовых, особенно видов, возделываемых ради семян – зернобобовых – однолетники, предки которых могли иметь многолетний жизненный цикл. На примере эволюции представителей рода *Phaseolus* показано, что наряду с переходом многолетних форм в двулетние, а затем в однолетние, перекрестное опыление, имевшее у них преимущественное значение, в последующие периоды, особенно при перенесении культуры в умеренный пояс, заменилось самоопылением (Иванов, 1960). В пределах большинства родов, к которым относятся зернобобовые культуры, имеются как перекрестно- так и самоопыляющиеся виды, а также факультативные алло- и автогамы. При этом окультуренные однолетние виды, как правило, самоопылители, многолетние виды, из которых окультурены немногочисленные, как правило, перекрестники. Самоопыление иногда рассматривается как вторичное явление - резервный механизм, выполняющий страховочную функцию в условиях среды, неблагоприятных для лета насекомых (Rowland, 1958; Shcriven, 1962 и др.). Поэтому самоопыление, по-видимому, следует считать одним из проявлений синдрома доместикации, во-первых, как приобретение растениями независимости от наличия опылителей. Во-вторых, оно служит фактором, способствующим генетической стабильности популяции, что является важным аспектом окультуривания. При этом самоопыление является также простым и эффективным путем использования благоприятных межлокусных взаимодействий (Allard, 1999). В-третьих, эволюционное совершенство самоопыления выражается в снижении энергетических затрат, которых открытые репродукционные системы, присущие перекрестноопыляющимся растениям, требуют больше, чем закрытые (автогамы). Большая энергоемкость аллогамии связана с необходимостью создания целого ряда механизмов для привлечения опылителей (яркой окраски венчика и наличия на нем контрастных пятен, флоральных нектарников, запаха), что у некоторых видов культурных зернобобовых отмечается как рудиментарные признаки. Атрибутом аллогамии является также необходимость продуцирования избытка пыльцы, в силу чего затраты на опыление одного цветка (отношение числа пыльцевых зерен в пыльниках к числу семязачатков в завязи) у аллогамов больше, чем у самоопылителей (Ornduff, 1969; Cruden, 1977; Grant, 1981). Подобная закономерность показана и для дикорастущих родичей культурных автогамов: у диких самоопыляющихся видов *Phaseolus*, *Vigna*, *Glycine* соотношение "пыльца/семязачатки" выше по сравнению с соответствующими культурными видами, что, по-видимому, следует считать рудиментом некогда присущей им аллогамии.

Крайней формой автогамии принято считать клейстогамию, встречающуюся у некоторых бобовых (Arroyo, 1981; Новоселова, 2000). Но целому ряду из них (*Glycinemax*, *P.aureus*, *P.vulgaris*, *Pisumsativum*, *Arachishypogea*, представителям *Viciafaba*, *V.sativa*, *V. angustifolia* и др.) присуща бутонная автогамия, что по функциональному значению очень близко к клейстогамии (Френкель, Галун, 1982).

EVOLUTION OF SEED REPRODUCTION IN THE PROCESS OF PLANTS DOMESTICATION (GRAIN LEGUMES AS AN EXAMPLE)

Vishnyakova M.A.

Federal Research Center N.I. Vavilov Institute of Plant Genetic Resources,

Sankt-Petersburg

e-mail: m.vishnyakova@vir.nw.ru

Domestication syndrome includes features which plants have improved compared to the wild forms. In legumes, in particular, these are an enlargement of the seeds, non-shattering of beans, reduction of seed dormancy period, etc. Analysis of seed reproduction systems of cultivated leguminous species and their wild relatives shows the trend of the allogamy loss during domestication. Most cultivated legumes, especially species cultivated for the seeds – grain legumes – annuals, whose ancestors had perennial life cycle. For example, the evolution of some *Phaseolus* species testifies that along with the transition of perennial forms to the biennials, and then annuals, cross-pollination they had, in subsequent periods, especially during transfer the crop to the temperate zone, had been replaced by self-pollination (Ivanov, 1960). Within the majority of legume genera there are both cross- and self-pollinated species, as well as optional allo- and autogamy. Thus cultivated annual species tend to self-pollination, perennial species, of which only a few are domesticated, usually are cross-pollinated. Self-pollination is sometimes considered as a secondary phenomenon - a backup mechanism that performs a safety function in the environmental conditions unfavorable to the insects (Rowland, 1958; Shcriven, 1962, etc.). Therefore, self-pollination, apparently, should be considered as a manifestation of the domestication syndrome, first, as the purchase of plants for independence on the presence of pollinators. Secondly, an important aspect of cultivation represents the direction of reproductive systems to ensure maximum genetic stability, that is much more characteristic to autogamy compared to allogamy. It is believed that self-fertilization is not only a factor of genetic stability, but also a simple and effective way to use favorable interloci interactions (Allard, 1999). Third, the evolutionary perfection of self-pollination is expressed in the reduction of energy costs, which cross-pollinated plant require more, than selfers. More energetic intensity of allogamy compared with autogamy is associated with the need to create a range of mechanisms to attract pollinators (a bright corolla and contrasting spots on it, floral nectaries, a smell), which in some cultivated leguminous are taken as rudimentary signs. As an attribute of allogamy a need to produce excess of pollen per flower should also be considered: the ratio of pollen in anthers to the numbers of ovules in the ovary in outcrossing is greater than in self-pollinating plants (Ornduff, 1969; Cruden, 1977; Grant, 1981). A similar pattern is shown for wild relatives of cultivated selfers: wild self-pollinating species of *Phaseolus*, *Vigna*, *Glycine* have the ratio "pollen/ovules" higher compared with the corresponding cultivated species. This phenomenon seems to be regarded as a vestige of the before inherent them allogamy.

An extreme form of autogamy they assume acleistogamy, which occurring in some legumes (Arroyo, 1981; Novoselova, 2000). But for a number of them (*Glycine max*, *P. aureus*, *P. vulgaris*, *Pisumsativum*, *Arachis hypogea*, representatives of *Viciafaba*, *V. sativa*, *V. angustifolia* and others) bud autogamy is inherent which is very close to the cleistogamy by its functional value (Frenkel, Galun, 1982).

МИКРОСПОРОГЕНЕЗ *SCHEUCHZERIA PALUSTRIS*: РАЗНООБРАЗИЕ ТИПОВ ТЕТРАД

О.А.Волкова, М.М.Ремизова, Д.Д.Соколов, Е.Э.Северова

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва
e-mail: centaurea57@yandex.ru

Scheuchzeria palustris L., монотипный вид семейства *Scheuchzeriaceae*, уникален в порядке Alismatales по целому ряду признаков, в том числе по наличию пыльцевых зерен, распространяющихся в диадах. Наше исследование посвящено развитию пыльцы шейхцерии, при этом особое внимание обращено на типы тетрад, формирующихся в процессе микроспорогенеза.

Тетрады микроспор образуются по сукцессивному типу. После первого мейотического деления между сформировавшимися клетками центрифугально образуется толстая каллозная оболочка. В конце второго мейотического деления формируются тетрады разного типа. Преобладают квадратные (35%), крестообразные (13%), неправильные (42%) тетрады, тогда как линейные (7%) и Т-образные (3%) - редки. Среди неправильных тетрад отмечаются переходные формы между Т-образными и квадратными (32%), между линейными и Т-образными (5%), между линейными и квадратными (5%) типами. К концу тетрадного периода микроспоры тетрады окружены каллозной оболочкой, различающейся по толщине. Распад тетрады на диады происходит в плоскости первого цитокинеза, где каллозная оболочка достигает своей максимальной толщины. Пыльцевые зерна в диаде удерживаются за счет "простого сцепления" (simple fusion - Кнох, McConchie, 1986) элементов тектума, которое формируется в конце тетрадного периода. Апертуры отсутствуют.

Ранее на примере представителей порядка Asparagales было показано, что форма тетрад во многом определяется формой микроспороцитов (Penet, 2012): неправильные тетрады развиваются из удлинённых микроспороцитов, а микроспороциты округлой формы формируют в основном крестообразные или квадратные тетрады. Мы полагаем, что термин "неправильные тетрады" следует относить к таким типам тетрад, где одна или обе плоскости второго цитокинеза расположены косо по отношению к плоскости первого деления, в то время как при формировании канонических типов тетрад эти плоскости параллельны или перпендикулярны плоскости первого деления. Это может означать, что, помимо формы микроспороцита, информация о взаимном расположении соседних клеток может играть существенную роль в определении направления плоскости второго деления мейоза. Можно предположить, что наличие толстой каллозной оболочки вдоль плоскости первого деления, которую мы наблюдаем у *Scheuchzeria*, может блокировать или ослаблять эту информацию, поэтому расположение плоскости второго деления определено менее строго. Следствием этого является высокая доля неправильных тетрад, отмеченных нами у *Scheuchzeria*. Эта гипотеза требует проверки на более широком круге эмпирических данных.

Исследование проведено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-14-00250).

MICROSPOROGENESIS OF *SCHEUCHZERIA PALUSTRIS* L.: DIVERSITY OF TETRAD TYPES

O.A. Volkova, M.V. Remizowa, D.D. Sokoloff, E.E. Severova

M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow

e-mail: centaurea57@yandex.ru

Scheuchzeria palustris L., the only member of Scheuchzeriaceae, is unique among Alismatales in several characters, including pollen dispersed in permanent dyads. Our investigation provides the first description of pollen development in *Scheuchzeria* with main focus on the diversity of tetrad types.

The meiotic cytokinesis is successive. After meiosis I, a thick continuous callosic wall lays down between the two cells, the wall formation is most likely centrifugal. At the end of meiosis II, the different tetrad types can be seen. Tetragonal (35%), decussate (13%), and irregular (42%) tetrads predominate, linear (7%) and T-shaped (3%) tetrads are rare. Different types of irregular tetrads are observed: transitional type between T-shaped and tetragonal (32%), transitional between linear and T-shaped (5%) and transitional between linear and tetragonal (5%). During tetrad period, the microspores are surrounded by the callose special wall of different thickness. Disintegration of tetrads into two dyads takes place along the plane of the first cytokinesis, where the thickness of the callose wall is maximal. Pollen grains are hold together within the dyads due to a simple fusion (Knox, McConchie, 1986) of tectal layers, this fusion takes place at the late tetrad period. Apertures are absent.

It was shown earlier on the example of Asparagales that resulting tetrad shapes are influenced by microsporocyte shape (Penet, 2012). Irregular tetrads develop from elongate microsporocytes, while spherical microsporocytes give rise mostly to regular (decussate and tetragonal) tetrads. We consider the term ‘irregular tetrads’ should be used only for those tetrads where one or both second divisions are oblique with respect to the plane of the first division. In formation of canonical types of tetrads, all divisions are either parallel or perpendicular to each other. This may indicate that in addition to the major factor of microspore mother cell shape positional information regarding neighbouring cells plays certain role in determining planes of cell divisions in meiosis II. We speculate that the formation of thick callose wall between the products of meiosis I, as seen in *Scheuchzeria*, could reduce the influence of this positional information, so that the meiosis II occurs in a more random plane. As a result we observe a high frequency of irregular tetrads. This hypothesis requires further testing using empirical data on various angiosperms.

The work is supported by the Russian Scientific Fund, project 14-14-00250.

АПОМИКСИС У ЦВЕТКОВЫХ РАСТЕНИЙ

Воронова О.Н.

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург

e-mail: o_voronova@binran.ru

Апомиксис (в переводе с греческого: *apo* – без, *миксис* – слияние) формирование зародыша без слияния мужских и женских гамет: без оплодотворения яйцеклетки и центральной клетки (автономный апомиксис) или из неоплодотворённой яйцеклетки, но при оплодотворении центральной клетки (псевдогамный апомиксис). Иногда достаточно лишь вхождения спермия в центральную клетку, чтобы стимулировать развитие эндосперма, который может иметь разную ploидность. Апомиксис иногда проявляется спорадически у отдельных особей вида (факультативный) или является основным и даже единственным способом воспроизведения вида (облигатный) («Эмбриология ...», 2000).

Первое определение и классификация апомиксиса были даны в начале XX столетия Гансом Винклером (Winkler, 1908). По мере накопления данных стали появляться и новые классификации апомиксиса: A. Ernst, E. Strasburger, F. Fagerlind, G. Stebbins, A. Gustafsson, Я.С. Модилевский, Р. Maheshwary, E. Battaglia, В.А. Поддубная-Арнольди, С.С. Хохлов, Д.Ф. Петров, М.П. Солнцева и другие (Наумова, 2008).

Наиболее интересными с теоретической и практической точки зрения являются те события, которые приводят к формированию не просто апомиктических зародышей, а полноценных агамоспермных семян: апоспория – формирование зародышевого мешка не из мегаспоры, а из соматической клетки (нуцеллуса, интегумента) посредством митоза и диплоспория – формирование зародышевого мешка из нередуцированной мегаспоры. Апоспория и диплоспория, наиболее распространённые и наиболее изучаемые формы апомиксиса у растений.

Существуют разные точки зрения и на генетическую природу апомиксиса. Первые работы были связаны с поиском «гена апиомиксиса», но вскоре стало ясно, что этот процесс имеет более сложное генетическое регулирование (Nogler, 1994). J. Carman (1997) предложил гипотезу асинхронной экспрессии дублирующих генов для апомиксиса, биспории, тетраспории и полиэмбрионии, и его точка зрения находит вполне определенные подтверждения при изучении природных популяций и в экспериментальных исследованиях. Интересные данные получены А.М. Koltunow (2011) о роли генов *LOA* и *LOP* для восстановления семенного размножения у апомиктических видов *Hieracium*.

Эволюционное значение апомиксиса остается дискуссионным. Первоначально считалось, что апомиксис – это эволюционный тупик, поскольку при нем в потомстве не происходит рекомбинации генов. По мере накопления данных мнения стали меняться, и теперь все больше ученых полагают, что апомиксис – прогрессивное эволюционное новшество в системе репродукции цветковых растений, которое позволяет видам быстро завоевывать территорию, тиражируя «удачные» генотипы.

APOMIXIS IN FLOWERING PLANTS

O.N. Voronova

Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg

e-mail: o_voronova@binran.ru

Apomixis (in translation from Greek: *apo* - without, *mixes* – merger) is the formation of an embryo without the fusion of male and female gamete: without fertilization (autonomous apomixes) or from an unfertilized egg, but with central cell, giving rise to endosperm (pseudogamous apomixes). Sometimes entering of the sperm just into the central cell is enough to stimulate the development of the endosperm, which can have different ploidy. Apomixis occurs sporadically in some individuals of species (facultative) or is the main and even the only way of propagation (obligate) («Embryology ...», 2009).

The first definition of apomixis and its classification has given in beginning of the XX century by Hans Winkler (1908). New classifications began to appear as the data accumulated about apomixis. A. Ernst, E. Strasburger, F. Fagerlind, G. Stebbins, A. Gustafsson, Y.S. Modilevsky, P. Maheshwary, E. Battaglia, V.A. Poddubnaya-Arnoldi, S.S. Khokhlov, D.F. Petrov, M.P. Solntseva and others are engaged in apomixis research (Naumova, 2008).

The events that lead to the formation of not only apomictic embryos, but full agamospermous seeds are the most interesting from a theoretical and practical point of view. Apospory - the formation of the embryo sac not from megaspore, but from somatic cells (nucellus, integument) by mitosis and diplospory - the formation of embryo sac from unreduced megaspore. Apospory and diplospory are the most common and most investigated forms of apomixis in plants.

There are different points of view on the genetic nature of apomixis. The first works were related with searching for “apomixis gene”, it soon became clear that this process has more complex genetical regulation (Nogler, 1994). J. Carman (1997) has offered a hypothesis of asynchronous expression of duplicative genes, for apomixis, bispory, tetraspory and polyembryony, and his point of view finds quite certain confirmations when studying natural populations and in the experimental researches. Interesting data are obtained by A.M. Koltunow (2001) about a role of genes *LOA* and *LOP* for recovery of seed propagation at apomictic species of *Hieracium*.

The opinions about the evolutionary significance of apomixis are different. Earlier it was thought that apomixis - an evolutionary deadlock, because at the apomixis the gene recombination does not occurs in progeny. Some time later, opinions began to change and now more and more scientists believe that apomixis – a progressive evolutionary innovation in the system of reproduction of flowering plants that helps them quickly conquer territory replicating successful genotypes.

КОНСТРУИРОВАНИЕ АПОМИКСИСА - КЛЮЧЕВОЕ НАПРАВЛЕНИЕ В ИССЛЕДОВАНИИ БЕСПОЛОСЕМЕННОГО РАЗМНОЖЕНИЯ

Г.А. Геращенко, Н.А. Рожнова, Г.Р. Ясыбаева, А.В. Чемерис

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа
e-mail: apomixis@anrb.ru

Конструирование апомиксиса *de novo* за счет дерегуляции генов апомиктической триады, а именно, (1) апомейоза, (2) партеногенеза и (3) эндоспермогенеза - важное направление в понимании механизмов агамоспермии. Идея конструирования апомиксиса впервые была высказана еще в 1993 году (Chaudhury, Peacock, 1993). Многочисленные работы, выполненные на арабидопсисе, кукурузе и рисе позволили выделить мутанты с некоторыми признаками, напоминающими элементы апомиксиса и определить гены, ответственные за эти признаки (Pupilli, Barcaccia 2011; Barcaccia, Albertini, 2013). У растений известны гены, контролирующие признаки, необходимые для перехода с полового размножения на апомиктический путь (апомейоз, партеногенез, автономное развитие эндосперма). Так, показана возможность инициации апомейоза у арабидопсиса за счет мутации в единственном гене *SWI1* (*SWITCH1/DYAD*), кодирующем фосфолипазу С, контролирующую нерасхождение сестринских хроматид и формирование центромеры во время спорогенеза (Ravi et al 2008). Всесторонне изучена роль генов ответственных за развитие эндосперма *MEA*, *FIE* и *FIS2*, наследуемых благодаря импринтингу отцовской аллели у *Arabidopsis thaliana*.

В настоящем исследовании проведено конструирование апомиксиса *de novo* у растений арабидопсиса с использованием мутантов с «аномалиями» эмбриогенеза, в том числе мейотических мутантов, таких как *swi1-1*, *swi1-2*, *fem17* и др.. Это является перспективным подходом для воссоздания апомиксиса у форм с половым размножением. В работе использовали более 20 форм и линий *A. thaliana* и *Boechera* (в том числе мейотических мутантов и форм с нарушениями развития в эмбриогенезе). Получение *de novo* мутантных растений арабидопсиса осуществляли в несколько стадий. На первом этапе методом рестриктазно-лигазного клонирования создавали генно-инженерные конструкции, содержащие промоторы и гены в прямой или обратной ориентации. Интродукция генно-инженерной конструкции в геном растения осуществлялась при помощи плазмиды pCambia 1301 (вектора) путем погружения цветков в суспензию *Agrobacterium tumefaciens*, содержащих встроенный вектор. Далее проводили селекцию трансгенных семян на средах, содержащих антибиотик гигромицин.

В результате проведенного исследования были клонированы гены *DYAD* и *SERK1* в прямой ориентации под мейоз-специфичным промотором *pMS5*. Также были клонированы фрагменты генов *FIE*, *MEA* и *FIS2* в антисмысловой ориентации в бинарных векторах pCambia 1301 под промотором *pMS5*. Получено по одному растению несущему гены *SERK1*, *DYAD* и *MEA* слитых с промотором *pMS5*. Получены семена трансформированных растений в F1. Фенотипы отличались различной фертильностью. На растениях завязывалось от 1 до 5-7 стручков. Исследован характер наследования трансгенов и отклонение от менделеевского расщепления у трансгенных растений в потомстве. В потомстве F2 происходило расщепление по спорофитному типу в отношении 3:1. Расщеплений гаметофитного типа 1:1 ни в одном случае обнаружить не удалось. Дискуссии о перспективности использования тех или иных элементов будущих кассет для инжиниринга апомиксиса продолжаются до настоящего времени (Hand, Koltunow, 2014). Однако сообщений по данному вопросу, кроме работ группы де'Эрфур, практически нет (d'Erfurth et al 2009, 2011). Таким образом, полученные в настоящем исследовании результаты являются оригинальными и получены впервые.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, проект № 14-04-97089.

ENGINEERING OF APOMIXIS IS THE KEY DIRECTION IN RESEARCH OF SEEDS-WITHOUT-SEX REPRODUCTION

G. A. Gerashchenkov, N. A. Rozhnova, G.R. Yasybayeva, A.V. Chemeris

Institute of Biochemistry and Genetics of Ufa Research Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa

e-mail: apomixis@anrb.ru

Introduction. Engineering of apomixis *de novo* due to the deregulation of apomixis triad genes is the important area in the understanding of seeds-without-sex mechanisms. For the first time the idea of apomixis engineering has been stated in 1993 (Chaudhury and Peacock 1993). The numerous works performed in *Arabidopsis*, corn and rice have allowed to allocate apomixis-like mutants and the corresponding genes (Pupilli and Barcaccia 2011; Barcaccia and Albertini 2013). In plants the genes controlling the apomixis miming features are known (apomeiosis, parthenogenesis, autonomous development of endosperm). So, the possibility of initiation of apomeiosis due to mutation in the only gene *SWII* (*SWITCH1/DYAD*) encoding the phospholipase C (Ravi et al 2008) is shown. The role of genes *MEA*, *FIE* and *FIS2* involved in imprinting during the endosperm formation in *Arabidopsis* is comprehensively studied.

Aim. To perform engineering of apomixis *de novo* at *Arabidopsis* plants.

Materials and methods. Obviously, the usage of *Arabidopsis* mutants with embryogenesis "anomalies", including meiotic mutants, such as *swil-1*, *swil-2*, *fem17*, etc., is perspective approach for the engineering of apomixis in forms with sexual reproduction. In the work we used more than 20 forms and accessions of *Arabidopsis thaliana* and *Boechera* (including meiotic mutants). The producing of transformed plants was carried out at several stages. At the first stage the molecular constructions containing promoters and genes at different orientation were assembled. Then the construction was introduced into pCambia 1301 and the vector molecule was transferred into plant genome by floral spraying. Further the selection of the produced plants was performed with antibiotic Hygromycin B.

Results and discussions. We have cloned *DYAD* and *SERK1* genes in direct orientation and fragments of genes *FIE*, *MEA* and *FIS2* in antisense orientation under meiosis specific promoter *pMS5* in binary vectors of pCambia 1301. One transform plant was performed for each molecular construction with used genes. Seeds of transformed plants were received in F1. Plant genotypes were differed by various fertility. It was from 1 to 5-7 pods per plants. Nature of inheritance of transgenes in posterity was investigated. There was a splitting on sporophyte type 3:1 in posterity. Gametophyte type of splitting 1:1 was not found. Discussions about perspective genes for engineering of apomixis are proceeding so far (Hand and Koltunow 2014). However there are practically no reports except of d'Erfurth (d'Erfurth et al 2009, 2011). Thus, our results are original. The work was supported by RFBR, a project no. 14-04-97089.

ВЛИЯНИЕ ТОКСИНОВ ЭНДОФИТНОЙ БАКТЕРИИ НА РЕПРОДУКТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *TULIPA L.*

Е.В. Грошева, М.В. Маслова

ФГБОУ ВО Мичуринский государственный аграрный университет,

Россия, г. Мичуринск

e-mail: ekaterina2687@mail.ru

На качество пыльцы представителей рода *Tulipa L.* большое влияние оказывают абиотические и биотические факторы, а также генотипические особенности сорта. В селекции тюльпана первостепенное значение имеет исследование устойчивости мужского гаметофита к токсинам патогенов. Актуальным направлением является не только отбор родительских форм с высокими признаками декоративности и продолжительным цветением, но и выделение устойчивых к болезням генотипов на гаплоидном уровне.

В связи с этим целью исследования было изучение влияния на репродуктивный потенциал сортов тюльпана токсинов бактерии *Pseudomonas*, которая тестируется из различных органов растений.

Материалом для исследования были 9 сортов тюльпана, относящиеся к 5 классам, согласно международной классификации. Жизнеспособность пыльцы определяли путем её проращивания на искусственной питательной среде при $t=+25^{\circ}\text{C}$ с последующим анализом под световым микроскопом. Препараты готовили по общепринятым методикам (Паушева, 1980; Топильская, 1975). Раствор метоболитов патогена получали путем его культивирования на жидкой питательной среде в течение 30 суток при $t=+25^{\circ}\text{C}$. Для проведения отбора генотипов тюльпана, устойчивых к бактериозу на гаплоидном уровне, считали процент проросших пыльцевых зерен в условиях интоксикации.

Выявлены различия в реакции пыльцы тюльпана на токсин бактерии рода *Pseudomonas* в зависимости от его концентрации в среде. Установлено, что при 2,5% и 5,0% - ном содержании токсических метоболитов в субстрате среднее значение степени прорастания пыльцевых зерен превышало данный показатель в контроле на 35,2% и 12,0% соответственно. Значительное снижение уровня фертильности пыльцы тюльпана в среднем на 32,8% и 54,2% соответственно было отмечено в вариантах с 10,0% и 20,0%-ным содержанием токсина. Важно отметить, что у сортов *Negrita*, *Mariette*, *Monsella* при использовании субстрата с концентрацией фильтрата культуральной жидкости 10,0%, наблюдалась стимуляция роста пыльцевых трубок, и процент прорастания пыльцы составил 108,1%, 121,2% и 153,8% от контроля. Наиболее выраженным токсическим действием по отношению к пыльце обладала среда с 20,0% - ным содержанием метоболита патогена. В связи с этим она может быть рекомендована для дифференциации сортов тюльпана по признаку устойчивости к бактериозу на гаплоидном уровне. Выявлено, что наиболее устойчивой к токсинам бактерии является пыльца сортов *Mariette*, *Queen of Night*, *Negrita* и *Monsella* (процент проросшей пыльцы – 97,0%, 96,0%, 94,6% и 76,9% от контроля соответственно). Сорт *Lambada* занял промежуточное положение по данному показателю (41,7%). “*Rococo*”, “*Renown*”, “*Avignon*” и “*Red Shine*” оказались наиболее подверженными действию токсинов эндوفитной бактерии. Так, процент прорастания пыльцы “*Rococo*” составил – 6,3% от контроля, а остальные сорта характеризовались полным отсутствием способности к образованию пыльцевых трубок в условиях интоксикации.

Проведенные исследования показали, что сорта *Mariette*, *Queen of Night*, *Negrita* и *Monsella*, обладающие высоким уровнем устойчивости к поражению бактерией рода *Pseudomonas*, могут быть рекомендованы для озеленения и выгонки.

EFFECT OF ENDOPHYTIC BACTERIAL TOXINS ON REPRODUCTIVE POTENTIAL OF *TULIPA L.*

E.V. Grosheva, M.V. Maslova

Federal state budgetary educational institution of higher education

Michurinsk State Agrarian University, Russia, Michurinsk

e-mail: ekaterina2687@mail.ru

The study of the viability of pollen grains cultured *in-vitro* on nutrient medium followed by microscopy is a useful tool in breeding programs. It was noted that the quality of the pollen of the genus *Tulipa L.* was strongly affected by abiotic, biotic factors and genotypic features of the cultivar. The selection of genotypes resistant to pathogens is an important issue in tulip breeding. The purpose of the study is to examine the influence of toxins of the *Pseudomonas* bacterium.

In the study pollen grains from 9 tulip cultivars belonging to the 5 divisions were used. The viability of pollen can be determined through the use of direct methods such as the inducement of *in-vitro* germination on nutrient medium at $t=+25^{\circ}\text{C}$. The specimens were prepared according to conventional techniques (Pausheva, 1980; Topilskaya, 1975). The solution of metabolites of *Pseudomonas* bacterium was prepared by culturing it on a medium for 30 days at $t = + 25^{\circ}\text{C}$.

For the selection of genotypes resistant to bacteriosis, the percentage of germinated pollen grains under conditions of intoxication was considered. The toxin of bacteria of the genus *Pseudomonas* can cause different reactions, depending on its concentration in the medium. 2,5% and 5,0% contents of toxic metabolites in the medium have increased the germination of pollen grains up to 35,2% and 12,0% compared with the control group. A significant decrease in the fertility of pollen to 32,8 % and 54,2% was observed in embodiments with 10,0% and 20,0% content of the toxin. The stimulation of pollen tubes growth and the germination of pollen up to 108,1%, 121,2% and 153,8% was observed on the cultivars *Negrita*, *Mariette*, *Monsella* using the culture filtrate 10,0%. The most severe toxic effect had a medium with 20,0 % content of the metabolite of the pathogen. In this regard, different tulip cultivars may be recommended on the basis of resistance to bacteriosis. The pollen of cultivars *Mariette*, *Queen of Night*, *Negrita* and *Monsella* are the most resistant to toxins of bacteria of the genus *Pseudomonas*. The germination of pollen of the cultivar *Lambada* is 41,7 %. The cultivars *Rococo*, *Renown*, *Avignon* and *Red Shine* were the most susceptible to the toxins of endophytic bacteria.

The studies have shown that the cultivars *Mariette*, *Queen of Night*, *Negrita* and *Monsella* have a high level of resistance to toxins of bacterium of the genus *Pseudomonas*.

ПОЛУЧЕНИЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ КУЛЬТУР НЕКОТОРЫХ РЕДКИХ И ИСЧЕЗАЮЩИХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ ФЛОРЫ БЕЛГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Н.И. Гуля¹, Е.В. Маслова¹, М.Т. Петросян²

¹ Белгородский государственный национальный исследовательский университет,
Белгород;

² Ереванский государственный университет, Ереван
e-mail: gulia.natalya@yandex.ru

В современном мире важной экологической проблемой является стремительное сокращение ареалов распространения и безвозвратное исчезновение многих видов растений (Международная Конвенция о сохранении биологического разнообразия, 1994). На территории Белгородской области, расположенной на южных склонах Среднерусской возвышенности, из 1400-1500 видов растений более 30 включены в Красную книгу России (2008), еще до 200 видов являются редкими и исчезающими на региональном уровне и требуют охраны (Красная книга Белгородской области, 2005). Связи с этим актуальным является поиск путей сохранения биологического разнообразия Белгородской области с применением современных биотехнологий.

Целью работы явилась разработка технологий ускоренного размножения редких и исчезающих видов растений Белгородской области в условиях культуры *in vitro* для решения проблемы их сохранения. Исследования по получению изолированных культур проводили совместно с Ереванским государственным университетом.

Был подобран оптимальный режим стерилизации растительного материала. В качестве первичных эксплантов использовали семена. Наиболее эффективными режимами стерилизации семян являются выдерживание в 70%-ном растворе этилового спирта с экспозицией 1 мин, с последующим погружением в 0,1%-ный раствор диацида с экспозицией 7-8 мин; в 70%-ном растворе этилового спирта с экспозицией 1 мин, с последующим погружением в 5-15%-ный раствор белизны с экспозицией 20 мин; в 70%-ном растворе этилового спирта с экспозицией 1 мин, с последующим погружением в 19%-ный раствор гипохлорита натрия с экспозицией 20 мин. При данных режимах стерилизации процент контаминации не превышал 16,4%.

Для микроразмножения использовались модифицированные среды Мурасиге-Скуга (Murashige, Skoog, 1962) с разным соотношением фитогормонов. Прорастание семян производили на безгормональной среде. Рост стерильных проростков и микрочеренков стимулировали наличием в питательной среде цитокининов. Каллусогенез изолированной ткани наблюдался при соотношении ауксинов и цитокининов 0.5:2.0 мг/л.

Получение стерильных проростков происходило не позднее, чем на 26 день культивирования. Пролиферация каллусной ткани наблюдалась не позднее, чем на 15 день культивирования. Культивирование семян и каллусной ткани производили в термостате, а проростков и микрочеренков - в климатической световой камере с фотопериодом 16/8. Температура составляла 22°C.

В результате исследований были впервые получены изолированные культуры редких и исчезающих видов растений флоры Белгородской области (*Astragalus dasyanthus* Pall., *A. albicaulis* DC., *Linum ucranicum* Czern., *Centaurea taliewii* Kleop., *Androsace koso-poljanskii* Ovcz.). Данные культуры явились основой для создания генетического банка *in vitro* редких и исчезающих растений Белгородской области.

Таким образом, применение современных биотехнологических методов позволяет получить изолированные культуры редких и исчезающих видов растений Белгородской области с целью их дальнейшего сохранения и создать коллекционный фонд в условиях *in vitro*.

OBTAINING ISOLATED CULTURES OF SOME RARE AND ENDANGERED PLANT SPECIES OF FLORA IN THE BELGOROD REGION *IN VITRO*

N.I. Gulya¹, E.V. Maslova¹, M.T. Petrosyan²

¹ Belgorod State National Research University, Belgorod;

² Erevan State University, Yerevan

e-mail: gulia.natalya@yandex.ru

In today's world, an important environmental problem is rapidly reducing the spread of habitats and irretrievable extinction of many plant species (the International Convention on Biological Diversity, 1994). On the territory of the Belgorod region, situated on the southern slopes of the Central Highlands, from 1400-1500 more than 30 species of plants are enclosed in the Red Book of Russia, even up to 200 species are rare and endangered at the regional level and require protection (Red Book of the Belgorod region, 2005). Links to this it is urgent to find ways to preserve the biological diversity of the Belgorod region with the use of modern biotechnology.

The aim of the work was the development of technologies on accelerated reproduction of rare and endangered plants of the Belgorod region in conditions of *in vitro* culture. Study on preparation of isolated cultures were carried out jointly with the Yerevan State University.

The optimal mode of sterilization of plant material was chosen. The seeds are used as primary explants. The most effective mode of maintaining seeds is sterilization in 70% ethanol solution with exposure 1 min, followed by immersion in a 0.1% solution of the diacid 7-8 minutes exposure; in 70% ethanol solution with exposure 1 min, followed by immersion in 5-15% ethyl white solution with exposure of 20 min; in 70% ethanol solution with exposure 1 min, followed by immersion in a 19% solution of sodium hypochlorite with 20 minutes exposure. In these modes, the sterilization percentage of contamination does not exceed 16.4%.

For micropropagation the modified Murashige-Skoog medium (Murashige, Skoog, 1962) with different ratios of plant hormones was used. Germination of seed occurred on nonhormonal medium. Sterile seedling growth and microcuttings were stimulated by the presence of cytokinins in the nutrient medium. Callusogenesis of isolated tissue was observed at a ratio of auxin and cytokinin 0.5: 2.0 mg / l.

Production of sterile seedlings occurred not later than the 26th day of cultivation. The proliferation of callus tissue was observed not later than on the 15th day of cultivation. Cultivation of seeds and callus tissue was performed in an oven, and microcuttings of seedlings - in the light of the climate chamber with photoperiod 16/8. The temperature was 22 °C.

The isolated cultures of rare and endangered species of plants of the Belgorod region flora (*Astragalus dasyanthus* Pall., *Astragalus albicaulis* DC., *Linum ucranicum* Czern., *Centaurea taliewii* Kleop., *Androsace koso-poljanskii* Ovcz.) were firstly obtained as a result of the studies. These cultures were the basis for the creation of a genetic bank *in vitro* of rare and endangered plants of the Belgorod region.

Thus, the use of modern biotechnological methods allows to separate the culture of rare and endangered species of plants in Belgorod region with a view to further preserve and create a collection fund in conditions *in vitro*.

МОРФОГЕНЕЗ РЕПРОДУКТИВНЫХ СТРУКТУР И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗМЕНЕНИЕ ПОЛА У ЗЕЛЕННЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ РОДА *VOLVOX*

А.Г. Десницкий

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург
e-mail: adesnitskiy@mail.ru, a.desnitsky@spbu.ru

Колониальные вольвоксовые водоросли, включающие более 60 видов, интенсивно изучаются в отношении эволюции, дифференциации клеток, морфогенеза и геномики (Ferris et al., 2010; Nozaki, 2014; Herron, Nedelcu, 2015). Основное внимание привлечено к серии *Gonium* – *Pandorina* – *Eudorina* – *Pleodorina* – *Volvox*, показывающей усложнение организации и развития колоний, а также к самому роду *Volvox*, включающему 22 вида, у которых имеется стойкая дифференциация на несколько сотен и даже тысяч маленьких соматических клеток и небольшое число крупных репродуктивных клеток.

Сопоставление данных по секвенированию ядерных геномов двух наиболее изученных, модельных видов вольвоксовых, одноклеточной *Chlamydomonas reinhardtii* (Merchant et al., 2007) и *Volvox carteri*, колония которого состоит примерно из 2000 клеток (Prochnik et al., 2010), показало, что эти организмы имеют почти одинаковое число генов (в обоих случаях около 14500). Эволюционный переход до уровня организации вольвокса осуществлялся путем относительно небольших генетических изменений (Pennisi, 2010).

У *C. reinhardtii*, а также у колониальных *Gonium pectorale* и *Pleodorina starrii* гаметогенез индуцируется в условиях дефицита азота и связан он с экспрессией гена *MID* (Goodenough et al., 2007; Hamaji et al., 2008; Nozaki, 2008). Однако у *V. carteri* и других видов *Volvox* половое размножение индуцируют видоспецифичные гликопротеиновые феромоны (Coleman, 2012). Недавно у гетероталличного *V. carteri* также выявили регуляторный ген *MID*, определяющий пол (Sa Geng et al., 2014). Было показано, что он приобрел новые функции (связанные с возникновением процессов сперматогенеза и оогенеза в ходе эволюции) по сравнению с родственным геном у *C. reinhardtii*. Ген *MID* присутствует только в геноме мужского клона вольвокса, и подавление его экспрессии приводит к формированию в следующем поколении колоний с яйцеклетками. Напротив, экспрессия этого гена после его введения в женский клон *V. carteri* приводит к формированию колоний с пакетами сперматозоидов. Однако при таких трансформациях типа половых клеток (яиц или андрогонидий) их число и характер расположения в колониях остаются неизменными, что говорит в пользу наличия “позиционной информации” как одного из факторов дифференциации репродуктивных клеток у *Volvox*. Отметим также, что экспрессия гена *MID* хламидомонады, введенного в женский клон вольвокса, не приводит к смене пола.

В свете данных по изменению пола *V. carteri* высказано предположение, что у гомоталличных видов вольвокса экспрессия гена *MID* недостаточна для развития мужских репродуктивных структур у 100% колоний (Sa Geng et al., 2014). Более раннее или более позднее время экспрессии этого гена, возможно, определяет развитие соответственно двудомных или однодомных колоний. Наконец, отметим, что у гомоталличного *V. aureus* иногда встречаются партеноспоровые линии, в которых мужские колонии формируются чрезвычайно редко или полностью отсутствуют (Starr, Zeikus, 1993; Desnitski, 2000). Представляет интерес проверить экспрессию гена *MID* на этом материале.

**MORPHOGENESIS OF REPRODUCTIVE STRUCTURES AND
EXPERIMENTAL SEX CHANGE IN THE GREEN ALGAE
OF THE GENUS *VOLVOX***

A.G. Desnitskiy

Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg
e-mail: adesnitskiy@mail.ru, a.desnitskiy@spbu.ru

Colonial volvocine algae, including more than 60 species, have been studied with respect to evolution, cell differentiation, morphogenesis and genomics (Ferris et al., 2010; Nozaki, 2014; Herron, Nedelcu, 2015). The main attention is paid to the series *Gonium* – *Pandorina* – *Eudorina* – *Pleodorina* – *Volvox*, showing the complication of colonial organization and development, and to the genus *Volvox*, comprising 22 species, which are characterized by differentiation into several hundred or even thousand small somatic cells and a few large reproductive cells.

The data on sequencing the nuclear genomes of two model volvocine species, unicell *Chlamydomonas reinhardtii* (Merchant et al., 2007) and *Volvox carteri* (Prochnik et al., 2010), showed that they have similar number of genes (about 14500). Evolutionary transition to the *Volvox* level of organization was produced by relatively small genetic changes (Pennisi, 2010).

In *C. reinhardtii*, *Gonium pectorale* and *Pleodorina starrii* gametogenesis is induced under conditions of nitrogen deficiency and associated with gene *MID* expression (Goodenough et al., 2007; Hamaji et al., 2008; Nozaki, 2008). However, in *Volvox* species-specific glycoprotein pheromones induce sexual reproduction (Coleman, 2012). The regulatory gene *MID* has been recently identified in heterothallic *V. carteri* (Sa Geng et al., 2014). This *VcMID* acquired new functions (associated with the evolution of spermatogenesis and oogenesis) compared to a related gene in *C. reinhardtii*. The *MID* gene is present only in male clone *Volvox* genome, and suppression of its expression leads to the formation of colonies with eggs in the next generation. By contrast, expression of this gene after introduction into the female *V. carteri* clone results in the formation of colonies with sperm packets. However, after such transformations of germ cells (eggs or androgonidia) their number and distribution pattern in colonies remain unchanged. This favors "positional information" as one of the germ cell differentiation factors in *Volvox*. Note that expression of *Chlamydomonas MID* gene introduced into *Volvox* female clone fails to transform gender.

In the light of *V. carteri* data, it was suggested that in homothallic *Volvox* species, the *MID* expression is insufficient for the development of male reproductive structures in all colonies (Sa Geng et al., 2014). Relatively early or late expression of this gene during development would produce dioecious or monoecious colonies respectively. Finally, let us remind about *V. aureus* parthenosporic strains, in which male colonies appear extremely rarely or completely absent (Starr, Zeikus, 1993; Desnitski, 2000). It would be interesting to analyze the *MID* gene expression in this material.

ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДА ПОЛУЧЕНИЯ КУЛЬТУРЫ КОСМАТЫХ КОРНЕЙ *LINARIA MAROCCANA* L.

Д.А. Доморацкая^{1,2}, Т.В. Матвеева^{2*}

¹ ФГБОУ ВО РГАУ — МСХА имени К. А. Тимирязева, Москва

^{2*} Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург
e-mail: radishlet@gmail.com

Род *Linaria* относится к семейству Подорожниковых (*Plantaginaceae*). Он интересен тем, что в пределах рода описаны природно-трансгенные растения. Они содержат в своих геномах последовательности, гомологичные Т-ДНК *Agrobacterium rhizogenes*, называемые клТ-ДНК. В настоящее время проводятся исследования возможных функций клТ-ДНК. Одним из направлений исследования является анализ у контрастных по наличию клТ-ДНК форм растений спектра вторичных метаболитов, влияющих на устойчивость к биотическим факторам. Для данных исследований необходима система контролей, которая включает в себя в числе прочего трансгенные ткани, полученные на основе нетрансформированных видов льнянок. К их числу относится *L. maroccana* L. Целью данной работы являлась оптимизация метода трансформации тканей льнянки марокканской (*L. maroccana* L.) агробактериями.

В ходе работы проводили трансформацию листовых дисков и фрагментов междоузлий штаммом А4 *A. rhizogenes*. Экспланты помещали на твердую среду MS с добавлением различных концентраций БАП и НУК, а также с добавлением антибиотика цефотаксима (200 мг/л). Часть эксплантов высаживали вертикально на среду, нанося агробактерии на них петлей, а другую часть кокультивировали в течение часа в жидкой среде MS с ночной культурой агробактерий (20:1), перенося их затем на твердую среду с цефотаксимом.

Метод кокультивирования эксплантов междоузлий в жидкой среде с агробактериями и дальнейшей их пересадкой на твердую среду с добавлением НУК и БАП в концентрации по 0,1 мг/л показал себя как наилучший из использованных.

Данным методом получены трансгенные опухоли и косматые корни на эксплантах междоузлий. Трансгенные ткани будут использованы в исследованиях роли клТ-ДНК у льнянок, а также могут быть применены для экстракции вторичных метаболитов для нужд фармакологии.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 16-16-10010 «Организация генома природно-трансгенных растений *Linaria* и *Nicotiana*»).

**OPTIMIZATION OF THE METHOD OF RECEIVING OF THE HAIRY
ROOTS CULTURE OF *LINARIA MAROCCANA* L.**

D.A. Domoratskaya^{1,2}, T.V. Matveeva^{2*}

¹ *Russian State Agrarian University - Moscow Timiryazev Agricultural Academy,
Moscow*

^{2*} *Saint Petersburg State University, Saint Petersburg
e-mail: radishlet@gmail.com*

The *Linaria* genus belongs to the family of Plantaginaceae. It is interesting that natural transgene plants are described within the genus. They contain sequences in the genomes, that are homologous to *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA, called cellular T-DNA. Now investigations of possible functions of cellular T-DNA are conducted. One of the directions of the research is the analysis of the range of the secondary metabolites influencing resistance to biotic factors in forms of plants differing by the existence of cellular T-DNA. These investigations require the system of controls, including transgene tissues obtained on the basis of not transformed types of toadflaxes, for instance, in *L. maroccana* L. The purpose of this work was the optimization of the method of transformation of Moroccan toadflax (*L. maroccana* L.) tissues by *Agrobacterium*.

During this work we transformed leaf disks and fragments of internodes by A4 strain of *A. rhizogenes*. Explants were placed on the solid MS medium with addition of various concentration of BAP and NAA, and also with addition of the antibiotic cefotaxime (200 mg/l). Some explants were landed upright on medium, applying *Agrobacterium* on them with a loop, and others were co-cultivated within an hour in liquid medium of MS with addition of *Agrobacterium* night culture (20:1), followed by their transfer to the solid medium with cefotaxime.

The method of the co-cultivation of internode explants in liquid medium with *Agrobacterium* followed by their transfer on the solid medium with addition of NAA and BAP in concentration of 0,1 mg/l proved to be the best among tested methods.

Transgene tumors and hairy roots on the internode explants were successfully obtained by this method. Transgene tissues will be used in the study of the role of cellular T-DNA in toadflaxes, and also can be applied to extraction of secondary metabolites for needs of pharmacology.

This work is performed with financial support of RSF, a project № 16-16-10010 "Genome organization in naturally transgenic *Linaria* and *Nicotiana* plants".

ЭМБРИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СТРОЕНИЯ И РАЗВИТИЯ СЕМЯЗАЧАТКОВ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ РОДА *IRIS* L. (IRIDACEAE)

М.М. Дорофеева

Пермская государственная сельскохозяйственная академия имени академика

Д.Н. Прянишникова, Пермь

e-mail: dorofeevamm@gmail.com

Исследование проведено с целью оценки применения эмбриологических признаков, таких как нуцеллярный колпачок, фуникулярный obturator, интегументальный obturator и т.д., для уточнения взаимосвязей внутри рода *Iris*. Строение и развитие семязачатков изучено у 7 видов, относящихся к подроду *Limniris* секции *Limniris*: из серии *Sibiricae* – *I. chrysographes* Dykes., *I. sanguinea* Hornem. и *I. typhifolia* Kitag.; из серии *Laevigatae* – *I. pseudacorus* L., *I. ensata* Thunb., *I. sibirica* L., *I. setosa* Pallas ex Link (Wilson, 2009).

Фиксация материала для цитоэмбриологических исследований проводилась с использованием фиксаторов Навашина. Дальнейшая обработка материала проводилась по общепринятой методике (Паушева, 1988). Окрашивание срезов проводилось с помощью галлоцианина–хромовых квасцов и методом тройного окрашивания (Камелина и др., 1992).

Исследование показало, что семязачатки расположены в шахматном порядке, попарно, в каждом из трех гнезд коробочки и имеют центрально-угловую плацентацию. У *I. setosa* отмечены случаи расположения семязачатков по трое. Семязачатки изученных видов красинуцеллятные, анатропные, битегмальные. Наружный интегумент многослойный. У видов *I. sanguinea*, *I. typhifolia* и *I. chrysographes* входящих в серию *Sibiricae*, наружный интегумент по длине равен внутреннему. У *I. pseudacorus*, *I. ensata* и *I. sibirica*, входящих в серию *Laevigatae*, наружный интегумент короче внутреннего минимум на 48 ± 2 мкм. Наружный интегумент *I. setosa* длиннее внутреннего на 68 ± 16 мкм. Микропиле образовано двухслойным внутренним интегументом. У изученных видов формируется оперкулум. У *I. sibirica* отмечено развитие радиально удлинённых вакуолизованных клеток, выстилающих микропиле и образующих интегументальный obturator. Такие же радиально удлинённые клетки в области микропиле отмечены у *I. tenax* (Wilson, 2001).

У изученных видов проводящий пучок заканчивается в халазе, кроме вида *I. chrysographes*, в семязачатках которого проводящий пучок проходит до середины наружного интегумента. По строению и развитию нуцеллуса семязачаток является красинуцеллятным и характеризуется дифференциацией в нуцеллусе париетальной ткани, нуцеллярного колпачка, постамента, подиума. Образование слоев париетальной ткани ограничено. У изученных видов в результате делений париетальной клетки образуется 2-4 слоя. У изученных видов серии *Laevigatae* и у *I. chrysographes* в результате периклиналильных делений поверхностного слоя нуцеллуса образуется 2–3 слойный нуцеллярный колпачок. У видов *I. sanguinea*, *I. typhifolia*, входящих в один кластер, эпидермис нуцеллуса однослойный. Клетки радиально удлинённые, сильно вакуолизованные, что позволяет говорить о формировании нуцеллярного obturatorа.

У всех изученных видов образуется фуникулярный obturator. Клетки obturatorа вакуолизируются, имеют утолщенные наружные стенки и плотную цитоплазму. Зародышевые мешки у изученных видов развиваются по Polygonum-типу. Данные эмбриологические признаки могут быть использованы для решения спорных вопросов систематики рода *Iris*, поскольку эмбриональные структуры устойчивы и мало зависят от изменений среды.

COMPARATIVE STUDY OF OVULE STRUCTURE IN SPECIES OF IRIS L. (IRIDACEAE)

Dorofeeva M.M.

Perm State Agricultural Academy, Perm, Russia

e-mail: dorofeevamm@gmail.com

This study was undertaken to assess ovule characters such as nucellar cap, obturator in the base of funiculus, obturator in the inner integument and others to help solve the problem of relationships within the genus *Iris*. Ovule structure and development were studied in seven species recognized within subg. *Limniris* sect. *Limniris*: ser. *Sibiricae* – *I. chrysographes* Dykes., *I. sanguinea* Hornem. and *I. typhifolia* Kitag.; ser. *Laevigatae* (Diels) Lawrence – *I. pseudacorus* L., *I. ensata* Thunb., *I. sibirica* L., *I. setosa* Pall. ex Link (Wilson, 2009).

Whole buds and flowers at various developmental stages were fixed immediately in Navashin's fluid, dehydrated in ethanol series, infiltrated with xylene and embedded in paraffin wax by conventional methods (Pausheva, 1988). Material sections were stained in original Gallocyanin-chrome alum stain and in triple stain following Kamelina et al. (1992).

The ovary has axial placentation. Ovules are arranged in two rows within each of three ovary locules. In *I. setosa* part of ovules are arranged in threes. The ovule is crassinucellate and the mature ovule is anatropous and bitegmic. The outer integument is defined as a multilayered ring of cells. The outer and inner integuments in *I. sanguinea*, *I. typhifolia* and *I. chrysographes* of ser. *Sibiricae* are of about equal lengths. The outer integument is shorter at least by 48 ± 2 μm than the inner in 3 species of ser. *Laevigatae*: *I. pseudacorus*, *I. ensata* and *I. sibirica*. The outer integument of *I. setosa* is longer at least by 68 ± 16 μm than the inner. The inner, two-layered integument defines the region of the micropyle. The inner integument is thickened to form the operculum. The inner integumentary cells lining the micropyle are radially elongate and glandular to form the integumentary obturator in ovule of *I. sibirica*. The same cells were observed in ovule of *I. tenax* (Wilson, 2001).

The vascular bundle that serves the ovule ends in the chalaza. In the ovule of *I. chrysographes* the vascular bundle spreads to the center of the outer integument. The mature ovule is crassinucellate, with a well-differentiated parietal tissue, nucellar cap, postament, podium. Development of parietal tissue is limited; no more than 2-4 layers of parietal cells were observed. In species of ser. *Laevigatae* and *I. chrysographes* periclinal division in the nucellar epidermis form a nucellar cap of 2-3 cell layers. In *I. sanguinea* and *I. typhifolia* the nucellar epidermis does not divide periclinally and the embryo sac lies directly under the single-layered epidermis. The epidermis cells in the micropyle area become radially elongate and glandular in appearance, constituting an nucellar obturator.

Epidermal cells at the base of the funiculus are enlarged radially and are glandular in appearance, constituting an obturator. The investigated species have monosporic Polygonum-type embryo sacs. These embryological characters may be used in solving taxonomic problems in genus *Iris* since embryological characters are considered as relatively stable and being less prone to adaptive stress.

ФИЗИОЛОГИЯ ГАПЛОИДНОГО ПОКОЛЕНИЯ СЕМЕННЫХ РАСТЕНИЙ: МУЖСКОЙ ГАМЕТОФИТ

И.П. Ермаков, Н.П. Матвеева, М.А. Брейгина

*Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, Москва,
Россия*

e-mail: pollen-ions@yandex.ru

Гаплоидное поколение у семенных растений сильно редуцировано и на протяжении большей части жизненного цикла тесно взаимодействует со спорофитом. С этим связан его малый размер и ряд физиологических особенностей. К ключевым свойствам физиологии гаметофитов относятся развитая система восприятия и передачи сигналов, а также строгий пространственный и временной контроль клеточных делений и ростовых процессов. Тем самым достигается основная задача мужского гаметофита – адресная и быстрая доставка мужских гамет, и женского – руководство при доставке мужских гамет и собственно оплодотворение.

Мужской гаметофит (пыльцевое зерно) более простая система для изучения физиологии по сравнению с женским гаметофитом (зародышевый мешок), поскольку он состоит из меньшего числа клеток, более мобилен и находится в состоянии физиологического покоя. Пыльцевую трубку давно используют в качестве объекта для изучения полярного роста *in vitro*, однако, в последнее время усовершенствование оптических методов исследования позволило перейти к изучению роста *in vivo*, тем самым включив в рассмотрение взаимодействия между пыльцой и спорофитными тканями, включая обмен химическими сигналами. Внутриклеточная система поддержания полярного роста уже во многом известна и включает в себя факторы ионного гомеостаза, регуляторные белки, цитоскелет, активные формы кислорода и другие. При этом наиболее изученными остаются пыльцевые трубки покрытосеменных растений. Голосеменные растения изучены в меньшей степени, хотя известно, что их гаметофиты имеют ряд интересных и важных особенностей, таких, как воздушные мешки, медленный рост трубки, иное направление движения органелл и т.п.

THE HAPLOID GENERATION PHYSIOLOGY IN SEED PLANTS: THE MALE GAMETOPHYTE

I.P. Yermakov, N.P. Matveyeva, M.A. Breygina

Lomonosov Moscow State University, Moscow

e-mail: pollen-ions@yandex.ru

The haploid generation of seed plants is highly reduced and exists in tight contact with the sporophyte during most of the life cycle. In connection with this, it has a small size and a number of physiological characteristics. The key properties of gametophyte physiology include an advanced system of signal perception and transduction, as well as a strict spatial and temporal control of cell division and growth. Thereby the main task of the male gametophyte is achieved – male gametes are delivered quickly and accurately, and the main goal of female gametophyte - pollen tube guidance and fertilization control – is achieved as well.

Male gametophyte - pollen grain – is a simpler system for physiological studies compared to the embryo sac, because it consists of a smaller number of cells, it is more mobile and physiologically dormant. Pollen tubes have been for a long time used as an object for *in vitro* studies of polar growth, however, recent improvements in optical methods allowed to move further to *in vivo* studies, thereby including the interaction between the pollen and sporophyte tissues into consideration. Intracellular system of the polar growth maintenance is well known and includes the factors of ion homeostasis, regulatory proteins, cytoskeleton, ROS, etc. Angiosperm pollen tubes are the most studied; much less is known for gymnosperm pollen tubes. They have significant peculiarities, such as air sacks, slow growth, reverse organelle movement, etc.

ВЛИЯНИЕ ГИПЕРПРОДУКЦИИ АУКСИНА НА РАЗВИТИЕ МУЖСКОГО ГАМЕТОФИТА ТАБАКА

А.А. Ермошин, С.А. Зимницкая, С.А. Стрекалова
Уральский федеральный университет, Екатеринбург, Россия
e-mail: zimn@list.ru

Наибольшее влияние на процессы роста и развития оказывают цитокинины и ауксины. Ауксины – исторически первая из открытых групп фитогормонов. Основные эффекты, оказываемые ими на растительный организм, включают: дедифференциацию клеток в культуре, рост клеток растяжением, подавление развития боковых почек, и аттракцию ассимилянтов. Известно, что ауксины влияют на генеративную сферу растений.

Традиционные способы оценки роли фитогормонов в жизнедеятельности растений связаны с изучением эндогенного уровня гормонов в различных органах и тканях. Однако, при этом не всегда есть возможность получить достаточное количество материала для анализа, если речь идет о пыльниках или рыльце пестика. Второй подход – изучение мутантов по синтезу фитогормонов или чувствительности к ним. Третий и наиболее часто используемый подход – экзогенная обработка гормонами. Этот метод имеет ряд недостатков, например, не ясно, какое количество действующего вещества попадает непосредственно в органы и ткани растения. Всех перечисленных недостатков лишены трансгенные модельные растения.

В работе использовались трансгенные растения табака (*Nicotiana tabacum* L.) сорта «Самсун», несущие агробактериальный ген синтеза ауксинов *iaaM*. У трансгенных растений доказана инсерция и экспрессия целевого гена. Повышение продукции ауксинов привело к морфологическим изменениям растений. В репродуктивной сфере это проявлялось в более позднем зацветании, меньшем размере соцветия, снижении всхожести семян.

Целью нашей работы было выявление особенностей микроспорогенеза и развития мужского гаметофита у трансгенных линий.

Показано, что пыльцевые зерна табака у контрольных растений имеют большое морфологическое разнообразие. Зерна округлые, безапертурные, 3-5-бороздные или бороздно-поровые.

Уровень фертильности зрелых пыльцевых зерен в контрольной группе составляет 83,6%, в то время как у растений-гиперпродуцентов ауксинов в зрелых пыльниках фертильно всего 52,2% пыльцевых зерен. Стерилизация наблюдается и на более ранних этапах развития. На стадии микроспоры в контрольной группе фертильность составляет 88,4%, а при гиперпродукции ауксинов – только 57,5%. На стадии тетрад микроспор в контроле нормально сформированы 59,6% тетрад, а у трансгенных растений – всего 25,9%. Причиной стерилизации являются нарушения в микроспорогенезе, приводящие к появлению монад, диад и триад микроспор.

Стерилизация на поздних этапах развития мужского гаметофита обычно связана с неблагоприятными условиями внешней среды. Наблюдаемые результаты вполне согласуются с данными о том, что избыток ауксинов снижает устойчивость растений к экзогенным стрессовым факторам. Количественный анализ показывает, что стерилизация мужских генеративных структур на разных этапах развития у растений с геном *iaaM* почти в два раза выше, чем в контроле, при этом критическим этапом является микроспорогенез.

AUXIN HYPERPRODUCTION EFFECT ON TOBACO MALE GAMETOPHYTE DEVELOPMENT

A.A. Ermoshin, S.A. Zimnitskaya, S.A. Strekalova

Ural Federal University, Ekaterinburg, Russia

e-mail: zimm@list.ru

Cytokinins and auxins has the most effect on processes of growth and development. Auxins are historically the very first groups of phytohormones to be discovered. Their main effects on plant are dedifferentiation of cells in culture, cells growth through dilatation, seduction of lateral buds development and assimilants attraction. It is known that auxins affect generative function of plants.

Traditional means of evaluation of the role of phytohormones in plant's livability are connected with study of endogenous levels of hormones in various organs and tissues. However, sometimes it is not possible to obtain necessary amount of analysis material, in case of anthers and stigma, for example. Second way involves mutants' study through phytohormones synthesis or sensibility. The third and the most widespread mean consist of exogenous treatment with hormones. This method has several flaws, for example, it is impossible to determine the amount of active substance that goes directly into plant's organs and tissues. Transgenic model plants have no one of the abovementioned flaws.

In the current study transgenic tobacco plants (*Nicotiana tabacum* L.), "Samsun" variety, bearing an agrobacterial gene of auxins synthesis *iaaM* were used. Insertion and expression of the target gene in the transgenic plants have been proven. Increase in cytokinins' production led to the morphological changes in plants. In terms of reproduction function it manifested in later flowering, decreased size of blossoms and decrease in seed's germination.

Our work was aimed at detection of peculiarities of microsporogenesis and development of male gametophyte of transgenic lines.

It was shown that tobacco pollen grains of control plants possess great morphological diversity. The grains are spherical, nonapertural, either 3-5-furrow or pour-furrow.

Fertility level of developed pollen grains of control group is 83.6%, while auxin-hyperproductive plants have only 52.2% of fertile pollen grains in developed anthers. Sterilization can be noticed at earlier development stages as well. The fertility at the stage of microspore in control group is 88.4% while auxins hyperproductivity gives only 57.5%. At microspores' tetrads stage normally formed tetrads percentage is 59.6% for control and 25.9% for transgenic plants. Irregularities in microsporogenesis, which leads to the appearance of monads, diads and triads of microspores are the cause of sterilization.

Sterilization at later stages of development of male gametophyte is usually connected to the unfavorable environmental conditions. Data observed correlates well with the data on auxin excess increasing plant's resistance to the exogenous stress factors. Quantitative analysis reveals that sterilization of male generative function at different development stages of *iaaM* gene bearing plants is almost twice higher than of the control ones, with microsporogenesis being a crucial stage.

**ОСОБЕННОСТИ СЕМЕННОГО РАЗМНОЖЕНИЯ
У *ORCHIS PURPUREA* SSP. *CAUCASICA* (ORCHIDACEAE)**

Е.Е. Евдокимова, Е.В. Андропова, А.В. Семенов

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург

e-mail: E.E.Evdokimova@mail.ru

Изучение особенностей размножения представителей редких и исчезающих видов растений дает возможность понять способы их естественного воспроизведения и разработать методики их сохранения. Нами были изучены некоторые аспекты биологии семенного размножения *Orchis purpurea*, занесенного в Красную книгу РФ (2008). Материал был собран в Абинском и Новороссийском районах Краснодарского края. Было установлено, что средний процент завязывания плодов в 2009–2014 гг. при естественном опылении был очень низкий (1-4 %). При искусственном опылении он составил в среднем 34 - 77 %. Семена из плодов, собранных с разных особей, различались по жизнеспособности, окраске семенной кожуры и зародыша, степени однородности их размерных параметров и форме, что свидетельствует о наличии гетероспермии. Корреляции между метрическими параметрами зародыша и семени установлено не было. Как оказалось, в большинстве семян некоторых образцов зародыш или отсутствовал совсем, или он был недоразвитым или находился на стадии дегенерации. В среднем доля нежизнеспособных семян полученных при естественном опылении составила 50 % (максимально до 82%). В экспериментах по искусственному опылению было показано, что доля нежизнеспособных семян, полученных при автогамии или гейтоногамии, выше, чем в плодах завязавшихся после перекрестного опыления между разными особями, т. е. она зависела от типа скрещивания (Андропова и др., 2015). Однако размах варьирования данного признака определяется индивидуальными особенностями, и, вероятно, генетическими признаками материнского растения.

Был проведен тест на жизнеспособность семян путем проращивания их на питательной среде *in vitro*. Использовали семена, полученные в результате как естественного, так и искусственного опыления. В последнем случае использовалась пыльца не только *O. purpurea*, но и гибридов – *Orchis* x *hybrida*, *O.* x *angusticruris*, *O.* x *wulffiana*, произрастающих на той же территории. Разнокачественность семян при их проращивании в культуре *in vitro* проявилась в проценте и темпах прорастания, а также в количестве образовавшихся сеянцев нормального строения. Семена некоторых особей не проросли совсем, а у других формировались единичные проростки. В ряде случаев прорастание было массовым, но, впоследствии, у некоторых образцов наблюдалась гибель практически всех проростков на ранних стадиях их развития (протоко́рм), что, вероятно, связано с генетическими отклонениями. У тех растений, что продолжили свой рост, дальнейшее развитие протекало по-разному. У некоторые сравнительно быстро формировались зеленые листья, а затем утолщенные запасающие корни. У других наоборот сначала формировались запасающие корни, а развитие зеленых листьев происходило нормально, но позднее. У сеянцев некоторых особей наблюдались аномалии развития структур апекса побега, и способность к формированию зеленых листьев у них полностью отсутствовала.

Высказано предположение, что низкий процент завязывания плодов и низкое качество семян могут быть связаны как с условиями места произрастания особей, (граница ареала), так и с неоптимальными погодными условиями. Низкая реальная семенная продуктивность может быть следствием межвидовой интрогрессивной гибридизации и/или инбридинга в связи с малой численностью особей в изучаемых популяциях.

**FEATURES OF SEED PROPAGATION
IN *ORCHIS PURPUREA* SSP. *CAUCASICA* (ORCHIDACEAE)**

E.E. Evdokimova, E.V. Andronova, A.V. Semenov

Komarov Botanical Institute Russian Academy of Sciences, St. Petersburg

e-mail: E.E.Evdokimova@mail.ru

Study of the reproduction of representatives of rare and endangered species of plants makes it possible to understand the modes of their natural reproduction and to develop techniques for their conservation. We studied some aspects of the biology of seed breeding in *Orchis purpurea*, listed in the Red Book of the Russian Federation (2008). The material was collected in Abinsk and Novorossiysk, Krasnodar Krai. It was found that the average percentage of fruit set in 2009-2014 period under natural pollination was very low (1-4%). At artificial pollination, it was on the average 34 - 77%. The seeds of the fruit collected from different individuals differ in the vitality, color of the seed coat and the embryo, the degree of uniformity of size and shape parameters, indicating the presence of geytospermy. Correlations between metric parameters of the embryo and the seed has not been established. As it turned out, most of the seeds of some samples of the embryo were absent at all, or were aborted or were in the process of degeneration. On average, the share of non-viable seeds produced by natural pollination was 50% (to a maximum of 82%). In experiments on artificial pollination, it was shown that a part of non-viable seed obtained by autogamy or geytonogamy was higher than in fruits ensued after cross-pollination between different individuals, ie. it depended on the type of crossing (Andronova et al., 2015). However, the magnitude of variation of this feature is determined by the individual characteristics and probably genetic traits of the parent plants.

Seed viability test was conducted by germination in medium *in vitro*. The seeds obtained from both natural and artificial pollination were used. In the latter case, pollen is used not only from *O.purpurea*, but from hybrids - *Orchis x hybrida*, *O. x angusticruris*, *O. x wulffiana*, growing in the same area. Different quality of seeds at their germination in culture *in vitro* manifested in the percentage and germination rate, and the number of seedlings formed normal structure. The seeds of some species do not germinate at all, while others formed single seedlings. In some cases, the germination was mass, but, subsequently, in some samples the dead of almost all the seedlings at the early stages of their development (protocorms) were observed, that was probably due to genetic abnormalities. In those plants that continued to grow, the further development proceeded differently. In certain of green leaves, and then thickened stock roots relatively quickly formed. In the others on the contrary, the roots were firstly formed and green leaves development occurred normally, but later. In seedlings of some species abnormalities of shoot apex structures were observed and the ability to form green leaves have completely absent.

It is suggested that a low percentage of fruit set and the poor quality of seeds may be associated both with the place of individuals growing (border area), and suboptimal weather conditions. Low real seed production may be the result of interspecific hybridization introgressive and / or inbreeding due to the small number of individuals in the populations studied.

РЕПРОДУКТИВНАЯ БИОЛОГИЯ ВИДОВ И КУЛЬТИВАРОВ РОДА СИРЕНЬ (*SYRINGA* L., OLEACEAE)

С.Н. Жакова¹, Л.В. Новоселова²

¹Пермская государственная сельскохозяйственная академия имени академика
Д.Н. Прянишникова, Пермь

²Пермский государственный национальный исследовательский университет,
Пермь

e-mail: S.Fetisova@mail.ru

e-mail: Novoselova@psu.ru

На основе сравнительного анализа данных по репродуктивной биологии 6 видов, 2 межвидовых гибридов и 11 сортов рода *Syringa* L. выявлены характерные признаки и особенности строения цветков, соцветий, эмбриологических структур и процессов опыления, оплодотворения, образования плодов и семян. Изученные виды и культивары относятся к двум секциям подрода *Syringa*: секции *Syringa* L. (*S. vulgaris* L.) и секции *Villosae* C.K. Schneid. (*S. josikaea* J. Jacq. ex Rchb., *S. emodi* Wall. ex Royle, *S. wolfii* C.K. Schneid., *S. sweginzowii* Koehne & Lingelsh., *S. villosa* Vahl, *S. × prestoniae* McKelvey (*S. komarowii* subsp. *reflexa* × *S. villosa* (гибрид Престон)), *S. × henryi* C.K. Schneid. (*S. josikaea* × *S. villosa* (гибрид Генри)).

Цветочные почки у исследованных таксонов закладываются на концах однолетних побегов в год, предшествующий цветению: у *S. vulgaris* во второй декаде июля, *S. josikaea*, *S. emodi*, *S. wolfii*, *S. villosa* – в конце июля, у *S. × prestoniae* – в первой декаде августа, у *S. sweginzowii* и *S. × henryi* – в конце августа в условиях интродукции в учебном ботаническом саду имени А.Г. Генкеля ПГНИУ.

У всех представителей развитие андроеца опережает развитие гинецея. Стенка пыльника представлена эпидермисом, эндотецием, средним слоем и секреторным тапетумом. У большинства видов и гибридов формируется один ряд клеток среднего слоя, у *S. sweginzowii* отмечено образование двух рядов, у *S. vulgaris* – до четырех рядов. Тапетум многоядерный, однослойный, в области связника – двуслойный, полностью окружает спорогенную ткань. Тетрады микроспор образуются по симультанному типу. У большинства видов и гибридов формируется один фиброзный слой, у *S. vulgaris* и *S. villosa* отмечено образование двуслойного фиброзного эндотеция. Зрелые пыльцевые зерна всех видов и культиваров двуклеточные, 3-бороздно-поровые, средних размеров (27–39 мкм), сфероидальной или сплющено-сфероидальной формы.

Для изученных объектов *Syringa* характерен синкарпный гинецей. Завязь верхняя, двугнездная, образуется в результате срастания двух плодолистиков. В одной завязи обычно закладываются два семязачатка, редко 1 или 3–4. Семязачатки анатропные, тенуинцеллярные и унитегмальные. Единственный интегумент состоит из 9–12 слоев клеток. Археспориальная клетка одна, закладывается у большинства исследованных видов и гибридов в третьей декаде мая, у *S. villosa* – во второй декаде мая. Тетрада мегаспор линейная, функциональная мегаспора – халазальная. Халазальная мегаспора является материнской клеткой зародышевого мешка. Митотические деления в зародышевом мешке наблюдались у всех видов на стадии бутона 4 – 5 мм длиной, у *S. vulgaris* – в открытых цветках. Слияние полярных ядер обнаружено до момента оплодотворения на стадии бутона, полуоткрытого цветка и открытого цветка. Нарушениями в развитии зародышевого мешка является деформация интегументального тапетума у *S. villosa*, остановка в развитии зародышевых мешков в полноценно сформированных семязачатках у *S. vulgaris* и др.

Завязываемость плодов у видов и культиваров *Syringa* невысокая, в условиях свободного опыления составляет от 1 до 44,6 %. Плоды у сортов *S. vulgaris* 'Mme Jules Finger', Marie Legraye', 'Mme Abel Chatenay' и 'Jules Simon' не образуются совсем.

**REPRODUCTIVE BIOLOGY OF SPECIES AND CULTIVARS OF GENUS
LILAC (*SYRINGA* L., OLEACEAE)**

S.N. Zhakova¹, L.V. Novoselova²

¹Perm state agricultural academy named after academician D. N. Pryanishnikov, Perm

²Perm state national research university, Perm

e-mail: S.Fetisova@mail.ru

e-mail: Novoselova@psu.ru

On the basis of a comparative analysis of the reproductive biology data of 6 species, 2 interspecific hybrids and 11 cultivars of the genus *Syringa* L. specific features and characteristics of the flower formation, inflorescences, embryological structures and processes of pollination, fertilization, formation of fruits and seeds are identified. The studied species and cultivars belong to two sections of subgenus *Syringa*: section *Syringa* L. (*S. vulgaris* L.) and section *Villosae* C.K. Schneid. (*S. josikaea* J. Jacq. ex Rchb., *S. emodi* Wall. ex Royle, *S. wolfii* C.K. Schneid., *S. sweginzowii* Koehne & Lingelsh., *S. villosa* Vahl, *S. × prestoniae* McKelvey (*S. komarowii* subsp. *reflexa* × *S. villosa* (hybrid Preston)), *S. × henryi* C.K. Schneid. (*S. josikaea* × *S. villosa* (hybrid Henry)).

In the studied taxa flowers buds are laid down at the ends of annual shoots in the year preceding flowering: *S. vulgaris* in the second decade of July, *S. josikaea*, *S. emodi*, *S. wolfii*, *S. villosa* - in late July, the *S. × prestoniae* - in the first ten days of August, *S. sweginzowii* and *S. × henryi* – at the end of August in the botanical garden of PSU.

The development of androecium advances development of gynoecium for all studied plants. The anther wall consists of epidermis, endothoecium, middle layer and secretory tapetum. Most species and hybrids form a single row of cells of the middle layer, in *S. sweginzowii* formation of two rows was observed, and in the *S. vulgaris* - up to four rows. Tapetum is multi-nuclei, single-layered, double-layered in the area of connective, it completely surrounds the sporogenous tissue. Tetrads of microspores are formed by simultaneous type. Most species and hybrids form a fibrous layer, in *S. vulgaris* and *S. villosa* the formation of a two-layered fibrous endothoecium is noted. Mature pollen grains of all species and cultivars are two-celled, 3-pored, medium size (27-39 microns), spheroidal or oblate-spheroidal.

The studied objects of *Syringa* were characterized with syncarpous gynoecium. Ovary is superior, bilocular, formed by the fusion of two carpels. In one ovary there are 1-4 (rarely) ovules, two ovules are normal. Ovules are anatropous, tenuinucellate and unitegmic. The only integument consists of 9-12 layers of cells. Archisporial cell is alone, for the majority of the studied species and hybrids it appears in the third decade of May, for *S. villosa* - in the middle of May. Tetrad of megaspores is linear, functional megaspore is chalazal. Chalazal megaspore is the parent cell of the embryo sac. Mitotic division in the embryo sac was observed in all species in the bud with length of 4 - 5 mm and in *S. vulgaris* – in open flowers. The merger of the polar nuclei was found before the moment of fertilization at the bud, semi-open and open flower stages. Anomaly in the development of the embryo sac is deformation of integumental tapetum development in *S. villosa*, stop of the development of embryo sacs in a fully-formed ovules in *S. vulgaris* and others.

Fruit set of species and cultivars of *Syringa* is low, under free-pollination it is from 1 to 44.6%. The cultivars *S. vulgaris*' 'Mme Jules Finger', 'Marie Legraye', 'Mme Abel Chatenay' and 'Jules Simon' have no fruits.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭМБРИОЛОГИЯ ВИДОВ РОДА *CAMPANULA* (*CAMPANULACEAE*)

Н.А.Жинкина

Ботанический институт им. В.Л.Комарова РАН, Санкт-Петербург

e-mail: -Zhinkina Nadezhda nazh13@mail.ru

Проведено сравнительно эмбриологическое исследование 6 видов рода *Campanula*: *C.latifolia* L., *C.patula* L., *C.carpatica* L., *C.rotundifolia* L., *C.persicifolia* L., *C.rapunculoides* L. Показано, что пыльники 4-гнездные, вскрываются продольной щелью, интрузно, причем в закрытом цветке. Развитие стенки микроспорангия происходит центробежно, или по типу двудольных. Сформированная стенка гнезда пыльника состоит из эпидермы, нерегулярно-двуслойного эндотеция, одного, реже – двух средних слоев и тапетума. Тапетум однослойный, клеточный, без реорганизации. Некоторые клетки тапетума содержат 2-4 ядра. Стенка зрелого пыльника состоит из эпидермы и эндотеция, а остальные слои подвергаются деструкции в процессе развития. Формируется многослойная спорогенная ткань. Сформированные тетрады микроспор – тетрадральные и изобилатеральные, образуются симультанно. Зрелые пыльцевые зерна двуклеточные, поровые, с шиповатой поверхностью экзины, заполнены крахмалом. Сформированный семязачаток анатропный, унитегмальный, tenuinuцеллярный, с гипостазой и постаменто-подиумом в халазальной части. Нуцеллус в латеральной части состоит из 4-5 рядов клеток. Гипостаза образована двумя слоями клеток. Интегумент эпидермального происхождения, в сформированном семязачатке состоит из 9-10 слоев. Часть внутренней эпидермы интегумента специализируется в интегументальный тапетум и окружает зародышевый мешок на 2/3. Единственная археспориальная клетка функционирует как мегаспороцит, тетрада мегаспор линейная. Зародышевый мешок моноспорический, развивается из халазальной мегаспоры, в соответствии с Polygonum-типом. Оплодотворение происходит по премитотическому типу. Синергиды и антиподы дегенерируют в процессе оплодотворения. Эндосперм клеточный, характеризуется наличием терминальных гаусториев. В зрелом семени эндосперм заполнен запасными веществами, главным образом, крахмалом. Большая часть зародыша образуется производными апикальной клетки двуклеточного проэмбрио, при этом из базальной клетки образуется суспензор, а гипофизис отсутствует. Эмбриогенез соответствует Solanad-типу. Зародыш в зрелом семени удлиненной формы, линейный, занимает 2/3 длины семени, хорошо дифференцирован на органы – две семядоли, гипокотиль, апексы побега и корня. Семенная кожура формируется из единственного интегумента. В зрелом семени она представлена лишь двумя слоями – экзотестой, в виде крупных клеток наружной эпидермы интегумента и облитерированными остатками клеток интегументального тапетума в виде тонкой пленки.

Эмбриологическая характеристика в целом соответствует таковой семейства Campanulaceae (Коробова, Жинкина, 1987; Камелина, Жинкина, 1989; Zhinkina, Shamrov, 1997). Это подтверждает правомерность статуса данного рода как типового.

COMPARATIVE EMBRYOLOGY OF CAMPANULA SPECIES (CAMPANULACEAE)

Zhinkina N.A.

Komarov Botanical Institute of Russian Academy of Sciences, Sankt-Petersburg, Russia
e-mail: -Zhinkina Nadezhda nazh13@mail.ru

The comparative embryological research of 6 species of *Campanula* genus: *C.latifolia* L., *C.patula* L., *C.carpatica* L., *C.rotundifolia* L., *C.persicifolia* L., *C.rapunculoides* L., was carried out. All species studied are characterized by following features. Anther is 4-loculed, mature anthers explosive by longitudinal aperture, intrusively, in closed flower. The development of anther locus wall realizes centrifugally, according to dicot type. Anther wall formed consists of epiderm, two-layered endotecium, medial layers (usually one, rare two) and tapetum. Some tapetum cells are covered with cuticle from early developmental stage. The tapetum is unilayered, cellular, without reorganization. Some tapetum cells contain 2-4 nuclei, at late stages the orbicules are absent in most species. The wall of mature anther consists of epidermis and endotecium, the rest layers undergo destruction during development. At microsporogenesis the multilayered sporogenous tissue forms. Microspora tetrads, tetrahedral and isobilateral, form simultaneously. Mature pollen grains are two-cellular, apertured with echinated exine surface, and are fill with starch. Ovule formed is anatropous, unitegmal, tenuinucellate, with hypostase and postament-podium in chalazal part and placenta obturator in micropylar part. Nucellus in the lateral portion consists of 4-5 cell layers. Hypostase is formed by 2 cell layers. Integument is of epidermal origin, consists of 9-10 layers in the formed ovule. The part of inner integument epidermis is specialized in integumentary tapetum and surrounds embryo sac on 2/3. The single archesporial cell functions as megasporocitum, megaspore tetrad is linear. Embryo sac is monosporical, develops from chalazal megaspore according to Polygonum type. Fertilization is of premitotic type. Synergids and antipods degenerate during fertilization process. Endosperm is cellular, characterized by the presence of terminal (micropylar and chalazal) haustoria. In mature seed endosperm if fill with nutriments, mainly starch. The embryo is formed by derivatives of apical cell of two-cellular proembryo, suspensor is produced from the basal cell, hypophyse is absent. Embryogenesis confirms to Solanad type. The embryo in mature seed is long-shaped, linear, occupies 2/3 of seed length and is well differentiated on organs – two cotyledons, hypocotyl, shoots apex. Seed coat derives from a single integument. In mature seed it is represented only by two layers – exotesta with large cells of outer integument epidermis and obliterated remains of integumentary tapetum cells.

Their embryological characteristic in a whole corresponds to that of *Campanulaceae* family (Korobova, Zhinkina, 1987; Kamelina, Zhinkina, 1989; Zhinkina, Shamrov, 1997). This confirms the status of the genus given as typical.

ИНДУЦИРОВАНИЕ *IN VITRO* ГАПЛОИДНОГО ПАРТЕНОГЕНЕЗА

Т.П. Жужжалова, Е.Н. Васильченко, О.А. Подвигина

ФГБНУ «Всероссийский НИИ сахарной свеклы и сахара им. А.Л.Мазлумова»

Рамонь, Воронежской обл.

e-mail: biotechnologiya@mail.ru

Путь индуцированных воздействий через культуру *in vitro* очень сложен и тесно связан с морфологическими периодами развития растений сахарной свеклы (*Beta vulgaris.L*) в естественных условиях, обеспечивая успех выявления донорских генотипов. В процессе индуцирования *in vitro* гаплоидного партеногенеза сахарной свеклы установлено, что семязачатки отобранных генотипов, содержащие 8-ядерные или 7-клеточные, но восьмиядерные зародышевые мешки, обладают наибольшей регенерационной способностью. Строгая полярность зародышевого мешка в этот период, а также тотипотентность его ядер и неспециализированных клеток женского гаметофита обеспечивают наибольшую склонность к регенерации. Это позволило считать данный период критическим, способствующим переключению программы развития с гаметофитного на спорофитный путь. Однако недостатком гаплоидной технологии является низкая частота регенерации, которая варьирует в пределах 1,7-10,5%. Приемом, повышающим частоту гаплоидной регенерации и стимулирующим индукцию спорофитного пути развития является холодовая предобработка в течение 2-4 суток при положительной температуре 4-6 °С. Главным лимитирующим фактором, определяющим индукцию и пути морфогенеза гаплоидных регенерантов по спорофитной программе, является питательная среда на основе минеральных солей по Гамборгу (B₅), содержащая витамины по Уайту и различный гормональный состав. Добавление в среду гиббереллина в количестве 2 мг/л позволяет индуцировать гаплоидные регенеранты путем эмбриодогенеза через прямую регенерацию. Питательная среда, содержащая цитокинин 6-БАП, ГК и 2,4-Д стимулирует развитие через каллус путем органогенеза. Сильное воздействие на активизацию процесса пролиферации ядер и клеток женского гаметофита оказывает прекультивирование эксплантов на питательной среде жидкой консистенции, вызывая регенерацию гаплоидных проростков и повышая общее количество гаплоидов в два раза в зависимости от генотипа.

На основе экспериментальных цитозембриологических данных, отражающих особенности морфогенеза сахарной свеклы в естественных условиях и при культивировании *in vitro* выявлено большое сходство развития половых зародышей и эмбриоидов. Установлено, что эмбриоиды, формирующиеся из клеток гаметофита, имеют специфику развития, проявляющуюся в различных алгоритмах морфогенеза. При этом, в отличие от полового зародыша, у эмбриоидов формирование эндосперма, перисперма и семени не происходит, а наблюдается образование ростовой почки и затем проростка. Согласно современным представлениям в этом проявляется принципиальное сходство эмбриоида с ростовой почкой, что объединяет их как элементарные структурные единицы вегетативного размножения (Батыгина, Васильева, 2002).

Определяющим фактором морфогенеза являются элементы питательной среды, которые, изменяя метаболизм половых и соматических клеток, вызывают новый характер регуляции ростовых процессов. Так, биохимическая оценка электрофоретической подвижности изоферментов NADP-изоцитратдегидрогеназы (КФ 1.1.1.42) выявила у гаплоидных образцов в спектре фермента две зоны активности, одна из которых мономорфна и обладает R_f 0.37, а другая в отличие от контроля, полиморфна с R_f 0.26 и 0.31, что может служить для отбора реституционных линий. Принципиально новые возможности имеет проведение полимеразной цепной реакции ДНК и анализ полиморфизма длин рестриктивных фрагментов (RFLP) с использованием рестриктаз Hind III и Alu I. Данный анализ позволяет контролировать передачу генетической информации от донорских растений и вести отбор гомозиготных гаплоидных регенерантов с признаком цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС). Направленный отбор по биохимическим, молекулярно-генетическим и морфологическим признакам дал возможность создать три реституционные линии с закрепленным гетерозисом, две из которых имели признак ЦМС, одна была фертильной. Созданные линии переданы селекционерам для использования в селекционном процессе.

Таким образом, экстремальные условия *in vitro* оказывают определенное влияние на репродуктивные органы сахарной свеклы, вызывая различные генетические изменения, которые могут стать новым источником зародышевой плазмы и служить для создания хозяйственно ценных линий сахарной свеклы и новых отечественных гибридов.

IN VITRO INDUCTION OF HAPLOID PARTHENOGENESIS

T.P. Zhuzhzhhalova, E.N. Vasilchenko, O.A. Podvigina

*Federal State Budgetary Scientific Institution "The A.L. Mazlumov All-Russian Research Institute of Sugar Beet and Sugar", Ramon, Voronezh region
e-mail: biotechnologiya@mail.ru*

Way of induced effects through *in vitro* culture is very complex and closely related to morphological periods of sugar beet (*Beta vulgaris L*) plant development under natural conditions that ensure success in revealing donor genotypes. It was determined during *in vitro* induction of sugar beet haploid parthenogenesis that ovules of selected genotypes containing eight-nucleus or seven-cell but eight-nucleus embryo sacs have the most regenerative ability. Strict polarity of embryo sac during this period as well as totipotency of its nuclei and unspecialized cells of female gametophyte provides the greatest regeneration activity. This has allowed considering the given period to be critical, promoting developmental program change-over from gametophytic pathway to the sporophytic one. However, defect of haploid technology is low regeneration frequency that varies within 1.7-10.5%. Method increasing haploid regeneration frequency and stimulating induction of the sporophytic developmental pathway is cold pre-treatment for 2-4 days at positive temperature of 4-6°C. The main limiting factor that determines induction and ways of haploid regenerants' morphogenesis following the sporophytic program is Gamborg (B₅) nutrient medium containing mineral salts, vitamins added according White and different hormones. Addition of gibberellin in the amount of 2 mg/l to the medium allows inducing haploid regenerants by embryoidogenesis through direct regeneration. The nutrient medium containing cytokinin 6-BAP, gibberellin acid and 2,4-D stimulates development through callus by organogenesis. Pre-cultivation of explants on a liquid nutrient medium has a strong effect on activation of proliferation process of female gametophyte nuclei and cells causing regeneration of haploid shoots and doubling total number of haploids depending on genotype.

On the basis of the experimental cytoembryologic data reflecting characteristics of sugar beet under natural conditions and when cultivated *in vitro*, great resemblance in development of embryos and embryoids has been revealed. It has been determined that embryoids formed from gametophyte cells have development specificity revealing itself in different algorithms of morphogenesis. Besides, opposed to embryo, in embryoids endosperm, perisperm and seed formation does not occur, but formation of shoot bud and then a shoot is observed. According to modern conceptions, fundamental resemblance of embryoid and shoot bud is displayed therein, that unifies them as elementary base units of vegetative propagation (Batygina, Vasilyeva, 2002).

Morphogenesis deciding factor are nutrient medium elements which, by modifying metabolism of sexual and somatic cells, induce new character of growth processes regulation. So, the biochemical assessment of electrophoretic motility of NADP-isocitrate dehydrogenase isozymes (KF 1.1.1.42) has revealed two zones of the activity of enzyme spectrum in haploid samples, one of which is monomorphic, with R_f 0.37, and another, unlike the control, is polymorphic, with R_f 0.26 and 0.31. This can be used for selection of restitution lines. Carrying out polymerase chain reaction of DNA and the analysis of restriction fragment length polymorphism (RFLP) using restrictases Hind III and Alu I provides radically new possibilities. This analysis allows control of genetic information transfer from donor plants and selection of homozygous haploid regenerants with the trait of cytoplasmic male sterility (CMS). Directional selection for biochemical, molecular-genetic and morphological characters has enabled creation of three restitution lines with fixed heterosis. Two of them have the CMS trait, and one is fertile.

Thus, extreme *in vitro* conditions have a certain effect on sugar beet reproductive organs causing various genetic changes which can become a new source of germ plasm and could be used for development of economically valuable sugar beet lines and new domestic hybrids.

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИЗУЧЕНИЯ АПИКАЛЬНЫХ МЕРИСТЕМ КОРНЕЙ

В. Б. Иванов

Институт Физиологии Растений РАН, Москва

e-mail:ivanov_vb@mail.ru

Непрерывный рост корня обусловлен функционированием апикальных меристем, в которых постоянно образуются новые клетки. Растущая часть корня обычно не длиннее 10 мм и более короткая в тонких корнях, чем в более толстых. Согласно нашим данным для 150 видов покрытосеменных, длина корневой апикальной меристемы (КАМ) составляет приблизительно два диаметра первичного корня в зоне растяжения. Зона растяжения примерно в 2–5 раз длиннее КАМ. В самом кончике корня находится небольшая группа относительно покоящихся клеток, которую называют "покоящимся центром" (ПЦ). В его состав входят инициальные клетки разных тканей. Их производные делятся несколько раз, и длина КАМ поддерживается в определенных пределах, так как часть образующихся клеток постоянно переходит к растяжению, во время которого их длина возрастает до 20 раз за относительно короткое время. Продолжительность митотических циклов в КАМ у большинства видов от 10 до 20 часов и только в корнях *Liliaceae* с высоким гаплоидным содержанием ДНК длительность митотических циклов может достигать 120 часов. Продолжительность митотических циклов в среднем одинакова в разных тканях и на разных расстояниях от ПЦ. Время от образования клетки в результате деления инициальной клетки до выхода всех ее потомков из меристемы мы будем называть временем жизни клеток в меристеме. Обычно оно не длиннее нескольких суток. Поэтому продолжающиеся деления инициальных клеток важны для непрерывного роста. Активность их зависит от клеток ПЦ. В настоящее время нет единого мнения, какие клетки считать стволовыми – клетки покоящегося центра или клетки к нему примыкающие. Специфические особенности стволовых клеток в корнях по сравнению со стволовыми клетками других органов растений и животных будут обсуждаться в докладе. После декапитации не выше определенного предела в регенерирующих корнях возникает новый ПЦ. Таким образом, делящиеся клетки корней могут возвращаться в стволовое состояние. Роль экспрессии ряда генов и градиентов фитогормонов в возникновении и поддержании ПЦ будут рассматриваться в докладе. Постепенное прекращение пролиферативной активности происходит в базальной половине меристемы. Этот процесс независим от начала быстрого растяжения. Мы рассмотрим, как связаны процессы пролиферации и перехода клеток к растяжению и роль фитогормонов в этом процессе, что сейчас является развивающимся направлением исследований.

ROOT APICAL MERISTEM: STATE OF THE ART

V. B. Ivanov

Institute of Plant Physiology, RAS, Moscow

e-mail:ivanov_vb@mail.ru

Uninterrupted root growth requires functional root apical meristem (RAM) where new cells are continuously produced. According to our data, in about 150 Angiosperm species, the length of the RAM is close to two diameters of the elongation zone. The elongation zone is about two to five times longer than the RAM length. Relatively quiescent cells of the quiescent center (QC) located at the very tip contain initial or stem cells that give rise to different cell types. Their derivatives divide few times and the RAM length is maintained within certain size limits and subsequently a fraction of the produced cells transit to elongation, where cells increase their length up to 20 times during a relatively short time. The growing part of the root is commonly no longer than 10 mm; usually it is shorter in thin roots and longer in thick root tips. The duration of the cell cycle in the RAM in most species is 10 to 20 h and only in *Liliaceae* with high haploid DNA content it can reach 120 h. The duration of the cell cycle is on average the same in all root tissues and at different distances from the QC. Time from the first division of initial cell until its derivatives leave the RAM is defined as lifespan of meristematic cells and usually this time is no longer than few days. Therefore, continuous activity of stem cells is important for uninterrupted growth. This activity depends on the QC which behaves as a population of stem cells. There is no consensus on whether all the QC cells have the properties of stem cells. Specific features of stem cells in roots in comparison with other plant organs and animals will be discussed. After root tip decapitation close to the tip, a new QC is formed in the regenerating root. Thus dividing root cells are capable to acquire back the stem state. This property is auxin- and other hormone- related. Genetic regulation of the maintenance of the QC will also be discussed. The cessation of mitotic activity takes place in the basal portion of the RAM. This process is independent from the beginning of rapid cell elongation. It is not completely clear how cell proliferation and the rate of transition to cell elongation are regulated and we will address this problem. Particularly, the role of cytokinin and auxin will be considered.

ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ: ОТ КЛЕТОК ДО МОЛЕКУЛ

А.Н. Иванова

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург

e-mail: alyx@bk.ru

Электронная микроскопия является мощным инструментом изучения биологических объектов, позволяет исследовать как ткани при увеличении в несколько тысяч раз, так и отдельные молекулы при увеличениях в несколько сотен тысяч. Период становления просвечивающей электронной микроскопии в биологии пришелся 60е-80-е годы XX века. Основной задачей было изучение и выявление особенностей ультраструктуры клеток различных тканей. Применявшиеся тогда методы и подходы до сих пор остаются актуальными и не претерпели серьезных изменений. В последние десятилетия в лабораторную практику вводятся устройства и технологии, значительно расширяющие возможности просвечивающей электронной микроскопии, это обусловило значительное возрастание интереса к ней. Однако модификации классических методов позволяют получать интересные результаты без привлечения дополнительного оборудования.

В докладе будут рассмотрены методы просвечивающей электронной микроскопии, позволяющие изучать строение клеток, распределение в клетках различных веществ, динамику отдельных клеточных компонентов.

Корреляционная (коррелятивная) микроскопия (CLEM, correlative light and electron microscopy) была разработана как комбинация световой (флюоресцентной или конфокальной) и просвечивающей электронной микроскопии. Этот метод позволяет получать и сопоставлять данные об одном образце (ткани, клетки или компоненты клетки) на световом и электронно-микроскопическом уровне. Он особенно полезен для изучения единичных клеток интереса в гетерогенном образце. Для этапа световой микроскопии могут использоваться как фиксированные, так и живые образцы; в последнем случае можно изучать интересующий процесс в динамике или выделить отдельное событие для исследования ультраструктуры.

Электронная гистохимия (ультрагистохимия, цитохимия) позволяют изучать пространственную организацию обмена веществ на субклеточном уровне. Этим методом выявляются белки, углеводы, липиды, нуклеиновые кислоты, биогенные амины, гормоны, ферменты, неорганические соединения, а также некоторые компоненты клеток (комплекс Гольджи, плазмалемма, и др). Продуктом ультрагистохимической реакции является электронно-плотное вещество, по распределению которого судят о локализации изучаемого компонента. Достоверность гистохимических тестов подтверждается методами аналитической электронной микроскопии, которые позволяют локализовать элементы в образце на основе строения электронных оболочек их атомов. Иммунолокализация (иммуно-голд) – наиболее активно применяемый в настоящее время метод электронной микроскопии – фактически является одним из вариантов электронной гистохимии.

Для изучения формы, размеров и распределения бактерий, вирусов, белковых комплексов или других частиц используется метод негативного контрастирования. Он основан на неравномерном распределении растворов солей тяжелых металлов на неровностях образца. Негативное контрастирование используется также для метода установления трехмерной структуры биологических макрочастиц: вирусов и белковых комплексов (SPA, single particle analysis). Этот метод может быть реализован без привлечения дополнительного оборудования для электронной микроскопии, но требует специального программного обеспечения.

ELECTRON MICROSCOPY: FROM CELLS TO MOLECULES

A.N. Ivanova

Komarov Botanical Institute RAS, Saint-Petersburg

e-mail: alyx@bk.ru

Electron microscopy is a powerful instrument for the study of biological specimen, it allows study both tissues at thousand magnification and molecules at magnification of several hundred thousand. The period from 1960s to 1980s was the time for establishment of transmission electron microscopy in biology. The main goal was the study of cell ultrastructure of different tissues. The methods and approaches used at that time are still actual. The instruments and techniques were developed at recent decades to increase facilities of transmission electron microscopy, that provided the significant growth of interest in it. However modifications of routine methods allow obtain interesting results without additional instruments.

Methods of transmission electron microscopy for studying cell structure, substance distribution, dynamics of cell components will be presented in the talk.

The correlative light and electron microscopy (CLEM) was developed in the combination of light (fluorescent or laser confocal) and high-resolution electron microscopy. This technique allows the analysis of the same specimen with a combination of light and electron microscopy tools. It is especially useful for selection of rare objects heterogeneous samples. Fixed or alive specimen are used for light microscopy stage; in the latter case a process dynamics can be studied or rare event can be selected for ultrastructural investigation.

Electron histochemistry (ultrahistochemistry, cytochemistry) studies the spatial organization of metabolism at sub-cellular level. This method localizes proteins, carbohydrates, lipids, nucleic acids, amines, hormones, enzymes, inorganic compounds as well as several cell components like Golgi apparatus, plasmalemma etc. Reliability of ultrahistochemical tests was proved by analytical electron microscopy techniques that localize elements in the sample for the structure of electron shells. The widely used method of immuno-gold is in fact one of ultrahistochemical tests.

Negative staining is used to study the shape, size and distribution of bacteria, viruses, protein complexes or other particles. In this technique the solution of heavy metal salt unequal spreads on the sample surface. Negative staining is used in SPA (single particle analysis) that is the technique for reveal 3D structure of biological particles like viruses and protein complexes. This method can be realized without additional instruments for electron microscopy but it needs specific software.

РАЗВИТИЕ *DACTYLORHIZA MACULATA* S.L. (ORCHIDACEAE) В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO* И В ПРИРОДНЫХ УСЛОВИЯХ.

Ж.В. Ивасенко

Ботанический институт им. ВЛ. Комарова РАН, Санкт-Петербург
e-mail: ivassenko_zh@mail.ru

Для сохранения редких видов орхидных ведутся работы по размножению их в культуре *in vitro* и высадке в природные условия (Batygina, Makoveychuk, 1994; Ramsay, Dixon, 2003; Batygina, Bragina, 2007; Aggrwal, Zettler, 2010; Yam et al., 2011; Широков и др., 2014; Parthibhan et al., 2015). На примере *Dactylorhiza maculata*, было проведено изучение приживаемости растений после высадки из культуры *in vitro* в природные условия. Показано снижение численности после первого зимнего периода. Одной из причин могли быть структурные и физиологические особенности экспериментальных растений, сложившиеся в условиях культивирования *in vitro* (Ивасенко, Андропова, 2011). В связи этим было проведено морфологическое и гистологическое изучение развития растений данного вида в культуре *in vitro* и в природных условиях (по литературным данным).

В естественных условиях у *D. maculata* формируется особый орган ежегодного возобновления (Sharman, 1939; Ogura, 1953; Kumazawa, 1956,1958; Тихонова, 1983), который был назван стеблекорневым тубероидом (Dressler, 1981; Татаренко, 1996). Он имеет стебле-корневую природу. Ювенильное растение *D. maculata* имеет один небольшой узко-ланцетный лист, небольшой продолговато-веретеновидный клубень и один придаточный корень (Вахрамеева, 2000). Для ювенильных растений характерно моноподиальное нарастание. Признаком окончания ювенильного периода является переход к симподиальному типу нарастанию побега (Виноградова, 1999; Татаренко, 2007; Татаренко и др., 2006; Vinogradova, Andronova, 2002).

В асимбиотической культуре *in vitro* для растений из трибы *Orchideae* характерны длительный моноподиальный рост побега и торможение или полное отсутствие дифференциации стеблекорневых тубероидов. Вместо этого часть придаточных корней утолщается и выполняет запасающую функцию (Андропова и др., 2000; Куликов, Филиппов, 2003).

Нашими исследованиями было показано, что у *D. maculata* при длительном асимбиотическом культивировании в течение 4 лет сохранялся моноподиальный тип нарастания побега. У части растений формировался зачаток стеблекорневого тубероида из апикальной почки. Доля растений с зачатком тубероида увеличивалась с возрастом (от 50% в 2,5г. до 75% в 3г.9м.). У некоторых растений более старшего возраста (3г.9м.) присутствовали дополнительные тубероиды, сформировавшиеся из пазушной почки (Ивасенко, Андропова, 2011; Ивасенко, 2012, 2015).

Морфометрические параметры растений с моноподиальным типом нарастания побега, развивавшихся в асимбиотической культуре и в природных условиях различались. Экспериментальные растения имели большее число придаточных корней и листьев, другую форму листьев (неразвернутые, узко-линейные), большее число пазушных почек и способность к образованию из них дополнительных побегов (ветвление побега).

DEVELOPMENT OF *DACTYLORHIZA MACULATA* S.L. (ORCHIDACEAE) IN CULTURE *IN VITRO* AND IN NATURAL CONDITIONS.

Zh.V. Ivasenko

Komarov Botanical Institute of RAS, Saint-Peterburg

e-mail: ivasenko_zh@mail.ru

Works on reproduction of rare orchid species in culture *in vitro* and their replacement into natural conditions are carried out for the purpose of their conservation (Batygina, Makoveychuk, 1994; Ramsay, Dixon, 2003; Batygina, Bragina, 2007; Aggrwal, Zettler, 2010; Yam et al., 2011; Shirokov et. al.; 2014; Parthibhan et al., 2015). A research of survival of plants after replacement from culture *in vitro* to natural conditions was carried out on the example of *Dactylorhiza maculata*. It was revealed that a number of plants decreased after first winter period. One of the causes of this could be structural and physiological peculiarities of plants formed in culture *in vitro* (Ivasenko, Andronova, 2011). In this relation a research of the development of plants of this species in culture *in vitro* and in natural conditions (according to literary data) was carried out.

In natural conditions *D. maculata* forms a special organ of annual renewal (Sharman, 1939; Ogura, 1953; Kumazawa, 1956, 1958; Tikhonova, 1983). It was called root-stem tuberoid (Dressler, 1981; Tatrenko, 1996). Juvenile plants, which develop in nature, have one small narrow-lanceolate leaf, a spindle-like tuber, and one adventitious root (Vakhrameeva, 2000). Juvenile plants typically have monopodial growth. The sign of the end of the juvenile period is the transferring to sympodial growth (Vinogradova, 1999; Vinogradova, Andronova, 2002).

In asymbiotic *in vitro* culture the orchids from tribe *Orchideae* are characterized by long monopodial growth and inhibition or full absence of differentiation of root-stem tuberoids. Instead of them the plants form several thickened roots, which fulfill reserve function (Andronova et. al, 2000; Kulikov, Philippov, 2003).

Our investigations revealed that *D. maculata* retained monopodial growth for a long time of asymbiotic *in vitro* cultivation during 4 years. Some plants formed root-stem tuberoid primordium from the apical bud. The part of plants with tuberoid primordium increased with the age of plants. Some plants of older age had adventive tuberoid primordia which were formed from axile buds (Ivasenko, Andronova, 2011; Ivasenko, 2012, 2015).

Morphometric parameters of plants with monopodial growth, developed in asymbiotic *in vitro* culture and in natural conditions are differed. Experimental plants had a greater number of adventitious roots and leaves, another form of leaves (folded, narrow-linear), a greater number of axile buds and ability of formation of adventive shoots from this buds (shoot branching).

ПЫЛЬЦЕВАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ И ФЕРТИЛЬНОСТЬ ПЫЛЬЦЫ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *FAGOPYRUM* MILL.

Л.Р. Кадырова

Казанский федеральный университет, Казань
e-mail: luizakadirova@mail.ru

В последние годы большие надежды в селекционном улучшении культурных видов гречихи возлагаются на межвидовую гибридизацию (Фесенко, 2013). Для повышения эффективности скрещиваний и в дальнейшем - успешного семенного размножения растений, большое значение имеет количество и качество образуемой пыльцы. Цель настоящего исследования: сравнительная оценка пыльцевой продуктивности и фертильности пыльцы у *Fagopyrum esculentum* Moench, *F. tataricum* (L.) Gaertn. и *F. giganteum* Krotov. Использован сравнительно-эмбриологический, сравнительно-морфологический метод и йодный метод определения фертильности пыльцы (Паушева, 1988).

Количество нормально развитых тычинок в цветке у *F. esculentum* и *F. giganteum* в среднем оказалось близким к восьми, а у образцов *F. tataricum* составило 4,9 и 6,0 штук. В цветках *F. tataricum* постоянно обнаруживали редуцированные пыльники у тычинок наружного круга.

Развитие пыльника у всех видов проходило сходным образом. Пыльники тетраспорангиатные. Стенка пыльцевого гнезда развивается по типу однодольных, сформированная стенка состоит из четырех слоев клеток: эпидермиса, эндотеция, среднего слоя и тапетума. Клетки спорогенной ткани располагаются в гнезде пыльника в один ряд. Тетрады микроспор образуются по симультанному типу. Зрелое пыльцевое зерно – трехклеточное.

Различия между представителями *Fagopyrum* заключались в количестве развивающихся в гнезде пыльника материнских клеток микроспор. Исходя из данного показателя, рассчитали среднюю и потенциальную пыльцевую продуктивность цветка. Пыльцевая продуктивность цветка составила в среднем у *F. esculentum*, *F. tataricum* и *F. giganteum* 1397, 778 и 750 пыльцевых зерен, соответственно.

Однако реализации потенциальной пыльцевой продуктивности препятствуют многочисленные нарушения в ходе эмбриологических процессов. У всех трех видов выявлены приостановки в развитии спорогенной ткани до вступления в мейоз и нарушения в ходе мейоза. У *F. esculentum* обнаружен цитомиксис. Также описаны тетрады с частью или всеми разрушающимися микроспорами и последствия дисфункции тапетума. В результате отклонений в развитии эмбриологических структур происходят дегенерация пыльников и снижение фертильности пыльцы.

У всех трех видов обнаружен значительный процент стерильной пыльцы. Даже в благоприятных для роста и развития растений условиях у тетраплоидного образца *F. tataricum* и у *F. giganteum* фертильность пыльцы не превышала 56 %. На примере сорта Чатыр Тау *F. esculentum* доказано существенное влияние засухи на фертильность пыльцы.

Таким образом, у *F. esculentum*, *F. tataricum* и *F. giganteum* в условиях Республики Татарстан вследствие многочисленных нарушений в эмбриологических процессах наблюдается снижение количества формирующейся пыльцы и ее фертильности. В результате потенциальная пыльцевая продуктивность не реализуется в полной мере.

POLLEN PRODUCTIVITY AND FERTILITY OF POLLEN IN THE GENUS *FAGOPYRUM* MILL.

L.R. Kadyrova

Kazan Federal University, Kazan

e-mail: luizakadirova@mail.ru

In recent years, great hopes in breeding amelioration of cultivated species of buckwheat have been imposed on interspecific hybridization (Fesenko, 2013). To improve the efficiency of crossings and successful seed propagation later on, quantity and quality of formed pollen are very important. The purpose of this study: a comparative evaluation of the pollen production and fertility of *Fagopyrum esculentum* Moench, *Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn. and *Fagopyrum giganteum* Krotov. We used comparative-embryological, comparative-morphological method and iodine method for determining the fertility of pollen.

Number of normally developed stamens in the flower of *F. esculentum* and *F. giganteum* on the average was close to 8.0, and of the samples of *F. tataricum* was 4.9 and 6.0 units. The flowers of *F. tataricum* consistently showed reduced anthers of the stamens of the outer circle.

Anther development of all species was conducted in a similar manner. Anthers are tetrasporangial. The wall of anther lobe develops by the type of monocotyledons; formed wall consists of four layers of cells: the epidermis, endothecium, middle layer and tapetum. Tetrads of microspores are formed by the simultaneous type. Mature pollen grain is three-celled.

The differences between representatives of *Fagopyrum* were in the number of microspores mother cells developing in the anther lobe. On the basis of this index, the average and the potential pollen production were calculated. Pollen production averaged 1397, 778 and 750 pollen grains of *F. esculentum*, *F. tataricum* and *F. giganteum*, respectively.

However, realization of the potential pollen production prevents numerous abnormalities during embryological processes. All three species had interruptions in the development of sporogenous tissue before the entry into meiosis and irregularities during meiosis. We found cytomixis in *F. esculentum*. As a result of abnormalities in the development of embryological structures degeneration of the anthers of stamens and pollen fertility decline occurred later on.

A significant percentage of sterile pollen of all three species was discovered. Even in favorable conditions for plant growth and development the tetraploid sample of *F. tataricum* and *F. giganteum* pollen fertility does not exceed 56%. For example, Chatyr Tau variety of *F. esculentum* proved a significant effect of drought on the fertility of pollen.

ОСОБЕННОСТИ РЕПРОДУКЦИИ ДИКОРАСТУЩИХ ЗЛАКОВ ФЛОРЫ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Э.И. Кайбелева, О.И. Юдакова

Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского,
Саратов

e-mail: kaybeleva-elmira@mail.ru

Семейство Злаки является одним из самых крупных семейств покрытосеменных растений, его виды играют большую роль в сложении травянистых группировок растительности, а культурные формы имеют высокую хозяйственную ценность. Сохранение и использование в селекционно-генетических программах биоразнообразия злаков не возможно без знания их репродуктивных особенностей. Целью работы явилось изучение систем репродукции дикорастущих злаков флоры Саратовской области.

Из 132 видов семейства Poaceae, произрастающих на территории области, цитозембриологически было исследовано 42 вида из 24 родов. Репродуктивная стратегия изученных видов, как правило, основывается на сочетании семенного и вегетативного типов размножения. В редких случаях у растений семенное размножение не реализуется или затруднено. Так, у *Brachypodium pinnatum* (L.) Beauv. (доминанта травостоя в березняках и дубравах Базарно-Карабулакского и Хвалынского районов) зацветали и плодоносили единичные экземпляры, растущие только на лесных полянах. Поскольку вид является светолюбивым, лимитирующим фактором для зацветания мог быть уровень освещенности. У растений *Hierochloë odorata* (L.) P. Beauv с о-ва Чардымский (Воскресенский район) при активном цветении завязывались единичные семена. Данный вид является облигатным аллогамом. Перекрестное опыление у изученных растений могло осложняться из-за того, что островная популяция представлена небольшим числом особей, образующих одноклоновые заросли.

У 25 видов зарегистрирован облигатный половой способ размножения (*Agropyron desertorum* (Fisch. ex Link) Schult., *Agrostis syreistschikowii* P.Smirn, *Alopecurus pratensis* L., *Anisantha tectorum* (L.) Nevski, *Brachypodium pinnatum*, *Bromopsis inermis* (Leyss.) Holub, *B. riparia* (Rehm.) Holub, *Bromus japonicus* Thunb., *Catabrosa aquatica* (L.) Beauv., *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., *Elymus caninus* L., *Elytrigia intermedia* (Host) Nevski, *E. repens* (L.) Nevski, *Eragrostis suaveolens* A.K. Becker ex Claus, *Eremopyrum orientale* (L.) Jaub. & Spach, *E. triticeum* (Gaertn.) Nevski, *Glyceria notata* Chevall., *Melica nutans* L., *Milium effusum* L., *Phalaroides arundinaceae* (L.), *Phleum phleoides* (L.) Karst., *Ph. pratense* L., *Poa transbaicalica* Roshev, *Setaria viridis* (L.) P. Beauv, *S. verticillata* (L.) P. Beauv.).

У 17 видов установлен факультативный апомиксис (*Agrostis gigantea* Roth, *Dactylis glomerata* L., *Festuca altissima* All., *F. gigantea* (L.) Vill., *F. polesica* Zapal., *F. pratensis* Huds., *F. rupicola* Heuff., *F. valesiaca* Gaudin, *Hierochloë odorata*, *H. repens* (Host) Beauv., *Koeleria cristata* (L.) Pers., *K. sabuletorum* (Domin.) Klock., *Poa angustifolia* L., *P. bulbosa* L., *P. compressa* L., *P. nemoralis* L., *P. pratensis* L.). 80% апомиктов принадлежит к числу редких и обычных для изученных фитоценозов.

Как половые, так и апомиктичные виды являются аллогамными, о чем свидетельствуют высокие значения у них соотношения количества пыльцевых зерен и семязачатков (P/O ratio) (от 1032 у *Anisantha tectorum* до 30345 у *Hierochloë odorata*).

Биотопическая приуроченность злаков региона разнообразна. Они произрастают на всех типах почв, во всех фитоценозах, включая антропогенно-трансформированные территории. Каких-либо корреляций между условиями произрастания растений и способом семенной репродукции не выявлено.

REPRODUCTION FEATURES OF WILD CEREALS OF THE SARATOV REGIONAL FLORA

E.I. Kaybeleva, O.I. Yudakova

Saratov State University by N.G. Chernyshevsky, Saratov

e-mail: kaybeleva-elmira@mail.ru

The family of cereals is one of the largest families of angiosperms, its species play an important role in the composition of herbaceous vegetation groups, and their cultural forms have a high economic value. The conservation and use of cereal biodiversity in selection and genetic programs are impossible without the knowledge of their reproductive characteristics. The aim of our work was to study the reproductive system of wild cereals of the flora in the Saratov region.

Of the 132 species of the family Poaceae, growing in the region, 42 species of 24 genera were studied cytoembryologically. The reproductive strategy of the species studied is based, as a rule, on a combination of seed and vegetative reproduction. The seed reproduction of plants is not realized or hindered in rare cases. E.g. in *Brachypodium pinnatum* (L.) Beauv. (the dominant grass of birch and oak groves in the Bazarno-Karabulak and Khvalynsk districts), single specimens blossomed and fruited, growing in forest clearings only. Since the species is photophilous, the level of illumination could be the limiting factor of flowering. In the *Hierochloë odorata* (L.) P. Beauv plants from the Chardymsky Island (Voskresensk district), with intensive blooming resulting in a single seeds. This species is obligate allogamic. Cross-pollination in the plants studied may be complicated due to the fact that the island population is represented by a small number of individuals, forming single-clone thickets.

The obligate sexual mode of reproduction was observed in 25 species (*Agropyron desertorum* (Fisch. ex Link) Schult., *Agrostis syreistschikowii* P.Smirn, *Alopecurus pratensis* L., *Anisantha tectorum* (L.) Nevski, *Brachypodium pinnatum*, *Bromopsis inermis* (Leyss.) Holub, *B. riparia* (Rehm.) Holub, *Bromus japonicus* Thunb., *Catabrosa aquatica* (L.) Beauv., *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., *Elymus caninus* L., *Elytrigia intermedia* (Host) Nevski, *E. repens* (L.) Nevski, *Eragrostis suaveolens* A.K. Becker ex Claus, *Eremopyrum orientale* (L.) Jaub. & Spach, *E. triticeum* (Gaertn.) Nevski, *Glyceria notata* Chevall., *Melica nutans* L., *Milium effusum* L., *Phalaroides arundinaceae* (L.), *Phleum phleoides* (L.) Karst., *Ph. pratense* L., *Poa transbaicalica* Roshev, *Setaria viridis* (L.) P. Beauv, and *S. verticillata* (L.) P. Beauv.).

Facultative apomixis was established in 17 species (*Agrostis gigantea* Roth, *Dactylis glomerata* L., *Festuca altissima* All., *F. gigantea* (L.) Vill., *F. polesica* Zapal., *F. pratensis* Huds., *F. rupicola* Heuff., *F. valesiaca* Gaudin, *Hierochloë odorata*, *H. repens* (Host) Beauv., *Koeleria cristata* (L.) Pers., *K. sabuletorum* (Domin.) Klock., *Poa angustifolia* L., *P. bulbosa* L., *P. compressa* L., *P. nemoralis* L., and *P. pratensis* L.). 80% of the apomictic species are frequent and usual for the phytocenoses studied.

Both sexual and apomictic species are allogamic, as evidenced by the high values of their pollen-ovule ratio (P/O ratio) (from 1032 for *Anisantha tectorum* to 30345 for *Hierochloë odorata*).

The biotopical correspondence of the regional cereals is diverse. They grow in all soil types, in all plant communities, including anthropogenically transformed areas. No correlations between the conditions of plant growth and their mode of seed reproduction have been revealed.

**ОСОБЕННОСТИ НАСЛЕДОВАНИЯ ПРИЗНАКА ФЕРТИЛЬНОСТИ
ПЫЛЬЦЫ У МЕЖЛИНЕЙНОГО ГИБРИДА ПОДСОЛНЕЧНИКА**
**Ю. И. Карабицина¹, И. Н. Анисимова¹, О. Н. Воронова², Н. В. Алпатьева¹,
В. А. Гаврилова¹**

¹Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических
ресурсов растений имени Н. И. Вавилова, Санкт-Петербург

e-mail: galich1324.78@mail.ru

²Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург

e-mail: o_voronova@list.ru

Современная селекция подсолнечника ориентирована преимущественно на создание межлинейных гибридов на основе цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС) РЕТ1 типа. В селекции гибридов подсолнечника важное значение имеет признак фертильности пыльцы. Если гибрид от скрещивания линии ЦМС с фертильной линией продуцирует фертильную пыльцу, считают, что отцовская линия несет ген (или гены) восстановления фертильности. При оценке фертильности пыльцы широко используют экспресс-метод, основанный на окрашивании цитологических препаратов ацетокармином. Показатели качества пыльцы свидетельствуют об ее оплодотворяющей способности, а на основании данных о характере наследования в гибридных поколениях можно сделать заключения о генетическом контроле признака. Однако у подсолнечника особенности проявления этого признака в гибридных поколениях изучены мало. В настоящей работе изучен характер наследования показателей фертильности пыльцы в первом и втором гибридных поколениях от скрещивания линии ЦМС ВИР116 с линией-восстановителем фертильности ВИР740. Пыльцу анализируемых растений отцовской линии, гибридов F1 и F2 собирали в период массового цветения. Доля фертильных пыльцевых зерен подсчитывалась по методике Навашина (цит. по Роскин, 1951) с изменениями, на окрашенных ацетокармином глицерин-желатиновых препаратах с использованием микроскопа Zeiss Axioplan 2 imaging.

Отцовская линия характеризовалась высокофертильной (в среднем около 98%) и выровненной по диаметру пыльцой. Гибрид F1 был фертильным (90,1% фертильных пыльцевых зерен). Диаметр пыльцевых зерен варьировал от 19 до 35 мкм. Второе поколение гибрида расщеплялось на 2 фенотипических класса – фертильные (95 растений) и стерильные (37 растений), что соответствовало теоретически ожидаемому (3:1) при моногенном контроле признака. Эти данные позволили предположить, что отцовская линия ВИР740 несет доминантный ген восстановления фертильности (*Rf1*).

Диаметр пыльцевых зерен в расщепляющейся гибридной популяции F2 варьировал также от 19 до 35 мкм. Кроме того у 25,8% растений с нормальными пыльцевыми зернами на цитологических препаратах присутствовали одновременно микро (от 11 до 19 мкм) и макро (от 35 до 40 мкм) пыльцевые зерна. У 95,9% растений выборки большинство пыльцевых зерен имело диаметр от 26 до 29 мкм. Восемьдесят четыре растения имели высокий процент фертильной пыльцы (от 80 до 100%). Шесть растений характеризовалась очень низким (менее 60%) содержанием фертильной пыльцы. Девять растений при визуальном анализе описаны как «малопыльцовые». Все они характеризовались более низким показателем фертильности пыльцы (менее 70%). Семь «малопыльцовых» растений имели фенотип материнской стерильной линии. Два растения были ветвистыми (как отцовская линия ВИР740). Общий показатель фертильности пыльцы совпадал с неоднородностью пыльцевых зерен по диаметру. Все растения с пониженным уровнем фертильности несли полученные от отцовского родителя молекулярные маркеры гена *Rf1* HRG01, HRG02 и STS115. Отсюда, можно предположить, что наиболее вероятной причиной снижения фертильности пыльцы у этих растений было влияние других генов, возможно, полученных из генотипа материнской родительской линии.

**THE PECULIARITIES OF INHERITANCE OF POLLEN FERTILITY
CHARACTERISTICS IN AN INTERLINE SUNFLOWER HYBRID**

**Yu. I. Karabitsina¹, I. N. Anisimova¹, O. N. Voronova², N. V. Alpatyeva¹,
V. A. Gavrilova¹**

¹*Federal Research Center the N. I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic
Resources, St. Petersburg
e-mail: galich1324.78@mail.ru*

²*The V. L. Komarov Botanical Institute, St. Petersburg
e-mail: o_voronova@list.ru*

Modern sunflower breeding is focused mainly on the creation of interline hybrids based on cytoplasmic male sterility (CMS) of PET1 type. Pollen fertility character is of great importance for breeding sunflower hybrids. If a hybrid from crossing the CMS line with a male fertile line produces fertile pollen, it is believed that the paternal line carries a gene (or genes) for fertility restoration. For the assessment of pollen fertility an express method based on the staining of cytological preparations with acetocarmine is widely used. Characteristics of pollen quality evidence its fertilizing ability, and on the basis of data on the inheritance in hybrid generations one can draw conclusions on the genetic control of this trait. However, the manifestation of this trait in sunflower hybrid generations has been little studied. In the present work the inheritance of pollen fertility characteristics was studied in the first and second hybrid generations from a cross between the CMS line VIR116 and the restorer line VIR740. Pollen samples from male plants, hybrids F1 and F2 were collected during the flowering period. The proportion of fertile pollen grains was counted according to Navashin (see Roskin, 1951) with alterations, on the acetocarmine stained glycerin-gelatin preparations using the Zeiss Axioplan 2 imaging microscope.

Male line was characterized by a highly fertile (average about 98%) pollen which was homogeneous in grain diameters. The F1 hybrid was fertile (90.1% of fertile pollen grains). Pollen grain diameter varied between 19 and 35 μm . The second hybrid generation segregated for two phenotypic classes, the fertile (95 plants) and sterile (37 plants) that corresponded to the theoretically expected (3:1) ratio for monogenic control of the character. These data indicated that the male line VIR740 carried the dominant gene *Rf1* for fertility restoration.

Pollen grain diameter in the F2 hybrid population also varied between 19 and 35 μm . Moreover, in 25.8% of the plants with normal pollen grains both micro- (11-19 μm) and macro- (35-40 μm) pollen grains were simultaneously present. Among 95.5% of the plants the majority of pollen grains were of 26-29 μm in diameter. Eighty four plants contained very high amount of fertile pollen (80-100%). Six plants were characterized by a very low (less than 60%) amount of fertile pollen. Nine plants were described as the ‘few-pollen’ ones. They were characterized by a lower (less than 70%) index of pollen fertility. Seven ‘‘few-pollen’’ plants expressed phenotype of the maternal sterile line. Two plants were branched (as the male line VIR740). General index of pollen fertility coincided with heterogeneity of pollen grains by the diameter. All the plants with lower pollen fertility level carried the *Rf1* gene molecular markers HRG01, HRG02 and STS115 which have been obtained from the paternal parent. Therefore, it can be concluded that the most possible reason for fertility reduction in these plants was an influence of other genes probably obtained from the female parental line.

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ АНТЭКОЛОГИИ ОХРАНЯЕМОГО ВИДА *SALVIA AUSTRIACA* JACQ.

Т. А. Карасёва

Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону

E-mail: takaras@yandex.ru

Шалфей австрийский (*Salvia austriaca* Jacq.) – степной паннонско-причерноморский стержнекорневой травянистый многолетник, охраняемый в Ростовской области (статус 2а). Разными авторами изучались следующие особенности его репродуктивной биологии: половая структура гинодиэцичных популяций (Демьянова и др., 1984), состав опылителей и особенности переноса пыльцы в связи с проблемой видообразования (Claßen-Bockhoff, 2004), специфика работы тычиночного рычажного аппарата (Thimm, 2008). Изучение антэкологии *S. austriaca* в Ростовской области представляет интерес как в связи с охранным статусом вида, так и в целях сравнения с биологией цветения близкородственных видов *Salvia*.

Исследование проводилось в 2015-16 гг. в искусственных популяциях *S. austriaca* в коллекциях Ботанического сада Южного федерального университета и в 2016 г. в двух природных ценопопуляциях Кагальницкого и Неклиновского районов.

По характеру проявления полового полиморфизма шалфей австрийский сходен с другими видами секции *Plethiosphace*. Для него характерны следующие формы цветков: обоополые, истинно женские, функционально женские, разнотычинковые и мужские. Тычиночные цветки у *S. austriaca* отличаются коротким столбиком, скрытым в чашечке, недоразвитием лопастей завязи, более мелким венчиком. В искусственной популяции шалфея гинодиэция сочетается с гиномоноэцией и андромоноэцией. Подсчёт половой структуры 4-х популяций в 2016 г. показал, что доля женских особей в них колеблется от 0,59 до 2,00 %, что существенно меньше, чем было выявлено Е. И. Демьяновой с соавт. (1984) для популяции вида Хомутовской степи (3,1 – 4,8 %). Доля гиномоноэцичных особей в популяциях варьировала от 0 до 1,59 %.

Цветкам шалфея австрийского, как и других видов секции *Plethiosphace*, свойственна протандрия. Основные изменения, происходящие в течение жизни цветка, затрагивают длину столбика, положение столбика и рыльца относительно других частей цветка, форму лопастей рыльца. Тычиночная фаза продолжается от 3 до 15 часов в зависимости от времени суток. Лопастни рыльца в этот период сомкнуты, столбик находится выше тычинок. Переход к пестичной фазе сопровождается удлинением столбика, его дугообразным изгибанием книзу, расхождением и затем закручиванием лопастей рыльца. Продолжительность пестичной фазы 1 – 2 суток. При свободном цветении к началу пестичной фазы пыльники, как правило, освобождены от пыльцы, что сводит к минимуму возможность автогамии.

Суточная ритмика цветения *S. austriaca* проходит по дневному типу. Максимум распускания цветков приходится на 16 – 20 часов, с менее значительными пиками цветения в первой половине дня.

В коллекции Ботанического сада ЮФУ массовые сборщики пыльцы и нектара на шалфее австрийском – медоносная и крупные одиночные пчёлы. Это дистропные посетители, пребывание которых на цветке либо не приводит к срабатыванию тычиночного рычажного механизма, либо при его срабатывании не происходит контакта пыльников с телом опылителя. Из числа эутропных опылителей отмечены виды ксилокопы, при работе которых в цветках пыльца выгружается на переднюю часть спинки опылителя.

SELECTED ASPECTS OF *SALVIA AUSTRIACA* JACQ. ANTHOECOLOGY

T. A. Karasyova

South Federal University, Rostov-on-Don

E-mail: takaras@yandex.ru

Austrian sage (*Salvia austriaca* Jacq.) is steppe pannonic-euxine perennial herbaceous plant including in the Rostov region Red Book. Some aspects of its reproduction have been investigated (Demyanova et al., 1984; Claßen-Bockhoff, 2004; Thimm, 2008), but the floral biology of *S. austriaca* hasn't elucidated completely yet.

The research was conducted during 2015-16 in both artificial populations of *S. austriaca* in South Federal University Botany garden collections and natural populations in Kagalnitskiy and Neklinovski districts of Rostov region.

Regarding to sexual polymorphism, Austrian sage is similar to the other *Salvia* species from *Plethiosphace* section. It possesses flowers of different sexual forms, such as hermaphrodite, true female, functionally female, male and flowers with different stamens. Staminate flowers of *S. austriaca* are characterized by stylus shorter than the calyx tube, abortive ovary lobes and reducing corolla size comparatively with hermaphrodite flowers. Gynodioecy is accompanied with gynomonoecey and andromonoecey in *S. austriaca* artificial population studied. Female individuals proportion in four populations examined in 2016 vary from 0,59 up to 2,00 percent, i. e. less than was reported by Y. Demyanova et al. (1984) for the sage population of Khomutovskaya steppe (3,1 – 4,8). Percentage of gynomonoeceous plants ranges from 0 to 1,59 percent.

Hermaphrodite flowers of *S. austriaca* are protandrous as well as other *Salvia* species from *Plethiosphace* section. Alterations occurring within an individual flower life are mostly connected with the stylus length, stigma and stylus position in relation to the other floral structures, and character of stigma lobes. The length of staminate phase varies from 3 up to 15 hours according with the time of day. During this phase stigma lobes are closed, and the stylus arises over the stamens. Pistillate phase features by stylus bending down and extension, stigma protruding to corolla lower lip, and stigma lobes bifurcation with following twisting. Duration of pistillate phase is between 1 to 2 days. Pollen sacs become empty to pistillate phase starting in condition of open flowering that minimize opportunity of autogamy.

Most frequent visitors on *S. austriaca* flowers growing in Botany garden collection are honey-bee and large single bees. Their behavior on flowers doesn't trigger the staminal lever mechanism, or staminal movements don't result in the pollen deposition on visitor's body. Observations conducted demonstrate that carpenter bee may be considered as eutropic pollinator of *S. austriaca*. Its contact with flower leads to pollen loading on dorsal side of the insect's body.

**ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ЦВЕТКА У НЕКОТОРЫХ
МАЛАГАСИЙСКИХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *POLYSCIAS*
(*ARALIACEAE*: *APIALES*)**

П.В. Карпунина, М.С.Нуралиев, А.А.Оскольский, Д.Д.Соколов

*Биологический факультет Московского государственного университета имени
М.В.Ломоносова,*

*Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург,
Department of Botany and Plant Biotechnology, University of Johannesburg
e-mail: p.karpunina@yandex.ru*

Род *Polyscias*, по современным представлениям, насчитывает около 160 видов, распространенных в бассейнах Индийского и Тихого океанов от Африки и Мадагаскара до Австралии и Гавайских островов (Lowry, Plunkett, 2010; Plunkett, Lowry, 2010). Для большинства его представителей характерны пентамерные цветки с бикарпеллятным гинецеем, однако в ряде клад *Polyscias* наблюдаются значительные отклонения от этого плана строения цветка (типичного и для других *Araliaceae*) как в сторону увеличения числа тычинок и плодолистиков, так и в направлении редукции элементов гинецея и формирования одногнездной завязи. В пределах *Polyscias* выявлены как минимум четыре независимых перехода к гинецею с одногнездной завязью и одним фертильным семязачатком (Plunkett, Lowry, 2010; Karpunina et al., *subm.*), два из которых наблюдаются у малагасийских представителей, ранее рассматривавшихся в составе рода *Cuphocarpus*.

Мы исследовали 2 вида *Polyscias* (*P. compacta* с одногнездной завязью и *P. schatzii* – с пятигнездной завязью), эндемичных для Мадагаскара, с целью выяснения путей эволюционных преобразований гинецея и других частей цветка в этой группе. Теоретически, гинецей с одним фертильным плодолистиком мог образоваться либо путем скачкообразного полного исчезновения всех плодолистиков, кроме одного (мономерия), либо путем стерилизации и постепенной редукции всех плодолистиков, за исключением одного, с сохранением следов редуцированных плодолистиков по крайней мере на первых этапах эволюционных преобразований (псевдомономерия). При изучении анатомии и развития цветка *P. compacta* нам не удалось выявить каких-либо следов наличия более чем одного плодолистика, что согласуется с представлениями о мономерном характере гинецея у этого вида (Lowry, Plunkett, 2010).

Второй интересной особенностью изученных видов является наличие своеобразного расширения в основании цветка. В литературе эту структуру обозначали как подчашие, однако природа структур, описываемых под этим названием в разных группах покрытосеменных, различна и требует сравнительного анализа. Время заложения подчашия по отношению к другим органам цветка различается у двух изученных видов, что указывает на наличие эволюционных гетерохроний. Число лопастей подчашия не фиксировано, что затрудняет его возможную интерпретацию как видоизмененного прицветника и/или прицветничков.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 15-04-05836).

**FEATURES OF FLOWER DEVELOPMENT IN SOME MALAGASY SPECIES
OF *POLYSCIAS* (ARALIACEAE: APIALES)**

P.V. Karpunina, M.S. Nuraliev, A.A. Oskolski, D.D. Sokoloff

Biological Faculty, M.V. Lomonosov Moscow State University,

Botanical Museum, V.L. Komarov Botanical Institute,

Department of Botany and Plant Biotechnology, University of Johannesburg

e-mail: p.karpunina@yandex.ru

The genus *Polyscias*, as currently circumscribed, comprises about 160 species distributed throughout the Indian and Pacific Ocean basins from Africa and Madagascar to Australia and Hawaii (Lowry, Plunkett, 2010; Plunkett, Lowry, 2010). Although pentamerous flowers with bicarpellate gynoecium are the most common in this genus (as well as in the whole family Araliaceae), both increase of stamen and carpel number and their reduction leading to unilocular gynoecia with single fertile ovule occurred in some clades of *Polyscias*. Such unilocular gynoecia appeared in at least four clades of *Polyscias* (Plunkett, Lowry, 2010; Karpunina et al., subm.), two of them comprising Malagasy species previously segregated in the genus *Cuphocarpus*.

We have examined flower morphology of two *Polyscias* species endemic to Madagascar (*P. compacta* with unilocular ovary and *P. schatzii* with five locules per ovary) in order to clarify trends of flower evolution in this group with emphasis on the gynoecium. Generally, at least two pathways resulting in formation of unicarpellate and uniovulate gynoecia can be recognized in angiosperms: (1) abrupt reduction of all carpels but one in gynoecium (monomery) and (2) sterilization and gradual reduction of all carpels except one (pseudomonomery). Our data do not provide any developmental or anatomical evidence of the occurrence of sterile carpel(s) in flower of *P. compacta* and therefore confirm the idea of monomery of gynoecium in this species (Lowry, Plunkett, 2010).

Another interesting feature of examined species is the presence of a distinctive rim at the base of flower. This structure is commonly described as epicalyx, though its nature remains obscure. Structures described under the term epicalyx in various angiosperm lineages are obviously not homologous to each other, and a comparative analysis of these structures is needed. The timing of initiation of the epicalyx in relation to the other floral organs differs among two examined species thus indicating the occurrence of evolutionary heterochronies. The number of lobes of epicalyx is not precisely fixed, so that it is problematic to interpret it as flower-subtending bracts and/or bracteoles.

This work was supported by the Russian Foundation of Basic Research (project № 15-04-05836).

**ПОЛИМОРФИЗМ В ПОПУЛЯЦИЯХ ВИДОВ *CHONDRILLA*
ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ В СВЯЗИ С ОСОБЕННОСТЯМИ
СЕМЕННОГО РАЗМНОЖЕНИЯ**

**А.С. Кашин, Т.А. Крицкая, Н.А. Петрова, И.В. Шилова, А.О. Попова,
А.С. Пархоменко**

*Саратовский национальный исследовательский государственный университет
имени Н.Г. Чернышевского, Саратов
e-mail: kashinas2@yandex.ru*

Нумерический анализ морфологической изменчивости в 26 популяциях 7 видов *Chondrilla* из Астраханской, Волгоградской и Саратовской областей, Краснодарского края, Республик Калмыкия и Крым методом невзвешенного попарного среднего (UPGMA) показал, что из 7 видов рода только *C. ambigua* обладает несомненным видовым статусом. С высоким бутстреп-тестом разделяются между собой *C. juncea*, *C. latifolia*, *C. brevirostris* и «смешанные» популяции *C. juncea / graminea*, - с одной стороны, - и все популяции *C. graminea* и *C. acantholepis*, - с другой. Однако в целом между собой эти виды слабо изолированы. Факторный анализ методом главных координат (PCO) дал сходные результаты.

Методом ISSR анализа изучено генетическое разнообразие в 21 популяции 7 видов *Chondrilla* Европейской части России. Кластерный анализ (UPGMA), неукорененное дерево, построенное методом Neighbour Joining, и анализ методом главных координат сходно разделяют выборку на две группы: 1. *C. ambigua* и *C. brevirostris* в виде двух устойчивых подкластеров; 2. все остальные образцы. Сходство результатов, полученных при использовании четырех различных методов математического анализа, свидетельствует об их надежности. Семь исследованных таксонов *Chondrilla* разделились на три устойчивые группы: 1 – *C. ambigua*, 2 – *C. brevirostris*, 3 – *C. acantholepis*, *C. canescens*, *C. graminea*, *C. juncea*, и *C. latifolia*. Они в основном согласуются с результатами морфологического анализа распределения таксономически важных признаков между отдельными растениями и популяциями тех же 7 видов рода. Показано, что *C. ambigua* воспроизводится амфимиктично, в то время как остальные исследованные виды факультативно апомиктично.

В соответствии с полученными результатами несомненна видовая самостоятельность *C. ambigua* и с меньшей вероятностью - *C. brevirostris*. В то же время они позволяют предположить, что *C. acantholepis*, *C. canescens*, *C. graminea*, *C. juncea*, *C. latifolia* не являются самостоятельными видами и, скорее всего, представляют собой таксоны более низкого ранга. Полученные данные поддерживают мнение ряда авторов (Ильин, 1930; Еленевский и др., 2008а, б; Талиев, 1928; Флора..., 1936; Черепанов, 1995) о видовой несамостоятельности этих таксонов и, соответственно, не поддерживают мнение других авторов (Маевский, 1940, 2014; Леонова, 1989; Благовещенский и др., 1984; Губанов и др., 1992) об их видовой самостоятельности. Их, скорее всего, следует считать синонимами с приоритетным названием *C. juncea*.

Предполагается, что неясная картина изменчивости в секции *Chondrilla* обусловлена гибридизационными процессами и факультативным апомиксисом и / или отбором под давлением экотопических факторов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ, проект № 15-04-04087.

**POLYMORPHISM AND PECULIARITIES OF SEED REPRODUCTION
IN *CHONDRILLA* POPULATIONS OF EUROPEAN RUSSIA**

A. Kashin, T. Kritskaya, N. Petrova, I. Shilova, A. Popova, A. Parkhomenko

National Research Saratov State University, Saratov

e-mail: kashinas2@yandex.ru

The article presents the results of the numerical analysis of morphological variation in 26 populations of 7 species of *Chondrilla* in the following regions: Astrakhan region, Volgograd region, Saratov region, Krasnodar Krai, Republic of Kalmykia, and Republic of Crimea. UPGMA clustering (unweighted pair group method with arithmetic mean) showed that out of the seven species of the genus found in European Russia, it is only *C. ambigua* that has the status of undoubted species. Bootstrapping proved that within the genus a distinct difference is observed between the two groups of populations: the first group comprising *C. juncea*, *C. latifolia*, *C. brevirostris*, and mixed populations of *C. juncea/graminea*; and the second group comprising the populations of *C. graminea* and *C. acantholepis*. However, in general all the above mentioned species are poorly isolated. The principle coordinate analysis (PCO) yielded similar results.

ISSR analysis was employed to examine the genetic diversity of 21 populations of 7 *Chondrilla* species in European Russia. The cluster analysis (UPGMA), the unrooted tree built using the neighbour joining method, and the principle coordinate analysis all subdivide the samples into two following groups: 1. *C. ambigua* and *C. brevirostris* as the two stable sub-clusters; and 2. the other samples. The similarity of results obtained through four different mathematical analysis methods confirms the results' reliability. The analysed *Chondrilla* species were broken down into three stable groups: 1 – *C. ambigua*, 2 – *C. brevirostris*, 3 – *C. acantholepis*, *C. canescens*, *C. graminea*, *C. juncea*, and *C. latifolia*. In general, the groups correspond to the results of morphological analysis of distribution of taxonomically significant features in individual plants and populations of the same 7 species. It is shown that *C. ambigua* reproduces through amphimixis, whereas all the rest analysed species reproduce through facultative apomixis.

The obtained results demonstrate that *C. ambigua* and *C. brevirostris* (to a lesser extent) may be considered as independent species. It is also assumed that *C. acantholepis*, *C. canescens*, *C. graminea*, *C. juncea*, *C. latifolia* are not independent species and are, most likely, taxonomic units of lower rank. The obtained results support the opinion of a number of researchers (Ilyin, 1930; Yelenevsky et al., 2008a, b; Taliyev, 1928; Flora..., 1936; Cherepanov, 1995) who argue the lower status of the above units; and, thus, do not support those researchers (Mayevsky, 1940, 2014; Leonova, 1989; Blagoveshchensky et al., 1984; Gubanov et al., 1992) who argue the independent species status of the above units. It is proposed to unite the five discussed units under the name of *C. juncea*.

It is suggested that a complex pattern of interspecific variability in *Chondrilla* is due to the hybridization by facultative apomixis and/or the selection impacted by the ecotopic factors.

The research has been funded through RFBR grant № 15-04-04087.

ФЕРТИЛЬНОСТЬ ПЫЛЬЦЫ И ЗАРОДЫШЕВЫХ МЕШКОВ ЧЕРНИКИ ОБЫКНОВЕННОЙ (*VACCINIUM MYRTILLUS* L.)

М.В. Кетова, В.О. Кузнецова, М.А. Данилова

Пермский государственный национальный исследовательский университет,

Пермь

e-mail: ruadry@list.ru

Была изучена фертильность пыльцы у *V. myrtillus* в 4 популяциях на территории Пермского края. У представителей рода *Vaccinium* пыльцевые зерна в норме среднего размера, 3-бороздно-поровые, единицей распространения являются тетраэдрические тетрады, прорастание пыльцевых зерен начинается на рыльце пестика одновременно. Для всего рода обычны аномалии развития пыльцевых зерен, приводящие к появлению стерильной пыльцы.

У изученного вида были обнаружены тетрады из нормально развитых, фертильных пыльцевых зерен, полностью стерильные образования и тетрады, в которых часть пыльцевых зерен была стерильна. Доля полностью фертильных тетрад варьировала от 28,57% до 100,00%, в среднем она составила 80,96%. Общая фертильность пыльцы для данного вида (включая частично фертильные тетрады) варьировала от 63,69% до 100,00%, в среднем составила 91,10%.

Тетрады с аномалиями развития можно было разделить на три группы: с тремя фертильными пыльцевыми зернами и одним стерильным, с двумя фертильными пыльцевыми зернами и одним стерильным и полностью стерильные. Преобладали аномальные тетрады с двумя фертильными пыльцевыми зернами (16,94%) и полностью стерильные тетрады (17,78%), реже встречались тетрады с тремя фертильными пыльцевыми зернами (4,79%).

Для черники отмечены нижняя завязь, центрально-угловая плацентация и многочисленные гемианатропные семязачатки. Зародышевые мешки моноспорические, развиваются по Polygonum-типу. Фертильность зародышевых мешков определялась на стадии полностью сформированного бутона. В одной завязи находилось от 24 до 93 семязачатков, доля семязачатков с фертильными зародышевыми мешками варьировала от 65,22% до 95,16%, в среднем составила 81,32%.

В разных популяциях исследованные характеристики отличались незначительно. В целом фертильность пыльцы и фертильность зародышевых мешков у *V. myrtillus* достаточно высоки.

POLLEN AND EMBRYO SAC FERTILITY OF *VACCINIUM MYRTILLUS* L.

M.V. Ketova, V.O. Kuznetsova, M.A. Danilova

Perm state national research university, Perm

e-mail: ruadry@list.ru

We studied pollen fertility of *Vaccinium myrtillus* in four populations of Perm region. Usually the species of *Vaccinium* have medium size, tricolporate pollen grains, the dispersal units are tetrads. The germination of pollen grains begins on the stigma simultaneously. Different anomalies in pollen development, which are resulted in sterile pollen, are not rare.

The studied species had normal tetrads of fertile pollen grains, entirely sterile tetrads and tetrads that consists of both sterile and fertile pollen grains. The rate of entirely fertile tetrads varied from 28,57% to 100,00%, approximately 80,96%. The total fertility of the species (including tetrads with different pollen grains) varied from 63,69% to 100,00%, approximately 91,10%.

We divided anomalous tetrads in three groups: a) with three fertile pollen grains and one sterile, b) with two fertile pollen grains and one sterile, c) entirely sterile. There were 4,79% of the first group, 16,94% of the second group and 17,78% of the third group.

V. myrtillus has an inferior ovary, an axile placentation and numerous hemianatropous ovules. Embryo sacs develop according to Polygonum-type. For study we took the well-developed buds of *V. myrtillus*. There were from 24 to 93 ovules in each ovary. The rate of ovules with fertile embryo sacs varied from 65,22% to 95,16%, approximately 81,32%.

There is no significant difference between studied populations. The fertility of pollen and embryo sacs of *V. myrtillus* are quite high and constant.

ОСНОВНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ГЕНОМНОЙ БИОИНФОРМАТИКИ РАСТЕНИЙ

С.Ф. Кливер

Центр геномной биоинформатики имени Ф.Г. Добржанского, СПбГУ, Санкт-Петербург

e-mail: mahajrod@gmail.com

Достаточно часто современное состояние геномики характеризуют как «постгеномную эпоху», подразумевая тем самым, что уже нет технических и методологических препятствий на пути полногеномных исследований. Однако, данное утверждение можно назвать верным лишь частично. Сборка вирусных и бактериальных геномов уже давно превратилась в рутинную задачу, сборка геномов некоторых таксонов животных, например, млекопитающих, также обычно не представляет большой проблемы. Однако, сборка геномов протистов, беспозвоночных и растений все также остается крайне сложной задачей.

К основным проблемам, возникающим перед биоинформатиками, работающими с геномами растений можно отнести:

1. большой размер генома;
2. огромное число повторов;
3. высокую степень гетерозиготности;
4. широко распространенную полиплоидность;
5. склонность к межвидовой гибридизации.

Большой размер генома требует больших вычислительных мощностей для сборки. Огромное число повторов приводит к необходимости тщательного планирования схемы и выбора одной или нескольких платформ секвенирования. Таким образом, секвенирование и сборка геномов растений являются крайне затратными с финансовой точки зрения. Высокая степень гетерозиготности приводит к существенной фрагментации собранной последовательности генома, однако уже существуют программные инструменты (Platanus, Meraculous), способные, по крайней мере, частично решать данную проблему.

Задача сборки полиплоидных геномов на данный момент не решена даже частично — ни один из существующих сборщиков не способен собрать полиплоидный геном. Сборка генома, возникшего в результате межвидовой гибридизации, является еще более сложной задачей, поскольку в этом случае необходимо получить диплоидную сборку, то есть каждый из гаплотипов, соответствующих гаплотипам родительских видов, должен быть представлен в виде отдельного набора последовательностей, а не в виде консенсусной последовательности гаплоидной сборки.

Геномика начинается с последовательностей геномов изучаемых организмов. Однако, в геномной биоинформатике до сих пор существует множество нерешенных методологических проблем, препятствующих поточной сборке геномов растений. Для достижения данной цели требуется разработка новых технологий секвенирования и алгоритмических подходов.

MAIN PROBLEMS OF PLANT GENOME BIOINFORMATICS

S.F. Kliver

Dobrzhansky Center for genome bioinformatics, SPbSU, Saint-Petersburg
e-mail: mahajrod@gmail.com

Rather often current state of genomics is described as “post genomic era”. This means that there is no technical or methodological barriers for whole genome studies. However, this statement is right only partially. Assembly of viral and bacterial genomes have become a routine task long time ago, assembly of mammalian genomes also often is not a problem. Nonetheless, assembly of invertebrate and plant genomes is still a very difficult task.

Among complications that usually arise in plant genome bioinformatics the following problems can be named:

1. large size of genome;
2. great number of repeats;
3. high level of heterozygosity;
4. large spread polyploidy;
5. interspecific hybridization.

Large size of genome requires huge computational resources for assembly. Great number of repeats leads to necessity of careful planning of sequencing scheme and choice of one or more sequencing platforms. Thus, sequencing and assembly of plant genomes is very expensive. High level of heterozygosity leads to significant fragmentation of assembled genome sequence. However, there are tools (Platanus, Meraculous) that are able to solve this problem at least partially. Problem of assembly of polyploid genome is still not solved – there is no genome assembler that can assemble polyploid genome. Assembly of genome arisen from interspecific hybridization is even more challenging task, as in this case a diploid assembly is required, i.e each haplotype needs to be assembled not as a part of consensus haploid assembly but as separate set of sequences.

The genome sequences of studied organisms is the basis of genomics. However, there are a lot of still not solved methodological problems in genome bioinformatics, that prevent from massive assembly of plant genomes. The development of new sequencing technologies and algorithmic approaches is required to achieve this aim

ФИТОГОРМОНЫ И ПОЛЯРНЫЙ РОСТ ПЫЛЬЦЕВОЙ ТРУБКИ
Л.В. Ковалева¹, Е.В. Захарова², А.С. Воронков¹, Г.В. Тимофеева¹, Ю.В. Минкина³

¹Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН, Москва

²Кафедра генетики, биотехнологии и семеноводства МСХА им. Тимирязева, Москва

³Институт атомной энергетики ИАТЭ НИЯУ МИФИ, Обнинск

e-mail: kovaleva_l@mail.ru

Прорастание пыльцевых зерен (ПЗ) и поддержание полярного роста пыльцевой трубки (ПТ), ключевые процессы прогамной фазы оплодотворения у высших растений, требуют как временной, так пространственной координации многих клеточных функций, в том числе динамической организации элементов актинового цитоскелета, внутриклеточного транспорта везикул, несущих материал для построения клеточной стенки в ходе экзо- и эндоцитоза, и транспорта через ее плазматическую мембрану (ПМ) основных физиологически важных ионов, таких как H^+ , Ca^{2+} , K^+ .

Об участии фитогормонов в регуляции прорастания и роста мужского гаметофита свидетельствуют данные о том, что прорастание ПЗ петунии (*Petunia hybrida* L.) *in vitro* и *in vivo* сопровождается изменениями в уровне эндогенных гормонов (этилена, ауксина (ИУК), абсцизовой кислоты (АБК), гиббереллинов, цитокининов) (Kovaleva, Zakharova, 2003; Kovaleva et al., 2009, 2011). Пик образования этилена тканями пестика связан с самыми ранними событиями межклеточных взаимодействий в системе пыльца-пестик и сопровождает процессы адгезии, гидратации и прорастания ПЗ в тканях рыльца. Этот факт указывает на то, что этилен может быть вовлечен в межорганный сигнал опыления, который генерируется на рыльце и передается к столбику, завязи и другим органам цветка, что и обеспечивает успешное оплодотворение. О потенциальной возможности функционирования гормонов в этих процессах в качестве сигнальных молекул свидетельствуют недавно полученные данные о том, что актиновый цитоскелет мужского гаметофита петунии может быть интегратором сигнальных путей фитогормонов в процессе полярного роста ПТ (Kovaleva et al., 2015). Полученные данные дают основание полагать, что ауксин вовлечен в поддержание полярного роста ПТ, взаимодействуя с цитокининами и АБК. По-видимому, ауксин и цитокинины играют важную роль в регуляции актинового цитоскелета ПТ, влияя на полимеризацию актина. Эти взаимодействия могут быть реализованы согласно гипотезе (Hsu et al., 2010) о функционировании в пыльнике лилии в процессе дегидратации пыльцы особого сигнального пути АБК, через который регулируется ген *LLP-Rop1*, являющийся позитивным регулятором ауксина и негативным регулятором сигнального пути АБК. Установлено, что рост-стимулирующий эффект ИУК и АБК опосредован их действием на внутриклеточный pH (pH_c), мембранный потенциал ПМ, активность РМ H^+ -АТФазы, K^+ -каналы (Voronkov et al., 2010). Выявлены две возможные мишени действия фитогормонов, участвующие в гормон-индуцируемой осморегуляции ПТ: (1) H^+ -АТФаза ПМ, электрогенный протонный насос, ответственный за ее поляризацию, генерацию на ней мембранного потенциала и (2) Ca^{2+} -зависимые K^+ -каналы, а гормональные эффекты опосредованы транзиторным увеличением уровня Ca^{2+} в цитозоле и генерацией АФК.

PHYTOHORMONES AND POLLEN TUBE POLAR GROWTH
L.V. Kovaleva¹, E.V. Zakharova², A.S. Voronkov¹, G.V. Timofeeva¹, Y.V. Minkina³

¹*Timiryazev Institute of Plant Physiology of RAS, Moscow*

²*Dep. of Genetics, Biotechnology, Plant Breeding & Seed Science, Timiryazev Agricultural Academy, Moscow*

³*IATE National Research Nuclear University «MEPHI», Obninsk
e-mail: kovaleva_l@mail.ru*

Pollen tube tip growth *in vivo* requires both spatial and temporal coordination of many cellular functions, including ion fluxes, organization and dynamics of cytoskeletal elements, vesicular trafficking, exocytosis and endocytosis.

To date, the data received provide evidence for the possibility of the participation of plant hormones (ethylene, auxin, abscisic acid (ABA) and cytokinins) in petunia (*Petunia hybrida* L.) pollen–pistil interactions, controlling uninterrupted pollen tube growth (Kovaleva & Zakharova, 2003; Kovaleva et al., 2009; 2011). The peak of ethylene production by pistil tissues observed relates to much earlier events during the first stage of the intercellular interactions in the pollen-pistil system, accompanying adhesion, hydration and germination of pollen grains in stigma tissues. This indicates that ethylene may be implicated in the interorgan pollination signal that is generated in the stigma and transmitted to style and ovary, and other floral organs, to ensure successful pollination (Kovaleva et al., 2011). The data recently obtained showed that actin cytoskeleton of male gametophyte is capable of behaving as integrator of signaling pathways of plant hormones during polar growth of pollen tube (Kovaleva et al., 2015). Taken together, our results suggest that auxin is involved in the maintenance of pollen tube polar growth interacting with cytokinins and ABA. Apparently, both auxin and cytokinin play an important role in the regulation of the AC during pollen tube growth via their effects on actin polymerization. Interaction of IAA with ABA can be realized according to hypothesis (Hsu et al. 2010), which reported a desiccation-associated ABA signaling transduction pathway, through which the LLP-Rop1 gene is regulated during pollen dehydration in lily. It has been established that the growth-stimulating effect of IAA and ABA is due to their action on intracellular pH (pH_c), the membrane potential of plasmalemma (PM), the activity of PM H⁺-ATPase, K⁺-channels (Voronkov et al., 2010). The data on the participation of IAA and ABA in the osmoregulation of germinating *in vitro* petunia male gametophyte were obtained. Two possible targets of the action of these compounds are revealed. These are represented by (1) PM H⁺-ATPase, electrogenic proton pump responsible for polarization of this membrane, and (2) Ca²⁺-dependent K⁺-channels. It was shown that the hormone-induced hyperpolarization of the PM is a result of stimulation of electrogenic activity of PM H⁺-ATPase and the hormonal effects are mediated by transient elevation of the level of free Ca²⁺ in the cytosol and generation of ROS.

ДОЗО-ЗАВИСИМАЯ РЕГУЛЯЦИЯ АУКСИНОМ ЭКСПРЕССИИ И ПОЛЯРНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ PIN БЕЛКОВ В МЕРИСТЕМЕ КОРНЯ *ARABIDOPSIS THALIANA* L.

В.В. Коврижных^{1,2}, Т. Пастернак³, Н.А. Омелянчук^{1,2}, В.В. Миронова^{1,2}

¹Институт Цитологии и Генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

²Новосибирский Государственный Университет, Новосибирск, Россия

³Institute of Biology II/Molecular Plant Physiology, Center for BioSystems Analysis (ZBSA), BIOSS Center for Biological Signaling Studies, University of Freiburg, Freiburg, Germany

e-mail: vasilinakovr@gmail.com

Фитогормон ауксин является одним из главных регуляторов роста и развития растения. Существование многочисленных физиологических эффектов ауксина объясняется его неравномерным распределением в тканях, а также дозо-зависимыми механизмами его действия. В кончике корня, белки семейства PIN (PIN1-PIN4, PIN7) играют ключевую роль в формировании направленных потоков ауксина. Совместное функционирование PIN белков генерирует в ткани градиенты концентрации этого гормона с максимумом в покоящемся центре (ПЦ). Известно, что существует обратная связь от ауксина на экспрессию своих транспортеров.

Основываясь на этих данных, и сопоставив паттерны PIN белков и распределения ауксина, мы предположили, что разные дозы ауксина активируют экспрессию разных PIN. А именно, PIN2 экспрессируется в тканях с низким уровнем эндогенного ауксина, PIN1 промежуточных, а PIN3, PIN4 и PIN7 как при низких, так и при высоких концентрациях эндогенного ауксина. Кроме того, ауксину принадлежит ведущая роль в механизме установления полярной локализации PIN белков. Так в колумелле и ПЦ, где наблюдается высокий уровень ауксина, PIN белки локализируются не полярно. Напротив, в эпидермисе – области с низким уровнем ауксина, PIN2 локализуется строго в направлении побега, а в сосудистой системе – области с промежуточным уровнем ауксина все белки локализируются в направлении кончика корня.

Для проверки наших предположений мы провели серию экспериментов с визуализацией PIN белков специфическими антителами в растениях с измененным уровнем ауксина (мутанты *uic1-D* и при обработке НУК в различных концентрациях). Анализ микроизображений проводился в программах ZEN и ImageJ.

В результате, у мутантов *uic1-D* были выявлены изменения паттерна экспрессии PIN2, а также уровня его экспрессии. В ответ на обработку экзогенным ауксином каждый из PIN увеличил размер домена и интенсивность своей экспрессии, но максимальный эффект для разных PIN наблюдался при разных дозах НУК. Чтобы количественно оценить этот эффект, мы сравнили интенсивность свечения репортерных белков в меристеме корня после обработки и в контроле. В итоге, разные концентрации экзогенного ауксина имели специфичное влияние на экспрессию каждого PIN.

Кроме того, визуальный анализ изображений подтвердил, что при изменении распределения ауксина изменяется полярная локализация PIN. Например, при обработке экзогенным ауксином PIN1 и PIN2 имели более продолжительный домен локализации на нижней стороне в кортексе.

Эти данные подтверждают, что ауксин дозозависимо регулирует экспрессию и полярную локализацию PIN белков.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 15-34-20870).

AUXIN DOSE-DEPENDENT REGULATION OF PIN EXPRESSION AND THEIR POLAR LOCALISATION IN THE ROOT MERISTEME OF *ARABIDOPSIS THALIANA* L.

V.V. Kovrizhnykh^{1,2}, T. Pasternak³, N.A. Omelyanchuk^{1,2}, V.V. Mironova^{1,2}

¹*Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia*

²*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

³*Institute of Biology II/Molecular Plant Physiology, Center for BioSystems Analysis (ZBSA), BIOSS Center for Biological Signaling Studies, University of Freiburg, Freiburg, Germany*

e-mail: vasilinakovr@gmail.com

Phytohormone auxin is one of the major regulator of plant growth and development. The existence of the multiple physiological effects of auxin can be explained by its nonuniform distribution in tissues, as well as dose-dependent mechanisms of action. In the root tip, PIN family proteins (PIN1-PIN4, PIN7) play the key role in forming directed auxin flows. Co-operation of PIN proteins generated concentration gradients of this hormone in root tissue with a maximum in the quiescent center (QC). It is known, that there is a feedback from the auxin to its transporters expression.

Based on these data, and comparing the PIN patterns and auxin distribution we hypothesized that auxin different doses activate expression of various PIN. Namely, PIN2 expressed in tissues with low endogenous auxin levels, PIN1 - under intermediate auxin level and PIN3, PIN4 and PIN7 - at both low and high concentrations of endogenous auxin. In addition, auxin plays the general role in mechanism of PIN proteins polar localization establishing. So in the columella and the QC, where a high auxin level was observed, PIN proteins are located not polar. In contrast, in the epidermis - the area with low auxin, PIN2 is strictly shootward localized, and in the vascular system - region with an intermediate auxin level - all PIN proteins are rootward localized.

To test our hypotheses, we conducted a series of experiments with PIN proteins visualization using specific antibodies in plants with altered auxin level (*yuc1-D* and at the treatment by different NAA concentrations). Microimages analysis was realized in ZEN and ImageJ programs.

As a result, in *yuc1-D* mutants change in PIN2 expression pattern, as well as its expression level were revealed. In response to the treatment by exogenous auxin, each of PINs increased the domain size and intensity of its expression, but the maximum effect was observed for each PIN at different NAA doses. To quantify this effect, we compared the intensities of the reporter proteins fluorescent signals in the root meristem after treatments with the control. Finally, different exogenous auxin concentration had a specific influence on each PIN expression.

In addition, the visual image analysis confirmed that a change in the auxin distribution affects PIN polar localization. For example, under the exogenous auxin treatment, PIN1 and PIN2 had a longer rootward localization domain in the cortex.

These data confirm that auxin dose-dependent regulates the PIN expression and their polar localization.

This work was supported by RFBR, project № 15-34-20870

ЦИТОМИКСИС КАК ФОРМА КОЛЛЕКТИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ И САМООРГАНИЗАЦИИ КЛЕТОК В МИКРОСПОРОГЕНЕЗЕ ПОКРЫТОСЕМЕННЫХ

Е.А. Кравец¹, Ю.В. Сидорчук², С.Р. Мурсалимов², Е.В. Дейнеко²,
А.И. Емец¹, Я.Б. Блюм¹

¹ *Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, Украина, Киев, e-mail: kravetshelen@gmail.com*

² *Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, e-mail: sidorch@bionet.nsc.ru*

Согласно иерархической концепции естественного отбора, клетка многоклеточного организма, сохраняет черты индивидуальности, способной к коллективному поведению, поиску и самоорганизации (Buss, 1983; Исаева, 2012). Одной из форм коллективного поведения клеток в пыльнике является цитомиксис – тип межклеточного взаимодействия посредством обмена ядерным и цитоплазматическим материалом.

В работе использованы виды однодольных (*Lilium croceum* Chaix, *Allium fistulosum* L., *A. cepa* L., *Hordeum distichum* L.) и двудольных (*Nicotiana tabacum* L. cv. Petit Havana, линия SR1). У исследованных видов однодольных спонтанный цитомиксис наблюдался во всех тканях пыльника. Основные цитомиктические события происходили в ранней профазе микроспорогенеза – лептотене, зиготене и пахитене.

Известно, что индивидуализация микроспороцитов сопровождается отложением в их стенке каллозы, служащей молекулярным фильтром. Индивидуализация микроспороцитов относительна, поскольку цитомиктические каналы могут пронизывать и каллозную стенку. Среди микроспороцитов преобладало кооперативное поведение, в то время как между микроспороцитами и тапетальными клеткам (у однодольных) и внутри тапетума доминировали конкурентные отношения. Основываясь на цитологическом анализе, мы различали два основных типа взаимодействия: парно-петельный и цепочечный. Эти разновидности цитомиксиса могут встречаться в пределах одной популяции микроспороцитов, последовательно или одновременно. С интенсификацией цитомиксиса парные взаимодействия преобразуются в сложные цепочечные с вовлечением в ядерную миграцию множества клеток и дифференциацией на «доноров» и «реципиентов». В донорно-реципиентных отношениях микроспороцитов можно заметить черты коллективного альтруистического поведения, а в цепочечных – самоорганизации. В пользу этого свидетельствуют данные о сохранении структуры и функциональной активности мигрирующего хроматина (Mursalimov et al., 2015). Конкуренция преобладает в отношениях между микроспороцитами и тапетальными клетками, а также внутри тапетума. Сложные формы перетекания хроматина и ядерных слияний с образованием полиплоидных ядер происходят в тапетуме в процессе его «переплазмоидизации». Полиплоидные ядра тапетума и синцитии, как мощные акцепторы, успешно конкурируют с микроспороцитами, направляя транслокацию хроматина в свою сторону. Причины межтканевых конкурентных взаимодействий могут быть обусловлены ограничением пространственного и трофического ресурсов в пыльнике. Отсутствие межтканевых конкурентных взаимодействий в пыльнике двудольных, вероятно, отражает лучшую сбалансированность процессов дифференциации соматических и генеративных тканей микроспорангия. В отношении биологической самоорганизации цитомиксис можно рассматривать как механизм, который обеспечивает поддержание тканевого гомеостаза в пыльнике.

CYTOMIXIS AS A FORM OF COLLECTIVE BEHAVIOR AND OF CELL SELF-ORGANIZATION IN ANGIOSPERMS MICROSPOROGENESIS

E.A. Kravets¹, Yu.V. Sidorchuk², S.R. Mursalimov², E.V. Deineko²,
A.I. Yemets¹, Ya.B. Blume¹

¹ Institute of Food Biotechnology and Genomics of National Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine, Kiev; e-mail: kravetshelen@gmail.com

² Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk; e-mail: sidorch@bionet.nsc.ru

According to the multi-level hierarchical concept of natural selection a cell in a multicellular organism reveals traits of individualization capable of collective behaviour, cooperation, searching and self-organization (Buss, 1983; Isayeva, 2012). A cytomixis as a type of intercellular interaction through the exchange of nuclear and cytoplasmic material could be one of the cell collective behavior forms in the anther.

In this work monocotyledonous (*Lilium croceum* Chaix, *Allium fistulosum* L., *A. cepa* L., *Hordeum distichum* L.) and dicotyledonous species (*Nicotiana tabacum* L. cv. Petit Havana, line SR1) were used. Spontaneous cytomixis which is found in all tissues of the anther is inherent for the studied species of monocots.

The main cytotoxic interactions took place in the early prophase of microsporogenesis - leptotene, zygotene and pachytene. Individualization of microsporocytes notoriously is accompanied by the deposition of callose in their wall, which serves as a molecular filter. Personalisation of microsporocytes is relative because cytotoxic channels can penetrate the callose wall. The cooperative behavior prevails among microsporocytes, while competitive relationships dominate between microsporocytes-to-tapetal cells (only monocots) as well as intra-tapetum cell interactions. Regarding cytological picture we differentiated cytomixis according to pair-looped and chained varieties. These varieties could occur within a single population of microsporocytes either sequentially or simultaneously. The increase of cytotoxic activity as a rule was accompanied by the transformation of pair-looped interactions into complex chained interactions that involved multiple cells with differentiation on «donor» and «recipient». In the donor-recipient relationships, collective altruistic behaviour of microsporocytes can be discerned, as well as traits of collective self-organization in chained interactions. This is supported by the data on preservation of the structure and functional activity of migrating chromatin (Mursalimov et al., 2015a, b). Competitive relationships dominate among microsporocytes and tapetal cells as well as intra tapetum. Complex forms of chromatin interflow and nuclear mergers resulting in high-ploidy nuclei occur in tapetal tissue during its “periplasmoidization”. Polyploid tapetum nuclei and syncytia as powerful acceptors are able to compete with microsporocytes and guide the chromatin translocation to their favor. The reasons of competitive interactions may be due to the limited spatial and trophic resources in the anther tissue. The absence of intertissue interactions in dicots probably reflects a better balance in differentiation of somatic and generative anther tissues. With respect to biological self-organization cytomixis can be regarded as a mechanism which ensures the maintenance of tissue homeostasis in an anther.

О ЗНАЧЕНИИ СТРОЕНИЯ СЕМЕННОЙ КОЖУРЫ ДЛЯ СИСТЕМАТИКИ ПОКРЫТОСЕМЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Т.И. Кравцова

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург

e-mail: TKravtsova@binran.ru

Семенная кожура (ск) – одна из основных структур семени, пограничная структура, отделяющая зародыш и запасные питательные вещества от внешней среды. Для ск характерна многофункциональность: она выполняет трофическую функцию во время развития семени или доразвития зародыша, а в зрелом семени защитную функцию и функцию диссеминации. Результаты изучения строения и развития семени в настоящее время используются для решения вопросов систематики, установления филогенетических связей между таксонами, выяснения адаптивного значения ск, в качестве генетических маркеров для идентификации генотипов в разделении гибридных потомков (Zeng, et al., 2004). Благодаря консервативности и информативности строения ск ее сравнительно-анатомическое изучение является одним из ведущих традиционных методов современной систематики растений. Первые значительные работы по изучению строения семени и ск и попытки привлечь эти признаки для решения таксономических вопросов относятся к 70-м годам XIX в. Наибольший вклад в изучение строения ск внесли F. Netolizky (1926) и E.J.H. Corner (1976); широко известны также сводки F.D. Boesewinkel и F. Bouman (1984), E. Werker (1997), труды отечественных карпологов А.П. Меликяна (1972, 1973, и др.), Э.С. Терехина (1986; 1996, и др.). По инициативе академика А.Л. Тахтаджяна это направление было продолжено в БИНе: под руководством М.Ф. Даниловой началась подготовка сводки «Сравнительная анатомия семян». Признаки ск можно условно разделить на признаки поверхности (микроморфология ск) и внутреннего строения. Сканирующий электронный микроскоп позволил выявить огромное разнообразие признаков поверхности семени, что значительно увеличило число таксономически значимых признаков микроморфологии семенной кожуры. Достаточно сказать, что в зависимости от увеличения выделяется 4 категории признаков поверхности (Barthlott, Ehler, 1977; Barthlott, 1981): расположение клеток; первичная скульптура, определяемая формой эпидермальных клеток; вторичная скульптура, определяемая рельефом их наружной тангентальной стенки, и третичная скульптура, возникающая благодаря отложениям на поверхности клеточной оболочки воска. Позже были разработаны классификация и терминология типов эпикутикулярных восковых отложений (Barthlott et al., 1998), у семян встречающихся нечасто. Описание скульптурных образований каждого уровня затруднено, так как они чрезвычайно разнообразны, с переходными формами, и нет общепринятой терминологии. Ориентиром может служить классификация типов поверхности семян M.R. Murley (1951), приведенная в *Botanical Latin* (Stern, 1973). Анатомическое строение ск у покрытосеменных очень многообразно. По мнению исследователей, «ни один растительный орган или ткань не может сравниться с семенной кожурой по богатству и разнообразию анатомических структур» (Цингер, 1958). Corner (1976) разработал классификацию типов ск, в основу которой он положил происхождение ее механических слоев. Значительным достижением в этой области явилось разработка представлений о критериях примитивности и специализированности анатомической структуры ск (Меликян, 1972, 1973). В дальнейшем перспективным направлением представляется сопоставление эволюционно-морфологических рядов признаков ск и молекулярно-филогенетических реконструкций таксонов.

ON SIGNIFICANCE OF SEED COAT STRUCTURE FOR SYSTEMATICS OF ANGIOSPERMS

T.I. Kravtsova

Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg
e-mail: TKravtsova@binran.ru

The seed coat (*sc*) is one of the main seed structures, the boundary part that separates embryo and storage tissues from the environment. The *sc* is multifunctional: it performs trophic function during seed development or during additional development of underdeveloped embryo, the protective function and function of dissemination in mature seeds. The data on *sc* structure and development are employed currently to solve classification problems, to establish relationships between taxa, to elucidate *sc* adaptive significance, and to serve as genetic markers for the identification of genotypes in segregating hybrid progenies (Zeng, et al., 2004). Due to the conservatism and information value of the *sc* structure its comparative anatomical study is one of the chief traditional methods of modern plant systematics. The first important research works on seed and *sc* structure and attempts to involve these results for solving taxonomical problems refer to seventies of XIX century. The greatest contribution in this field was made by F. Netolizky (1926) and E.J.H. Corner (1976); the studies of F.D. Boesewinkel, F. Bouman (1984), E. Werker (1997), A.P. Melikian (1972, 1973), E.S. Teryokhin (1986, 1996) are also widely known. On academician A.L. Takhtajan initiative this research direction was continued in Komarov Botanical Institute: the preparation of the monograph “Comparative seed anatomy” began under the direction of M.F. Danilova. The *sc* characters may be conventionally divided into characters of surface ornamentation (*sc* micromorphology) and characters of inner structure. Scanning electron microscope made it possible to reveal a vast diversity of seed surface patterns, what increased considerably number of taxonomically important features of *sc* micromorphology. Suffice it to mention that depending on microscope magnification four categories of surface characters may be distinguished (Barthlott, Ehler, 1977; Barthlott, 1981): cellular arrangements; primary sculpture, determined by shape of cells; secondary sculpture, determined by fine relief of the cell wall; tertiary sculpture (sculpture of epicuticular secretions). Subsequently the classification and terminology of epicuticular waxes, rather rare in seeds, were elaborated (Barthlott et al., 1998). Description of sculptural features of different level is complicated because they are very diverse, the transitional forms occur, and there is no generally accepted terminology. One may be guided by the classification of types of seed surfaces proposed by M.R. Murley (1951), cited in Botanical Latin (Stern, 1973). Anatomical structure of *sc* is multiform. The researches have the notion that “no one plant organ or tissue can match *sc* in abundance and diversity of anatomical structures” (Tzinger, 1958). Corner (1976) suggested a classification of *sc* types based on histogenetic origin of its mechanical layers. An advance in this field was related with elaboration of the ideas on the criteria of primitivism and specialization of *sc* anatomical structure (Melikian, 1972, 1973). At present the perspective trend in comparative *sc* anatomy is seen in juxtaposing of evolutionary-morphological schemes and molecular-phylogenetic reconstructions.

ГЕННЫЙ БАНК *IN VITRO* РЕДКИХ И ИСЧЕЗАЮЩИХ РАСТЕНИЙ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Т.А. Крицкая, А.С. Кашин

Саратовский национальный исследовательский государственный университет
имени Н.Г. Чернышевского, Саратов
e-mail: kritckaiata@gmail.com, kashinas2@yandex.ru

Создана коллекция асептических культур *in vitro* 37 видов 27 родов 17 семейств покрытосеменных растений, занесённых в красные книги Саратовской области и Российской Федерации. Для каждого образца оптимизированы протоколы клонального микроразмножения и получены жизнеспособные растения-регенеранты.

Впервые получена стерильная культура *Potentilla vulgarica*. Выявлено влияние различных фитогормонов на активацию пазушных меристем исследуемого объекта. Установлено, что сочетание зеатина (0.5 мг/л) и БАП (0.1–0.25 мг/л) является оптимальным для быстрого микроразмножения эксплантов. Ризогенез отмечен на питательной среде без фитогормонов, либо с добавлением ИУК 0.05 мг/л. Выявлен оптимальный почвенный субстрат для адаптации регенерантов к нестерильным условиям, состоящий из нейтрального садового грунта, мела, вермикулита и дренажного слоя из керамзита. Адаптированные растения успешно высажены в природные условия и по показателям семенной продуктивности не уступают растениям-донорам, которые были использованы для получения асептических культур.

Разработан эффективный протокол клонального микроразмножения *Silene cretacea* – исчезающего вида с узкой экологической амплитудой, остро нуждающегося в восстановлении численности популяций и являющегося перспективным источником получения лекарственного сырья. Доказан прямой органогенез и отсутствие каллусогенеза на протяжении всего времени культивирования эксплантов на указанном варианте питательной среды (патент РФ № 2552174 С1). Выявлено, что инокуляция культуры *S. cretacea* ризобактериями *Azospirillum brasilense* Sp245 оказывает значительный положительный эффект на приживаемость регенерантов *ex vitro*, повышая тем самым эффективность всего процесса клонального микроразмножения.

Методом ISSR анализа изучено генетическое разнообразие в 18 природных популяциях *Tulipa gesneriana* L. (= *T. schrenkii* Regel, *T. suaveolens* Roth) на севере Нижнего Поволжья с целью отбора материала для сохранения *in vitro*. Десять использованных ISSR праймеров позволили выявить 102 ПЦР фрагмента, из которых 50 оказались полиморфными (49.0%). На основании данных, полученных в результате кластерного анализа по коэффициенту Жаккара и Neighbor Joining, было установлено, что исследуемые популяции объединяются в 2 основных кластера по степени генетической близости. Результаты AMOVA показали достоверные различия ($F_{ST} = 0.430$; $p = 0.000$) между этими группами. Локальные популяции генетически значительно дифференцированы друг от друга ($F_{ST} = 0.632$) и практически не связаны современным потоком генов, о чем свидетельствуют результаты теста Мантеля ($r = -0.118$; $p = 0.819$). В связи с этим, отбор материала для сохранения вида *in vitro* рекомендуется производить из популяций двух контрастных групп.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ, проект № 16-04-00142, а также Минобрнауки России в рамках базовой части государственного задания в сфере научной деятельности по заданию № 2014/203, код проекта 1287.

IN VITRO GENE BANK OF RARE AND ENDANGERED PLANTS OF SARATOV REGION

T.A. Kritskaya, A.S. Kashin

Saratov State University, Saratov

e-mail: kritckaiata@gmail.com, kashinas2@yandex.ru

The collection of *in vitro* aseptic cultures was created comprising flowering plants (Angiospermae) of 37 species of 27 genera of 17 families in the Red List of Saratov region and the Red Data Book of the Russian Federation. A protocol for efficient clonal micropropagation of every species was established that resulted in obtaining viable regenerants.

It is the first time that the culture of *Potentilla vulgarica* has been obtained. The impact of various plant-growth regulators on the development of axillary shoot buds was studied. It is established that the combination of zeatin (0.5 mg L^{-1}) and 6-benzylaminopurine ($0.1\text{--}0.25 \text{ mg L}^{-1}$) is the best enhancer of the explants' micropropagation. Rhizogenesis is observed either on the hormone-free medium or on the medium containing IAA 0.05 mg L^{-1} . It is proved that the best substrate for *ex vitro* planting and acclimatization is the mix of neutral soil, chalk, vermiculite, and drainage layer of LECA. After *ex vitro* transfer, seed productivity of plantlets was the same as the one of donor plants, that were used to obtain aseptical cultures.

A protocol was established for efficient clonal micropropagation of *Silene cretacea*, an endangered species with a narrow ecological amplitude that needs population boosting as it is a promising source of pharmaceutical raw materials. A direct organogenesis and a lack of callus formation throughout the time of explant cultivation on the defined medium (Russian Federation Patent № 2552174 C1) were demonstrated. It is proved that inoculation with *Azospirillum brasilense* Sp245 rhizobacteria significantly strengthens *S. cretacea* acclimatization to *ex vitro* conditions and, thus, improves the effectiveness of clonal micropropagation of the species.

The genetic diversity of the eighteen natural populations of *Tulipa gesneriana* L. (= *T. schrenkii* Regel, *T. suaveolens* Roth) found in the north of the Lower Volga region was subject to the ISSR analysis. The utilised inter-sequence simple repeat (ISSR) primers showed 102 PCR-fragments, 50 of which were polymorphic (49.0 %). The clustering analysis (UPGMA) allowed subdividing the samples into two large clusters. The unrooted tree which was built using the Neighbour Joining analysis had the similar topology. The first cluster includes the populations with the low variation of markers while the highly-variable populations comprise the second cluster. The analysis of molecular variance (AMOVA) showed the consistent differences ($F_{CT} = 0.430$; $p = 0.000$) between the two groups. The Mantel test confirmed that the local populations show significant genetic differentiation from each other ($F_{ST} = 0.632$) and have nearly no links via actual gene flow ($r = -0.118$; $p = 0.819$). It is assumed that the degree of genetic proximity of populations depends on the period and peculiar features of the species introduction on this territory.

The research for this paper was partially financed through RFBR grant № 16-04-00142 as well as supported by the Ministry of Education and Science of Russia within the framework of the basic part of the government commission in the field of research, Commission № 2014/203, project code 1287.

МИКРОСПОРА КАК МОДЕЛЬНАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ СПОРОФИТНЫХ ПУТЕЙ МОРФОГЕНЕЗА РАСТЕНИЙ *IN VITRO*

Н.Н. Круглова, О.А. Сельдиминова, Д.Ю. Зайцев, И.Р. Галин,
А.Е. Зинатуллина

Уфимский Институт биологии РАН, Уфа
e-mail: kruglova@anrb.ru

В экспериментальной модельной системе культуры *in vitro* при строго определенных контролируемых условиях морфогенетически компетентная клетка пыльника на определенной стадии своего развития способна к смене программы развития с обычной гаметофитной на спорофитную, ведущую к формированию растения по схеме репродукции спорофит → спорофит (Батыгина и др., 2010). Выявлено, что такой морфогенетически компетентной клеткой у яровой мягкой пшеницы является микроспора в сильновакуолизированной фазе развития (по периодизации Кругловой, 1999). Способность к переключению программы развития сильновакуолизированной микроспоры с гаметофитной на спорофитную определяется рядом моментов. 1. Особенность структурной организации этой клетки: наличие хорошо развитой центральной вакуоли и крупного ядра, расположенного напротив поры прорастания. Тем самым микроспора характеризуется хорошо выраженной полярностью. По этому признаку (апикально-базальная организация) микроспора структурно сходна со зрелой яйцеклеткой большинства цветковых растений. Это еще раз свидетельствует о существовании принципиального сходства в организации инициальных клеток нового индивидуума при различных системах репродукции как в естественных условиях, так и в культуре *in vitro* (Батыгина, 1997, 2014). 2. Активные процессы метаболизма микроспоры, что подтверждается данными ультраструктурного анализа.

Экспериментально установлено, что холодовое воздействие провоцирует отрыв микроспоры от стенки пыльника. Такой отрыв приводит к нарушению целостности пыльника как системы, нарушению морфогенетических корреляций между тканями стенки пыльника и микроспорой и, тем самым, к нарушению детерминации нормального гаметофитного развития пыльцевого зерна. Кроме того, отрыв приводит к нарушению полярности микроспоры и к дегенерации тканей стенки пыльника. Таким образом, стрессовое воздействие холодом является триггером спорофитного морфогенеза микроспоры.

Установлено, что в условиях культуры *in vitro* спорофитный морфогенез микроспоры проходит по пути эмбриоидогенеза/полиэмбриоидогенеза или гемморизогенеза, в зависимости от баланса эндогенных (в пыльнике) и экзогенных (в индукционной питательной среде) гормонов. Выявлены эмбриологические и цитофизиологические особенности каждого из спорофитных путей морфогенеза микроспоры, ведущих при оптимальных условиях культивирования к формированию полноценных растений.

Разработаны лабораторные образцы биотехнологии получения регенерантов пшеницы на основе различных спорофитных путей морфогенеза *in vitro*.

**MICROSPORE AS A MODEL SYSTEM FOR THE INVESTIGATION
OF SPOROPHYTE PATHWAYS OF PLANT MORPHOGENESIS *IN VITRO***

N.N. Kruglova, O.A. Seldimirova, D.Yu. Zaitsev, I.R. Galin, A.E. Zinatullina

Ufa Institute of Biology of RAS, Ufa

e-mail: kruglova@anrb.ru

The morphogenetic competent anther cell at the definite stage of its development is capable to change development program from usual gametophyte to sporophyte one leading to formation of plant according reproduction scheme sporophyte → sporophyte in experimental model system of *in vitro* culture under strictly determined controlled conditions (Батыгина и др., 2010). It was revealed that such morphogenetic competent anther cell in spring soft wheat is the microspore at the highly vacuolated phase of development (by the periodization of Круглова, 1999).

The ability to switching over the program of development of highly vacuolated microspore from gametophyte to sporophyte one is determined by a number of moments. 1. The peculiarity of structural organization of the cell: the presence of wall central vacuole and a large nucleus located opposite to a germ pore. Thus, a highly vacuolated microspore is characterized by well expressed polarity (apical-basal organization). It should be noted that by this attribute a highly vacuolated microspore is structurally similar to a mature egg cell of the majority of flowering plants. It confirms the existence of principal similarity in the organization of initial cells of new individual at different systems of reproduction under natural conditions and in culture *in vitro* (Батыгина, 1997, 2014). 2. Active metabolism processes in highly vacuolated microspore, which were confirmed by the data of ultrastructural analysis.

It was experimentally established that cold stress provoked break-off of highly vacuolated microspore from anther wall. Such break-off leads to the break of anther integrity as a system, disturbance of morphogenetic correlations between anther wall tissues and highly vacuolated microspore and by that to infringement of determination of normal gametophyte development of pollen grain. Besides, this separation leads to the change of microspore polarity and to the degeneration of anther wall tissues. Thus, a trigger of sporophyte morphogenesis of highly vacuolated microspore morphogenesis *in vitro* is a cold stress effect.

It was established that *in vitro* conditions the microspore sporophyte morphogenesis was proceeded by pathway of embryoidogenesis/polyembryoidogenesis or gemmorhizogenesis depending on balance of endogenous (in anther) and exogenous (in induction culture medium) hormones. The embryological and cytophysiological peculiarities of each of sporophyte morphogenesis pathway of microspore which led to normal plant formation under optimal culture *in vitro* conditions were established.

The laboratory samples of biotechnology of production of wheat regenerants on the base of different sporophytic pathways of morphogenesis *in vitro* were elaborated.

НАЧАЛЬНЫЕ ЭТАПЫ В РАЗВИТИИ РЯДА РЕДКИХ РАСТЕНИЙ УДМУРТИИ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Е.Н. Кузнецова

Удмуртский государственный университет, Ижевск

e-mail: pteris-2008@mail.ru

В настоящее время микроклональное размножение редких видов растений получило широкое распространение как один из инструментов сохранения биоразнообразия. Ввод в культуру *in vitro* для последующего микроклонирования может быть осуществлен с помощью разнообразных эксплантов, в том числе и семян. Однако при вводе семян в культуру *in vitro* должно быть учтено влияние используемых химических реагентов (как стерилизующих агентов, так и питательной среды) на прорастание и развитие проростков.

Для исследования были выбраны 3 редких вида, занесенных в Красную книгу Удмуртской Республики (2012): *Adenophora liliifolia* (L.) A. DC., *Aster amellus* L., *Cortusa matthioli* L.. Ввиду различных особенностей строения семенной кожуры и разной степени развития зародыша для семян данных видов были осуществлены различные варианты предпосевной подготовки и стерилизации. Посев семян в стерильных условиях производился на питательную среду Мурасиге-Скуга. Ввод в культуру *in vitro* и дальнейшая оценка степени влияния стерилизующих агентов были осуществлены согласно общепринятым методикам (Международные правила анализа семян, 1984; Бутенко, 1999 и др.).

Эксперименты показали, что для всех исследованных видов вне зависимости от типа стерилизующего агента и особенностей строения семян характерно замедление прорастания и дальнейшего развития проростков. Согласно полученным данным, для семян *Adenophora liliifolia* и *Cortusa matthioli* оптимальным вариантом предпосевной подготовки является стратификация. Всхожесть в лабораторных (нестерильных) условиях составила для *Adenophora liliifolia* $80,0\% \pm 5,8$; для *Cortusa matthioli* – $50,0\% \pm 3,2$. Пик прорастания наблюдался на 7-9 день и 10-14 день от закладки опыта соответственно. При обработке стерилизующим агентом значительно снижается жизнеспособность семян данных видов, наилучшие результаты всхожести в условиях *in vitro* составили для *Adenophora liliifolia* $40,0\% \pm 5,0$ и для *Cortusa matthioli* $33,3\% \pm 3,3$. Пик прорастания в стерильных условиях более смещен на 7-10 суток по отношению к нестерильным условиям.

Семена вида *Aster amellus* обладают морфологическим типом покоя, что позволяет не применять предпосевную подготовку. Всхожесть в нестерильных условиях составила $60,0\% \pm 5,8$; пик прорастания наблюдался на 5-7 день. При обработке комплексом стерилизующих агентов всхожесть семян снижается незначительно и составляет $52,5\% \pm 7,5$. Однако пик прорастания семян в условиях *in vitro* приходится на 12-17 день.

Период формирования как семядольных, так и настоящих листьев в стерильных условиях удлиняется примерно в 2-3 раза по сравнению с аналогичным в лабораторных условиях для всех исследованных видов. Также для данных видов было отмечено появление аномалий в развитии проростков: остановка в росте, формирование очень короткого первичного корня, изменение цвета вегетативных органов и т.д.

THE INITIAL STAGES IN DEVELOPMENT OF SOME RARE PLANTS OF UDMURTIA IN THE CONDITIONS *IN VITRO*

E.N. Kuznetsova

Udmurt state university, Izhevsk

e-mail: pteris-2008@mail.ru

Now the microclonal propagation of rare plants is widely used as a tool for the conservation of biodiversity. Input in culture *in vitro* for subsequent micropropagation can be accomplished with using a variety of explants, including seeds. But the chemical's (sterilizing agents and nutrient medium) influence on germinating and development of seedlings should be considered in cases of input in culture *in vitro* with using seeds.

The objects of research are three rare species listed in the Red Book of Udmurt Republic (2012): *Adenophora liliifolia* (L.) A. DC., *Aster amellus* L., and *Cortusa matthioli* L. The different variants of presowing treatment and sterilization were realized in view of different features of the structure of seed coat and differing degrees of embryo's development. In sterile conditions the sowing was made on nutrient medium of Murashige-Skoog. Input to culture *in vitro* and further assessment of the effect of sterilizing agents was carried out according to standard techniques (Международные правила анализа семян, 1984; Бутенко, 1999, etc.).

The experiments showed that all studied species irrespectively of the type of sterilizing agent and features of seed anatomy are characterized by delay of seed germination and further development of seedlings. According to the obtained data stratification is optimal variant of presowing treatment for seeds of *Adenophora liliifolia* and *Cortusa matthioli*. In the laboratory (unsterile) conditions germination of *Adenophora liliifolia* was $80,0\% \pm 5,8$; *Cortusa matthioli* – $50,0\% \pm 3,2$. The peak of germination was observed on 7-9 days and 10-14 days from the start of experiment respectively. Processing by sterilizing agent significantly reduced the germinating power of these species, germination of *Adenophora liliifolia* was $40,0\% \pm 5,0$ and of *Cortusa matthioli* – $33,3\% \pm 3,3$. The peak of germination in sterile conditions more shifted by 7-10 days compared to the same period in unsterile conditions.

The seeds of *Aster amellus* have a morphological type of dormancy, that's why presowing treatment wasn't used. Germination in unsterile conditions was $60,0\% \pm 5,8$; peak of germination was observed on 5-7 days. Seed germination after processing by complex of sterilizing agents is reduced slightly ($52,5\% \pm 7,5$). However, the peak of germination *in vitro* accounts for 12-17 day.

The period of formation of cotyledon and true leaves in sterile conditions is lengthened by approximately 2-3 times in comparison with the same period in laboratory conditions (for all studied species). Also the appearance of anomalies in the development of seedlings was noticed: stasis, formation of very short primary root, change of color of vegetative organs.

КРИТИЧЕСКИЕ СТАДИИ В РАЗВИТИИ СЕМЯН КАННЫ САДОВОЙ И ЛИЛЕЙНИКА ГИБРИДНОГО

Т.Н. Кузьмина

«Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН», г. Ялта
e-mail: tnkuzmina@rambler.ru

Канна садовая (сем. Cannaceae) и лилейник гибридный (сем. Nemerocallidaceae) – высокодекоративные культуры, относящиеся к классу однодольных, они представлены многочисленными сортами отечественной и зарубежной селекции. Однако увеличение популярности использования данных культур в ландшафтном дизайне и озеленении во многом определяется успехами селекционной работы, направленной на создание сортов, адаптированных к почвенно-климатическим условиям Южного берега Крыма и других южных районов России (Шолохова, 2004; Улановская, 2012). Работа в данном направлении является одной из приоритетных задач селекции декоративных культур Никитского ботанического сада (г. Ялта). В традиционной практике селекционной работы получение полноценных семян является одним из наиболее важных этапов, дающих представление об успешности проведения гибридизации. При этом в ходе генезиса семени обходимо учитывать периоды структурно-функциональной перестройки в развитии зародыша и тканей, окружающих его, что согласно современной терминологии в цитозембриологии растений, характеризуется как критические стадии (Шамров, 1997), и позволяет выявить периоды наибольшей вероятности абортирования плодов и семян.

Для идентификации критических стадий развития семян покрытосеменных растений используют сравнительное комплексное изучение динамики их роста и дифференциации структур, а также проводят гистохимические исследования, выявляющие изменения накопления белков, нуклеиновых кислот и углеводов в зародыше и тканях, окружающих его (Batygina, Vasilyeva, 2003; Ihle, Dure, 1972; Erdelská, 1981; Батыгина, Колесова, Васильева, 1983; Шамров, Никитичева, 1992; Шамров, Анисимова, 1993; Шамров, 1997; и др.).

На основании данных структурного и морфометрического анализа развития семян канны садовой (*Canna x hybrida hort.*) сорта Дар Востока нами установлено, что периоды максимальной интенсивности роста зародыша приходятся на 2, 4, 8, 10, 14 сутки после опыления, а снижение интенсивности ростовых процессов наблюдается на 3, 6-7, 9, 11-13, 15-16 сутки. Сопоставление динамики роста и периодизации развития зародыша показало, что изменение интенсивности его роста соответствуют стадиям проэмбрио (первые деления), глобулярного зародыша и начальным этапам его органогенеза.

Пики максимальной интенсивности роста зародыша лилейника гибридного (*Nemerocallis x hybrida hort.*) сорта Cherry Eyed Pumpkin отмечаются на 1, 7, 11, 23, 27 сутки после опыления. Снижение интенсивности роста зародыша приходится на 5, 9, с 13-21 и 25 сутки после опыления, что совпадает с периодами его структурной перестройки, в частности, первых делений зиготы и проэмбрио, формирования эмбриодермы, а также стадий органогенеза и, соответственно, поэтапно повышению уровня его организации.

При этом установлено, что у исследуемых культур в первые две декады после опыления, т.е. на начальных стадиях формирования зародыша, отмечается синхронность интенсивности роста семени и зародыша, что позволяет рассматривать морфометрические параметры семени, как косвенные признаки начальных стадии развития зародыша для определения периодов наибольшей вероятности абортирования плодов и семян.

CRITICAL STAGES IN SEED DEVELOPMENT OF GARDEN CANNA AND HYBRID DAYLILIES

T.N. Kuzmina

*Nikita Botanical Gardens – National Scientific Centre
of the Russian Academy of Sciences, Yalta
e-mail: tnkuzmina@rambler.ru*

Garden canna (family Cannaceae) and hybrid daylilies (family Hemerocallidaceae) are highly decorative cultures from the Monocotyledonous and are represented by numerous cultivars of domestic and foreign selection. However, an increase in popularity of these cultures used in landscaping and planting is predetermined in many ways by the results of selection work designed to create the sorts adaptable to the soil and climatic conditions of the South Coast of the Crimean and other southern regions of Russia (Sholokhova, 2004; Ulanovskaya, 2012). The work in this area is one of the priorities in selection of decorative cultures of Nikita Botanical Garden (Yalta). In the traditional practice of selection, obtaining of plump seeds is one of the most crucial stages as it provides an indication to the success of hybridization process. Herewith, in the course of the seed genesis it is important to take into account the period of structural and functional adjustment in the development of embryo and tissues surrounding it as according to the modern terminology of plant cytoembryology it is characterized as the critical stages (Shamrov, 1997), and allows to identify the periods of the greatest probability of abortion of fruits and seeds.

To identify the critical stages of flowering plants seed development, a comparative complex study of their growth dynamics and structure differentiation is used, as well as histochemical researches allowing to find changes in accumulation of protein, nucleic acids and carbohydrates in the embryo and tissues surrounding it (Batygina, Vasilyeva, 2003; Ihle, Dure, 1972; Erdelská, 1981; Batygina, Kolesova, Vasilieva, 1983; Shamrov, Nikiticheva, 1992; Shamrov, Anisimova, 1993; Shamrov, 1997; etc.).

Based on the data of structural and morphometric analysis of development canna seeds (*Canna x hybrida* hort.) cv. 'Dar Vostoka', we have determined that the periods of peak intensity of the embryo growth are seen on 2, 4, 8, 10, 14 day after pollination, and decrease of growth intensity is seen on 3, 6-7, 9, 11-13, 15-16 days. Comparison of the growth dynamics and periodization of the embryo development showed that the change in the intensity of its growth corresponds to the stages of proembryo (the first divisions), formation of globular embryo and initial stages of organogenesis.

The peaks of maximum growth intensity of the embryo of daylily (*Hemerocallis x hybrida* hort.) cv. 'Cherry Eyed Pumpkin' are seen on 1, 7, 11, 23, 27 days after pollination. Decrease of embryo growth intensity is seen on 5, 9, from 13 to 21 and 25 day after pollination that complies with the periods of its structural change, in particular, the first divisions of zygote and proembryo, formation of embryoderme, as well as the stages of organogenesis, and, respectively, gradual increase of its organization level.

It is determined that the cultures under study within the first two decades after pollination, i.e. at the initial stages of embryo formation, show synchronous growth of the seed and the embryo that allows to consider the morphometric parameters of the seed as indirect characteristics of initial stages of embryo development for determination of the periods of the greatest possibility of abortion of fruits and seeds.

**АНАЛИЗ МУТАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ *LONICERA CAERULEA*
(*CAPRIFOLIACEAE*) В ЛОКАЛЬНОЙ СЕЙСМОТЕКТОНИЧЕСКИ АКТИВНОЙ
ЗОНЕ**

А.И. Куликова¹, М.В. Скапцов²

¹ ЦСБС СО РАН, Новосибирск

² Алтайский государственный университет, Барнаул

kulikovaai@ngs.ru

В результате сравнительной оценки изменчивости признаков репродуктивной сферы *Lonicera caerulea* s. l. в различных районах Горного Алтая была выделена популяция в окрестности пос. Верхний Уймон (Усть-Коксинский р-он), где наблюдалось значительное увеличение полиморфизма морфологических признаков цветков, и аномалии в их строении. На основании результатов геомагнитной, радиационной, радоновой, геолого-геохимической и почвенно-геохимической съемок на этом участке в сходных геоботанических условиях были выбраны площадки, различающиеся по геофизическим и геохимическим характеристикам. Площадка «А2+» находилась в зоне положительной магнитной аномалии, «А2-» – в зоне отрицательной магнитной аномалии, площадки «Запад» и «Восток», по данным геоморфологии, находились в зоне разлома. «Основание хребтика» – зона пересечения разломов, характеризующаяся высоким содержанием подпочвенного радона (до 3200 Бк/м³). Контрольный участок характеризовался фоновыми показателями магнитного и радиационного полей и отсутствием геохимических аномалий.

В этих популяциях было проведено изучение количества ДНК методом проточной цитометрии. Наибольшая изменчивость размера генома отмечена в микропопуляции «основание хребтика» (CV=7,6%), в остальных микропопуляциях коэффициент вариации не превышал 5%. По полученным данным также был проведен анализ АМОВА, который показал, что микропопуляции достоверно различаются между собой по размеру генома.

Полученные результаты согласуются с представленными ранее данными по фертильности пыльцы, семенной продуктивности, всхожести и энергии прорастания семян, а также с цитогенетическими показателями. На основании полученных результатов можно сделать вывод об усилении мутационной активности в отдельных популяциях, приводящей к увеличению полиморфизма признаков репродуктивной сферы.

Исследование частично поддержано грантом РФФИ проект № 16-34-00199\16.

**ANALYSIS OF MUTATION ACTIVITY OF *LONICERA CAERULEA*
(*CAPRIFOLIACEAE*) IN LOCAL SEISMOTECTONIC ACTIVE ZONE.**

A.I. Kulikova¹, M.V. Skaptsov²

¹ *Central Siberian Botanical Garden SB RAS, Novosibirsk*

² *Altai State University, Barnaul*

kulikovaai@ngs.ru

As a result of the comparative evaluation of variability of *Lonicera caerulea* s. l. reproductive system features in various regions of the Altai Mountains population was allocated in the neighborhood of the Upper Uimon village (Ust-Koksinsky District), where there was a significant increase in the polymorphism of morphological characters of flowers, and anomalies in their structure. Based on the results of geomagnetic and radiation, radon, geological, geochemical and soil geochemical surveys in this sites in similar geobotanical conditions the platforms were selected, differing by geophysical and geochemical characteristics. The site «A2+» is in the area of positive magnetic anomaly, «A2-» – in the area of negative magnetic anomaly, sites «West» and «East», according to the geomorphology, were in the fault zone. «The base of the ridge» – the intersection of the fault zone, characterized by a high content of subsoil radon (up to 3200 Bq/m³). A control site was characterized by normal values of the magnetic field and radiation and lack of geochemical anomalies.

In these populations the study of quantities of DNA by flow cytometry was conducted. The highest variability observed in the genome of micropopulation «The base of the ridge» (CV = 7,6%), in other micropopulations coefficient of variation does not exceed 5%. AMOVA analysis was also held, which showed that micropopulations significantly differ in genome size.

These results agree with previous data represented on pollen fertility, seed production, germinating capacity and energy of seed germination, and also with cytogenetic characteristics. Based on these results, we can conclude on enhancing of mutational activity in certain populations leading to increase polymorphism of reproductive system characters.

The study was partially supported by grant RFBR, project № 16-34-00199\16.

**ТРЕХМЕРНАЯ КАРТА ПРОЛИФЕРАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ В
КОНЧИКЕ КОРНЯ *ARABIDOPSIS THALIANA*: РАДИАЛЬНАЯ,
БИЛАТЕРАЛЬНАЯ И ПРОДОЛЬНАЯ СИММЕТРИИ.**

В.В. Лавреха^{1,2}, Т. Пастернак³, В.В. Миронова^{1,2}

¹*Институт Цитологии и Генетики СО РАН, Новосибирск*

²*Новосибирский национальный исследовательский государственный
университет, Новосибирск*

³*Институт биологии III/ молекулярной физиологии растений, Фрайбург, Германия
e-mail: vvl@bionet.nsc.ru*

Структурная организация корня растения позволяет отслеживать траектории развития инициалей через их дочерние клетки до полностью дифференцированных клеточных типов. Длина корня отражает и скорость клеточной пролиферации, и скорость удлинения клеток. Деления клеток происходит в апикальной меристеме корня (АМК), которая представляет собой динамическую систему. Баланс между митотической активностью и клеточной спецификацией определяет длину меристемы. В настоящее время структура меристемы (длина пролиферационного домена, переход к удлинению, расположение отдельных рядов клеток) в основном изучается на основе двумерных изображений, и этот подход имеет недостатки при исследовании билатеральной симметрии. Недавно была разработана программа iRoCS (Schmidt, 2014) для аннотирования трехмерной организации кончика корня. Вместе с переработанной процедурой эксперимента по детектированию событий прохождения клеточного цикла (Pasternak, 2015) эта программа предоставляет большой потенциал в изучении механизмов регуляции клеточного цикла во всем органе. В своей работе, используя эти техники, мы проанализировали распределения ключевых процессов клеточного цикла - репликаций ДНК и митозов, в кончике корня *A. thaliana*. В эксперименте стерилизованные семена выращивались в чашках Петри на АМ среде при температуре 22°C и световом дне 16/8. Пятидневные проростки обрабатывались 200 µg/l DAPI или 10 µM EdU и колхицином в течении 90 минут. Затем кончики корней снимали на конфокальном сканирующем лазерном микроскопе (LSM 510 Duo Live). Для **аннотации** конфокальных изображений кончиков корней *A. thaliana* с окраской EdU и DAPI мы использовали программу iRoCS, которая позволила нам по-новому взглянуть на зонирование корня. Показано, что пролиферационная активность отличается в различных тканях корня и рядах клеток. Эти различия связаны с радиальной, билатеральной и продольной типами симметрии в кончике корня. Мы создали трехмерную карту пролиферационной активности в кончиках корней *A. thaliana*, которая показывает радиальную, билатеральную и продольную асимметрии в распределении митозов. Работа поддержана Бюджетным проектом № 0324-2015-0003 и РФФИ (проект № 14-14-00734).

3D MAP OF PROLIFERATION ACTIVITY IN *ARABIDOPSIS THALIANA* ROOT TIPS: RADIAL, BILATERAL AND LONGITUDINAL SYMMETRIES

V.V. Lavrekha^{1,2}, T. Pasternak³, V.V. Mironova^{1,2}

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

² LCTEB, Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

³ Institute of Biology II/Molecular Plant Physiology, Centre for BioSystems Analysis, BIOSS Centre for Biological Signalling Studies University of Freiburg, Freiburg, Germany
e-mail: vvl@bionet.nsc.ru

The plant root arrangement allows tracing developmental trajectories from initials through their daughters till fully differentiated cell types. Total root length reflects both cell proliferation and cell elongation rates. Cells proliferation occurs in the root apical meristem (RAM). The RAM is a dynamical system which length is balanced by the mitotic activity of its cells and their specification. Up to date the RAM structure (length of the proliferation domain, transition to elongation, arrangement of specific cell lineages) was mainly analyzing on 2D images, and this approach has some weaknesses considering bilateral symmetry of the root. Recently, iRoCS toolbox was developed (Schmidt, 2014) for annotation of the root tip organization in three dimensions. Together with the refined experimental procedure for detection of cell cycle progression events (Pasternak, 2015) it gives a great potential to study the cell cycle regulation mechanism in an entire organ. Here, using these techniques, we analysed the distributions of the key cell cycle events – DNA replication and mitosis in the root tips of *Arabidopsis thaliana*. In experiment seeds were sterilized and grown on AM medium in plates with 22°C temperature under 16/8 light cycle conditions. 5-th day old seeds were incubated in 200 µg/l DAPI/10 µM EdU and 1 mg/ml colchicine for 90 minutes. Then, the root tips were investigated using a confocal laser scanning microscope (LSM 510 Duo Live). Annotation of the confocal images with EdU and DAPI labelling using iRoCS toolbox allowed us to give a new insight on the *Arabidopsis thaliana* root tip zonation. Namely, we quantitatively showed that the proliferation activity differs for distinct cell types and files. The differences were associated with bilateral, radial and longitudinal symmetries of the root tips. We created 3D map of proliferation activity in *Arabidopsis thaliana* roots tips, which shows radial, bilateral and longitudinal asymmetries of mitosis distribution. This research was supported in by the Budget project № 0324-2015-0003 and RSF 14-14-00734.

РЕДОКС-РЕГУЛЯЦИЯ ПРОГАМНОЙ ФАЗЫ ОПЛОДОТВОРЕНИЯ

Н.М. Максимов

Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, Москва,
Россия,

e-mail: nmmaksimow@gmail.com

Активные формы кислорода (АФК) являются высокореакционными, метастабильными агентами, обладающими избыточной энергией по отношению к молекулярному триплетному кислороду ($^3\text{O}_2$). Пероксид водорода (H_2O_2) является наиболее долгоживущей АФК, способной диффундировать в цитоплазме и проникать через биологические мембраны (Apel, Hirt, 2004). Убедительно показано участие H_2O_2 в широком спектре физиологических процессов (Niu and Liao, 2016), в том числе H_2O_2 играет важную роль в прогамной фазе оплодотворения у семенных растений. Продемонстрировано накопление АФК (главным образом H_2O_2) в рыльце при подготовке к опылению у разных видов, что вероятно способствует активации пыльцевых зерен на поверхности рыльца (McInnis et al., 2006). Показано участие эндогенных АФК в регуляции роста пыльцевой трубки *in vitro* (Potocky et al., 2007). Однако, конкретные физиологические механизмы АФК-регуляции в мужском гаметофите до сих пор во многом остаются не выявленными.

В своей работе мы исследовали физиологические эффекты H_2O_2 , уделяя особое внимание ионному статусу прорастающего пыльцевого зерна и растущей пыльцевой трубки. Опыты проводили в системе *in vitro*, в качестве упрощенной модели использовали протопласты из пыльцевых зёрен и пыльцевых трубок (Breygina et al., 2016; Maksimov et al., 2016). Двумя независимыми методами показано, что ключевым модулем регуляции является H_2O_2 -индуцированная активация Ca^{2+} -проводящих каналов. Также был обнаружен H_2O_2 -индуцированный выходящий ток K^+ , который может играть важную роль в активации пыльцевого зерна. Кроме того, было изучено влияние H_2O_2 на интегральный показатель ионного статуса: мембранный потенциал плазмалеммы (E_m). Была показана гиперполяризация плазмалеммы протопластов из пыльцевых трубок, в то время как мембранный потенциал протопластов, полученных из пыльцевых зёрен не изменялся при действии H_2O_2 . Полученные данные дополняют и расширяют представления о редокс-регуляции прорастания пыльцевого зерна и роста пыльцевой трубки.

REDOX-REGULATION OF PROGAMIC PHASE OF FERTILIZATION

N.M. Maksimov

Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russian Federation, Moscow, e-mail: nmmaksimow@gmail.com

Reactive oxygen species (ROS) are a group of metastable chemicals with excessive free energy compared to triplet oxygen ($^3\text{O}_2$). Hydrogen peroxide (H_2O_2) is one of the most stable and long living ROS; it can diffuse in the cytoplasm of the cell and pass through biological membranes (Apel and Hirt, 2004). H_2O_2 participates in many physiological processes (Niu and Liao, 2016), including progamic phase of fertilization in seed plants. ROS (mostly H_2O_2) accumulate in receptive stigma before pollination in many species; these ROS could stimulate pollen grain activation and/or pollen tube growth (McInnis et al., 2006). The regulation of pollen tube growth *in vitro* by endogenic ROS, produced by plasma membrane NADPH oxidase (Potocky et al., 2007), has been reported as well. Nevertheless exact physiological effects and mechanisms of ROS-regulation in male gametophyte remain unclear.

We have investigated physiological effects of ROS in male gametophyte, with especial attention to ion dynamic on the plasma membrane. We have used protoplasts from pollen grains and pollen tubes as an experimental *in vitro* model to study ion dynamic (Breygina et al., 2016; Maksimov et al., 2016). Two independent approaches shows that crucial regulatory hub is H_2O_2 -induced activation of Ca^{2+} -permeable channels. Also we have indentified H_2O_2 -induced outward K^+ -current, which could play a role during the activation of pollen grain. We have investigated changes of membrane potential (E_m) induced by H_2O_2 . It was shown hyperpolarization of plasma membrane protoplasts from pollen tubes, while the E_m of protoplasts derived from pollen grains was stable during H_2O_2 application. This data expands our knowledge on ROS function and their physiological effects in male gametophyte.

ОЦЕНКА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ПЫЛЬЦЫ РАСТЕНИЙ РОДА *CERASUS* В УСЛОВИЯХ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ МЕТАБОЛИТОВ

БАКТЕРИИ *PSEUDOMONAS*

М.В. Маслова¹, М.Л. Дубровский²

¹ФГБОУ ВО Мичуринский государственный аграрный университет

²ФГБНУ ВНИИГи СПР им. В.И. Мичурина

Россия, г. Мичуринск

e-mail: marinamaslova2009@mail.ru

Бактериальные болезни плодовых растений наносят значительный ущерб, приводя к снижению продуктивности садов, потере урожайности, гибели многолетних насаждений.

В благоприятных условиях бактерии начинают быстро размножаться в межклеточных пространствах и в сосудах растения-хозяина, выделяя токсические метаболиты, способные привести к гибели клетки.

В сложившихся условиях возникла необходимость изучения характера воздействия метаболитов эндофитной бактерии, выделившейся при тестировании побегов вишни, на ткани растения-хозяина в различных концентрациях, что позволит отобрать генотипы устойчивые к действию токсинов бактерии для селекционной работы и закладки садов.

В работе использованы стандартные методы изоляции эндофитных микроорганизмов, культивирования их на искусственных питательных средах (Дудка, 1982; Бётхер, 1987). Оценка влияния эндофитной бактерии рода *Pseudomonas* на растение-хозяина проводилась с использованием в качестве селекционирующего агента её культурального фильтрата, который был получен в результате культивирования патогена на жидкой картофельной среде в течение месяца с последующим автоклавированием. Раствор метаболитов добавляли в субстрат для инкубирования листьев и пыльцы. В качестве опытных были взяты варианты с концентрацией фильтрата культуральной жидкости 2,5%, 5,0%, 10,0%. Контролем служил вариант с использованием субстрата, не содержащего токсин. Оценка поражения листьев проводили по их фотосинтетической активности с помощью хлорофиллфлуориметра РАМ – Junior (Германия, Heinz Waiz GmbH). Жизнеспособность пыльцы определяли путем ее прорастивания на искусственной питательной среде при $t=+25^{\circ}\text{C}$ в термостате. Препараты готовили согласно общепринятым методикам (Топильская, 1975; Паушева, 1980).

С целью выявления дифференцирующей концентрации токсических метаболитов в качестве модельных использовали сорта вишни *Романтика*, *Фея*, *Превосходная Веньяминова*. Для выделения генотипов устойчивых к бактериозу в исследования дополнительно были взяты сорта *Жуковская*, *Тургеневская*, *Харитоновская*, *Ровесница*. В ходе оценки реакции мужского гаметофита модельных сортов вишни на интоксикацию выявлено, что наибольшие различия между ними по жизнеспособности пыльцы отмечаются в варианте с 2,5%-ным содержанием бактериального токсина в среде: на 19,9% – 79,6% от среднего значения (в контроле на 4,5% – 10,2%). При этом по сортам установлена корреляция показателей жизнеспособности пыльцы и фотосинтетической активности листьев в условиях интоксикации ($r=0,91$).

При использовании дифференцирующей концентрации токсического метаболита в среде (2,5%) отмечено, что высокой степенью устойчивости к бактериозам характеризуются сорта *Романтика*, *Тургеневка*, *Ровесница*, *Фея*, у которых процент проросших пыльцевых зерен колебался от 138,2% до 72,9% от контроля. Данные сорта рекомендуется использовать для дальнейшей селекционной работы, а также для закладки садов. Мужской гаметофит сортов *Жуковская*, *Превосходная Веньяминова*, *Харитоновская* оказался менее устойчивым к действию токсинов бактерии, о чем свидетельствует низкий уровень жизнеспособности пыльцы в опыте (32,1% – 49,7% от контроля).

Выявление реакции сортов вишни на действие метаболитов бактерии рода *Pseudomonas* позволяет на гаплоидном уровне производить отбор ценных генотипов по признаку устойчивости к патогену для селекции и производства.

ASSESS OF THE VIABILITY OF POLLEN IN CERASUS GENUS IN THE TOXIC METABOLITES OF BACTERIA PSEUDOMONAS

M.V.Maslova¹, M.L.Dubrowski²

¹Federal state budgetary educational institution of higher education
Michurinsk State Agrarian University,

²I.V. Michurin State Research Institution All Russian Research Institute for Genetics
and Breeding of Fruit Plants affiliated to Russian Academy of Agricultural Sciences,
Russia, Michurinsk

e-mail: marinamaslova2009@mail.ru

Bacterial diseases of fruit plants cause significant damage, leading to reduce productivity of gardens, yield losses, destruction of perennial plants.

In the current circumstances, there is a necessity to study the impact of metabolites of endophytic bacteria, released during the test shoots of cherry, on the tissues of the host plant in various concentrations.

Evaluation of the effect of the toxins of the bacteria on the plant host was performed using culture filtrate of endophytic bacteria from the genus *Pseudomonas* as a selective agent. A solution of metabolites was added to the substrate for incubation of leaves and pollen. Options with the concentration of the filtrate culture liquid of 2,5%, 5,0%, 10,0% was taken as a handling pilot. The substrate containing no toxin was used as a control. Assessment of leaf lesions was carried out according to their photosynthetic activity using PAM chlorotrifluoromethane – Junior (Germany, Heinz Waiz GmbH). The viability of pollen was determined by germination on artificial medium at $t=+25^{\circ}\text{C}$ in the thermostat.

The toxin of bacteria of the genus *Pseudomonas* can cause different reactions, depending on its concentration in the medium. 2,5% (???) For the selection of genotypes resistant to bacteriosis, the percentage of germinated pollen grains under conditions of intoxication was considered. To identify differentiating concentrations of toxic metabolites the varieties of cherry *Romance*, *Feya*, *Prevoskhodnaya Veniaminova* were used as a model. For the selection of genotypes resistant to bacteriosis in the study were additionally taken varieties *Zhukovskaya*, *Turgenevskaya*, *Kharitonovskaya*, *Rovesnitsa*. The evaluation of the reaction of the male gametophyte of the model cherry cultivars to toxicity revealed that the greatest differences in viability of pollen are observed in the variant with a 2,5% content of a bacterial toxin in the environment: 19,9% – 79,6% from the average value (in the control to 4,5% to 10,2%). Wherein the correlation of indicators of the pollen viability and photosynthetic activity of leaves in conditions of intoxication ($r=0,91$) on varieties was established.

When using differentiating concentration of the toxic metabolite in the medium (2,5%) it was noted that a high degree of resistance to bacterial diseases are characterized to the varieties of *Romance*, *Turgenevka*, *Rovesnitsa*, *Feya*, where the percentage of germinated pollen grains varied from 138,2% to 72.9% of the control. These varieties are recommended for further breeding work, as well as for orchards. Male gametophyte of the varieties *Zhukovskaya*, *Prevoskhodnaya Veniaminova*, *Kharitonovskaya* proved to be less resistant to the action of toxins of bacteria, as evidenced by the low level of viability of the pollen (32,1% – 49,7%).

The studies have shown that the reaction of cherry cultivars to metabolites of bacteria of the genus *Pseudomonas* allows to make the selection of valuable genotypes for haploid level on the basis of resistance to pathogens for breeding and production.

СИСТЕМНАЯ БИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

С.С. Медведев

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург
e-mail: s.medvedev@spbu.ru

Системная биология — междисциплинарное научное направление, образовавшееся на стыке биологии и теории сложных систем. С точки зрения системной биологии любой биологический объект рассматривается как *система*, т.е. целостный комплекс взаимосвязанных и взаимодействующих *элементов*. Системная биология ориентирована на изучение сложных взаимодействий в живых системах и использует целостный (*holistic*) подход для анализа биологических процессов на всех уровнях организации живой природы.

Основной методологический подход системной биологии заключается в восприятии объекта исследования как целого и понимание механизмов, обеспечивающих целостность организма. Системный подход является не столько методом решения задач, сколько *методом постановки задач*, поскольку как иногда говорят «правильно заданный вопрос — половина ответа». Это качественно более высокий, нежели просто предметный, способ познания.

В системной биологии основное внимание уделяется так называемым эмерджентным свойствам биологических объектов (систем), то есть свойствам, которые невозможно объяснить с точки зрения свойств только их компонентов (элементов). *Эмерджентность* (от англ. *emergent* - возникающий, неожиданно появляющийся) - это наличие у какой-либо системы особых свойств, не присущих её элементам или несводимость свойств системы к сумме свойств её компонентов. Синоним «эмерджентности» - «системный эффект». Эмерджентные свойства и поведение системы невозможно предсказать, если ограничиваться только простым рассмотрением отдельных элементов, составляющих эту систему.

Системная биология выявляет эмерджентные свойства клеток, тканей и организмов путем моделирования (математического, компьютерного) и построения генетических, метаболических и сигнальных сетей. Для построения таких сетей наиболее важную роль играют так называемые «омиковые технологии» - *геномика, транскриптомика, протеомика, метаболомика, иономика* и т.д.

Из-за сложности биологических объектов, большого количества параметров и переменных их описывающих, системная биология немыслима без использования компьютерных технологий. Для этой цели служит – *биоинформатика*, которая «извлекает» новые знания путем компьютерного анализа биологических данных и способствует системному пониманию биологических процессов. «Биоинформатика – это способ заниматься биологией, не наблюдая живые существа, как зоологи, не делая опытов в пробирке, как экспериментальные биологи, а анализируя результаты массивов данных или целых проектов» (М. Гельфанд, 2009).

Системная биология изучает сложные биологические системы с учетом их многокомпонентности, наличия прямых и обратных связей, а также разнородности экспериментальных данных. Используя компьютерные и омикомые технологии, системная биология, изучает всё о взаимосвязях на всех уровнях организации живой материи.

В докладе приводятся конкретные примеры применения системного подхода для анализа процессов роста и развития растений.

PLANT SYSTEMS BIOLOGY

S.S. Medvedev

Saint Petersburg State University, Saint-Petersburg

e-mail: s.medvedev@spbu.ru

Systems biology is an interdisciplinary research area, formed on the crossroad between the biology and the theory of complex systems. From the viewpoint of systems biology, any object considered as a *system*, i.e. complex of interrelated and interacting *elements*. Systems biology is focused on the study of complex interactions in living systems, and uses the holistic approach to the analysis of biological processes at all levels of life organization.

The main methodological approach of systems biology - is the perception of the study object as a whole and the understanding of the mechanisms that ensure integrity of the organism at different levels of its organization. A systemic approach - it is way of not only to solve a problem, but also the method of goal setting, because, as some say, "correctly asked question - half of the answer." This is qualitatively higher than just a substantive way of knowing.

Systems biology focuses on the so-called emergent properties of biological objects, that is, only those properties that cannot be explained as product of the properties of their components (elements). *Emergence* - it is the presence of the system special properties not inherent for its elements, or properties of the system that cannot be reduced to the sum of the properties of its components. Synonym "emergence" - "systemic effect". Emergent properties and behavior of the system is impossible to predict if limited only to a simple consideration of the individual elements constituting the system.

Systems biology reveals the emergent properties of cells, tissues and organisms by means of mathematical and computer modeling as well as the construction of genetic, metabolic and signaling networks. In the construction of these networks the most important role belongs to so-called "omics", such as *genomics*, *transcriptomics*, *proteomics*, *metabolomics*, etc. Systems biology study *everything about interrelationships at all levels of life* organization by means of omics approaches and computer modeling.

Due to the complexity of biological objects, a large numbers of parameters and variables describing them, systems biology is unthinkable without the use of computer technologies. For this purpose serves *bioinformatics*, which "extracts" the new knowledge by using the computer analysis of biological data, and promotes systemic understanding of biological processes. Bioinformatics - a way to engage in biology, not watching the living entities as zoologists, not doing experiments *in vitro*, as experimental biologists, but analyzing the results of datasets or entire projects (Gelfand, 2009). Systems biology study the complex biological systems in accordance with their multicomponent properties, direct and feedback connections, as well as the heterogeneity of the experimental data, precisely because of bioinformatics opportunities.

Report provides the specific examples for application of system approach to analyze the processes of growth and development of plants.

ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ БИОЛОГИИ И ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ В ПЕРМИ

Л.В. Новоселова¹, В.А. Верещагина¹, Н.Л. Колясникова²

¹Пермский государственный национальный исследовательский университет,

²Пермская государственная сельскохозяйственная академия имени академика Д.Н.

Прянишникова, Пермь

e-mail:novoselova@psu.ru

¹Perm state national research university, Perm

²Perm state agricultural academy named after academician D. N. Pryanishnikov, Perm

Изучение генетических ресурсов – многоэтапный процесс, в котором особое место занимает исследование репродуктивной биологии. В Пермском университете профессором В.А. Верещагиной были начаты исследования по теме «Репродуктивная биология растений из разных хозяйственно значимых групп в целях охраны генофонда, интродукции и селекции». С 1981 г. была изучена репродуктивная биология декоративных дикорастущих растений, перспективных для интродукции и селекции, из семейств *Liliaceae*, *Ranunculaceae*, *Orchidaceae*, *Poaceae* и некоторых культиваров из *Rosaceae* и *Compositae*. В соответствии с этой темой проведено детальное изучение репродуктивной биологии 38 видов рода Люцерна (*Medicago* L., *Fabaceae*). На его основе описана система семенного размножения однолетних и многолетних видов, включающая морфологические приспособления в цветке к определенному типу и способу опыления, функциональные аспекты биологии цветка и их связь с внутренними генетическими механизмами, такими, как число хромосом, несовместимость, стерильность. В ходе исследований подтвердилась идея о высокой степени корреляции между типом жизненного цикла и системой размножения цветковых. Многолетние виды *Medicago* в высокой степени автостерильны и аутбредны, однолетние виды автофертильны и инбредны. У самоопыляющихся однолетних видов люцерны, как и у многолетних, наблюдается автотриппинг цветков, в то время как системы самонесовместимости, обычные для многолетних видов, отсутствуют. При этом цветки однолетних видов люцерны сохраняют все признаки энтомофильной организации – они раскрываются, имеют некоторое количество нектара; их иногда посещают насекомые. Это означает, что однолетние виды рода *Medicago* сохраняют лишь внешние атрибуты ксеногамии, которые совершенно не активны. Результаты этих исследований несомненно важны для использования в селекционных программах.

В 2007 г. в Пермском государственном университете организована лаборатория цитогенетики и генетических ресурсов растений, заведующая лабораторией профессор Л.В. Новоселова. Под ее руководством изучены эмбриологические особенности строения и развития семязачатков и зародышевых мешков некоторых видов рода *Iris* L. подрода *Limniris* (Tausch) Sprach.), репродуктивная биология некоторых видов и культиваров рода Сирень (*Syringa* L.). Материалы эмбриологических исследований пополняют характеристику семейств *Iridaceae*, *Oleaceae* и важны как для селекции, так и для систематики. Полученные результаты востребованы в селекционной работе для создания культиваров, характеризующихся новыми декоративными качествами в сочетании с разными сроками и продолжительностью цветения.

С 2011г. в Пермской государственной сельскохозяйственной академии имени академика Д.Н. Прянишникова под руководством профессора Н.Л. Колясниковой реализуется программа «Генетические ресурсы и репродуктивная биология растений Пермского края». В рамках этой программы исследуется репродуктивная биология ряда важнейших кормовых культур из семейства *Fabaceae*, и их дикорастущих родичей, перспективных для селекции. Изучены особенности цветения и опыления некоторых видов рода *Trifolium*, *Galega*. Выявлены особенности эмбриологии и нарушения в развитии репродуктивных органов и их характер. Установлен комплекс причин, приводящих к низкой реальной семенной продуктивности. Показана на цифровом материале динамика снижения потенциальной семенной продуктивности, указаны критические периоды процесса репродукции. Изучение репродуктивной биологии растений открывает перспективу использования исследованных видов в качестве исходного селекционного материала.

HISTORY OF STUDY OF REPRODUCTIVE BIOLOGY AND PLANT GENETIC RESOURCES IN PERM

L.V. Novoselova¹, V.A. Vereschagina¹, N.L. Kolyasnikova²

¹Perm state national research university,

²Perm state agricultural academy named after academician D. N. Pryanishnikov, Perm
e-mail: novoselova@psu.ru

Studying of genetic resources is a multiple-stage process in which researching of reproductive biology has a special place. Professor of the Perm State University V.A. Vereschagina has initiated researches on reproductive biology of plants from different economically important groups for the purpose of protecting the gene pool, plant introduction and plant breeding. Reproductive biology of ornamental wild plants of the *Liliaceae*, *Ranunculaceae*, *Orchidaceae*, *Poaceae* families and some cultivars of *Rosaceae* and *Compositae* which are promising for the introduction and selection, has been studied. This research began in 1981. In keeping with this topic, a detailed research of the reproductive biology of species of Alfalfa genus (*Medicago L.*, *Fabaceae*) affecting 38 species has been conducted. On this basis, a system of seed reproduction of annual and perennial species was described, including description of morphological adaptations in the flower to a specific type and method of pollination, the functional aspects of the biology of the flower and their connection with the internal genetic mechanisms, such as the number of chromosomes, incompatibility, sterility. The researches confirmed the idea of a high degree of correlation between the type of life cycle and reproduction system of flowering plants. Perennial species *Medicago* are highly self-sterile and outbred, annual species are self-fertile and inbred. In self-pollinating annual species of alfalfa, as well as perennial flowers, self-tripping is observed, while the self-incompatibility system common to perennial species is absent. At the same time flowers of annual species of alfalfa keep all the features of the entomophilous organization - they can be opened, they have a certain amount of nectar and insects sit on them from time to time. This means that the annual species of *Medicago* keep only external attributes of xenogamy and they are completely inactive. The results of these studies are undoubtedly important for the use in breeding programs.

In 2007, the laboratory of cytogenetics and plant genetic resources was organized at the Perm State University; the laboratory is headed by Professor L.V. Novoselova. Under her direction, embryological features of the structure and development of ovules and embryo sacs of some species of the genus *Iris L.*, subgenus *Limniris (Tausch) Spach.* and reproductive biology of some species and cultivars of the genus Lilac (*Syringa L.*) were studied. Materials of embryological researches make the characteristic of *Iridaceae*, *Oleaceae* families more complete and it is important both for breeding and for taxonomy. The results are particularly important for breeding work to create cultivars, which are characterized by new decorative qualities, combined with different terms and duration of flowering.

Since 2011 at the Perm state agricultural academy named after academician D. N. Pryanishnikov the program called "Genetic resources and reproductive biology of plants of Perm region" is realized under the direction of Professor N.L. Kolyasnikova. This program studies the reproductive biology of a number of the most important forage crops of the *Fabaceae* family, and their wild relatives, which are promising for breeding. The features of flowering and pollination of some species of the genera *Trifolium*, *Galega* are studied. The features of embryology and developmental disorders of the reproductive organs and their character are defined. The complex of reasons of low real seed productivity is found out. Dynamics of reducing the potential seed production is shown on the digital material, and also the critical periods of the reproduction process are given. The study of the reproductive biology of plants opens a prospect of using the studied species as an initial breeding material.

МОДУЛЬНЫЕ ОРГАНИЗМЫ КАК ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ БИОЛОГИИ

А.А. Нотов

Тверской государственной университет, Тверь

e-mail: anotov@mail.ru

Модульная организация является удобным модельным объектом в исследованиях, связанных с различными аспектами биологии развития (Нотов, 2010; Notov, 2011; Батыгина, 2014). Специфика модульных живых существ как объектов репродуктивной биологии обусловлена фундаментальными принципами их организации, которые взаимосвязаны с другими особенностями (Notov, 2015a, b). В совокупности они обеспечивают возможность вегетативного и бесполого размножения, органическое единство эмбриогенеза, морфогенеза, ростовых, репродуктивных и регенерационных процессов. В отличие от унитарных организмов, эмбриогенез модульных организмов слабо обособлен от постэмбрионального развития. Эмбриогенез «продолжают» новые морфогенетические циклы, а формирование модульного организма происходит в течение всей его жизни (Notov, 2005; Гапцук, 2008).

Благодаря циклическому морфогенезу и широкому распространению вегетативного размножения репродуктивные системы модульных организмов функционируют менее автономно. Процессы органогенеза нередко сопряжены у них с размножением. Формирующиеся в результате органогенеза части тела могут обеспечивать репродукцию и давать начало новым индивидуумам. Наряду с этим некоторые специализированные структуры, способствующие вегетативному размножению, могут сохранять связь с материнским организмом достаточно продолжительное время и выполнять «соматические» функции, например трофическую (корневые отпрыски, выводковые почки у растений).

Реализация практически всех морфогенетических программ у модульных объектов ориентирована на увеличение числа частей организма или новых индивидуумов. Она в большей или в меньшей степени осуществляет «репродукцию» на разных уровнях биосистемы. Единство морфогенетических и репродуктивных процессов на всех этапах онтогенеза обеспечивается особенностями функционирования стволовых клеток (Batygina, 2011; Батыгина, 2014). В этой связи при изучении программ развития целесообразно анализировать не только органогенез, но и процессы репродукции.

Неоднократно воспроизводящиеся резервы стволовых клеток и высокий уровень тотиплюрипотентности у модульных организмов обуславливают возможность и широкое распространение вегетативного и бесполого размножения (Батыгина, 2010, 2014; Исаева, 2010; Исаева, Батыгина, 2010; Нотов, 2010; Notov, 2015a, b). В отличие от унитарных, модульные организмы характеризуются большим спектром способов и типов размножения и воспроизведения, разнообразием жизненных циклов, значительной частотой встречаемости сложных жизненных циклов с чередованием поколений (Жукова, 1983; Нотов 2010; Notov, 2011, 2013).

Надежность репродуктивных систем обеспечивается разнообразием способов и типов размножения (Батыгина, 1994, 2014; Батыгина, Васильева, 2002; Нотов, 2010; Notov, 2015b). Варианты вегетативного размножения выступают в качестве дублирующих и формируют сложную систему резервов, что повышает надежность репродукции.

Циклический морфогенез и относительная автономность программ развития способствовали широкому распространению у модульных объектов гомеозисных структур (Notov, 2015a). Гомеозисные трансформации играли определенную роль в формировании новых эффективных репродуктивных стратегий, а их широкое распространение способствовало повышению надежности репродуктивных систем модульных живых существ (Notov, 2015b).

Актуален анализ репродуктивных систем в разных группах модульных организмов. Он будет способствовать дальнейшему концептуальному развитию репродуктивной биологии.

MODULAR ORGANISMS AS INVESTIGATED OBJECTS OF REPRODUCTIVE BIOLOGY

A.A. Notov

Tver State University, Tver

e-mail: anotov@mail.ru

Modular organization is a convenient model object in study connected with various aspects of developmental biology (Notov, 2010, 2011; Batygina, 2014). The specifics of modular living beings as objects of reproductive biology is caused by fundamental principles of their organization, which are interconnected with other peculiarities (Notov, 2015a, b). In total, they provide the possibility of vegetative and sexless propagation and organic unity of embryogenesis, morphogenesis, growth, reproductive, and regeneration processes. As opposed to unitary organisms, embryogenesis of modular organisms is slightly separated from the postembryonal stage of development. It is «prolonged» by new morphogenetic cycles, and the development of the modular organism occurs throughout it's life (Notov, 2005; Gattsuk, 2008).

Due to cyclic morphogenesis and wide distribution of vegetative propagation, reproductive systems of modular organisms function less autonomously. The processes of organogenesis in them are quite often coupled with propagation. The developing (as a result of organogenesis) parts of the body can provide for the reproduction processes and give rise to new individuals. Along with this, some specialized structures providing vegetative propagation can preserve the association with the maternal organism for quite a long time and fulfil «somatic» functions (root suckers, brood buds in plants).

Realization of almost all morphogenetic programs in modular objects is directed toward an increase in a number of organism parts or a number of new individuals. It, to a greater or lesser extent, performs «reproduction» at different levels of biosynthesis. The unity of morphogenetic and reproductive processes at all stages of ontogenesis is provided by peculiarities of stem cell functioning (Batygina, 2011, 2014). In this regard, it is reasonable to analyze not only organogenesis, but also the processes of reproduction during the study of programs of development in modular objects.

Repeatedly recurring reserves of stem cells and high levels of toti-pluripotency in modular organisms allows the possibility and wide distribution of the vegetative and asexual reproduction (Batygina, 2010, 2014; Isaeva, 2010; Isaeva, Batygina, 2010; Notov, 2010, 2015a, b). In contrast to unitary organisms, modular organisms are characterized by a variety of methods and types of reproduction and breeding, a variety of life cycles, a significant frequency of occurrence of complex life cycles with alternation of generations (Zhukova, 1983; Notov, 2010, 2011, 2013).

Diversity of modes and types of reproduction and propagation is provided by the reliability of the reproductive system (Batygina, 1994, 2014; Batygina, Vasilyeva, 2002; Notov, 2010, 2015b). The variants of vegetative propagation act as doubling variants and develop a complex system of reserves that increases the reliability of reproduction.

Cyclic morphogenesis and the relative autonomy of programs of development cause wide distribution of homeotic structures in modular objects (Notov, 2015a). Homeotic transformations played a certain role in the development of new efficient reproductive strategies, and their wide distribution favored an increase in the reliability of reproductive systems of modular organisms (Notov, 2015b).

The analysis of the reproductive system in the different groups of modular organisms is topical. It will contribute to the further conceptual development of reproductive biology.

**АПОМИКСИС В РОДЕ *BOECHERA* Á. LÖVE & D. LÖVE (*BRASSICACEAE*)
ПО ДАННЫМ КЛАССИЧЕСКИХ И СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ
ИССЛЕДОВАНИЯ**

Я. В. Осадчий

Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург
e-mail: JOsadtchiy@binran.ru

Одним из хозяйственно значимых семейств цветковых растений является сем. крестоцветные (*Brassicaceae*), включающее более 370 родов, из которых апомиксис обнаружен (Böcher, 1951) и подробно изучен в единственном роде *Boechea*. Данный род включает 110 половых и апомиктичных видов главным образом североамериканских дву- и многолетних трав с базовым числом хромосом $n=7$ (Windham, Al-Shebaz, 2006, 2007a, b). Его представители, состоящие в близком родстве с *Arabidopsis thaliana*, являются чрезвычайно удобными модельными объектами для изучения морфо-физиологической и молекулярной регуляции апомиксиса.

Первыми цитоэмбриологическими исследованиями апомиксиса в роде *Boechea* в середине XX в. показано наличие у *B. holboellii* s. l. апомиксиса на диплоидном и триплоидном уровне. Был прослежен мегаспорогенез и микроспорогенез при нормальном ходе мейоза и апомейозе у ряда географических форм, отмечено наличие растений с различной степенью нарушения синапсиса хромосом в мейотической профазе. Выявлены формы различной пloidности и анеуплоиды (Böcher, 1947, 1951, 1954, 1969).

В начале XXI в. данные Böcher были существенно дополнены цитоэмбриологическими исследованиями ряда форм *B. holboellii* s. l. с использованием современных микроскопических экспресс-методик. Были выявлены мейотический и апомейотический пути мегаспорогенеза. Впервые дана их количественная оценка путём визуального скрининга большого числа просветлённых семязачатков. Показано развитие нередуцированного зародышевого мешка в соответствии с Тагахасим-типом и партеногенетическое развитие зародыша. С использованием проточной цитометрии (FCSS) было показано преобладание псевдогамного и редкие случаи автономного формирования эндосперма. Отмечено участие только нередуцированных женских и мужских гамет в образовании зародыша и эндосперма у апомиктов (Naumova et al., 2001).

Для целого ряда видов *Boechea* был установлен процент апомейоза и проведена количественная оценка доли половых и партеногенетических зародышей, а также полового, псевдогамного и автономного эндосперма, позволившие установить генотип-специфичную корреляцию между этими показателями (Aliyu et al., 2010; Mau et al., 2015).

Одной из причин особого интереса к апомиксису у представителей рода *Boechea* стало наличие диплоидных апомиктичных форм. Однако, недавние цитогенетические исследования показали неоднозначность вопроса об апомиксисе на диплоидном уровне. Рядом геномных исследований показано, что апомиктичные линии демонстрируют признаки гибридного происхождения, и структура их хромосом сильно преобразована такими последствиями гибридизации, как аллоплоидия, анеуплоидия и замещения гомеологичных хромосом. Также, они характеризуются наличием одной или двух аберрантных хромосом с высоким содержанием гетерохроматина (Kantama et al., 2007; Mandáková et al., 2015). Апомикты с характерным для диплоидов числом хромосом не являются строгими диплоидами, поэтому правильнее говорить об их полигаплоидном происхождении (Соколов и др., 2011).

В настоящей работе проанализированы оригинальные и литературные данные по апомиксису в роде *Boechea*, о возможных причинах его возникновения и механизмах контроля, а также проводится сравнение результативности классических и современных высокотехнологичных методов, использованных при получении этих данных.

**APOMIXIS IN GENUS *BOECHERA* Á. LÖVE & D. LÖVE (*BRASSICACEAE*)
ACCORDING TO THE DATA FROM CLASSICAL AND MODERN RESEARCH
TECHNIQUES**

J. V. Osadtchiy

*Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg
e-mail: JOsadtchiy@binran.ru*

The mustard family (Brassicaceae) is the one of the most economically important families of angiosperms including more than 370 genera, whereof the apomixis was found (Böcher, 1951) and studied in details in the single genus *Boecheira*. This genus includes 110 sexual and apomictic species of mainly North American biennial and perennial herbs with basic chromosome number $n=7$ (Windham, Al-Shebaz, 2006, 2007a, b). Its representatives are the extremely convenient model objects for study of morpho-physiological and molecular regulation of apomixis, at that being closely relatives of *Arabidopsis thaliana*.

The first cyto-embryological investigations of apomixis in genus *Boecheira* in the middle of 20th century had demonstrated the presence of apomixis in *B. holboellii sensu lato* at diploid and triploid level. The course of megasporogenesis and microsporogenesis upon the normal meiosis and apomeiosis was described in a number of geographical forms, and presence of individuals with different degree of chromosome synapsis disturbance in meiotic prophase was noted. The forms of various ploidy and aneuploids were revealed (Böcher, 1947, 1951, 1954, 1969).

At the beginning of 21st century the data provided by Böcher were sufficiently accomplished with cyto-embryological investigations of a number of *B. holboellii* s. l. forms with usage of modern microscopical express-techniques. The presence of meiotic and apomeiotic megasporogenesis pathways was shown and their quantitative estimate was performed for the first time by means of visual screening of a large number of cleared ovules. The development of unreduced embryo sac following the Taraxacum-type and parthenogenetic embryo development were shown. The prevalence of pseudogamous and the rare cases of autonomous endosperm formation were shown with Flow Cytometric Seed Screen (FCSS). The fact was noted that only unreduced female and male gametes participate in formation of mature seed in apomicts (Naumova et al., 2001).

Later the quantitative estimates of the percentage of apomeiosis, sexual and parthenogenetic formation of embryos, as well as sexual, pseudogamous and autonomous endosperm development were done for a wide range of *Boecheira* species, which allowed establishing the genotype-specific correlation between these characteristics (Aliyu et al., 2010; Mau et al., 2015).

One of the reasons of especial interest toward apomixis in representatives of genus *Boecheira* was the presence of diploid apomictic forms in it. However, the recent cyto-genetic investigations have shown the ambiguity of the issue on apomixis at diploid level. A number of genomic investigations had shown that the apomictic lines exhibit signs of hybridogenous origin, and the structure of their chromosomes is highly transformed by such consequences of hybridization as alloploidy, aneuploidy and substitutions of homeologous chromosomes. Also they are characterized by presence of one or two aberrant chromosomes with high heterochromatin containment (Kantama et al., 2007; Mandáková et al., 2015). The apomicts with the diploid chromosome number are not the strict diploids, and it is more correct to refer to their polyhaploid origin (Sokolov et al., 2011).

In the present work the analysis of the original and literature data on apomixis in genus *Boecheira* is given, the possible causes of its appearance and the mechanisms of the control, as well as the effectiveness of classical and modern high-technology techniques used for obtaining these data are analyzed.

**АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТАБИЛЬНОСТИ ДЛИТЕЛЬНО
ПРОЛИФЕРИРУЮЩИХ ЭМБРИОГЕННЫХ КУЛЬТУР И ПОЛУЧЕННЫХ ОТ
НИХ САЖЕНЦЕВ ЛИСТВЕННИЦЫ СИБИРСКОЙ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ
МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ МАРКЕРОВ**

М.Э. Пак, А.С. Иваницкая, И.А. Лисецкая, И.Н. Третьякова

Институт леса им. В. Н. Сукачева СО РАН

e-mail: mtavi@bk.ru

Соматический эмбриогенез – наиболее перспективная биотехнология лесовыращивания за рубежом, позволяющая получать массовое неограниченное число однородных вегетативных клонов высокопродуктивных и устойчивых к вредителям деревьев (программа Multi-Varietal Forestry) (Park et al., 2014).

В результате эксперимента было получено 17 пролиферирующих эмбриогенных клеточных линий (Кл) *Larix sibirica* из эмбриокультуры от 3 деревьев-доноров, устойчивых к листовенничной почковой галлице Рожкова *Dasineura rozhkovi* Mam. et Nick. (Пак и др., 2016). Пролиферирующая эмбриогенная культура *L. sibirica* представляла собой эмбрионально-суспензорную массу (ЭСМ). Длительно-пролиферирующие клеточные линии (от двух до семи лет) сохраняли высокую пролиферативную активность, но отличались содержанием и размером соматических зародышей, их способностью созревать и прорасти, а также образовывать жизнеспособные регенеранты.

Число глобулярных соматических зародышей в молодых Кл (возраст до одного года) в 1 г сырой ЭСМ в среднем колебалось от 2040 до 11103. При добавлении в питательную среду АИ (патент 2456344; <http://www.freepatent.ru/images/patents/5/2456344/patent-2456344.pdf>) абсцизовой кислоты (АБК) происходил морфогенез и созревание соматических зародышей в течение 45 суток. Число созревших соматических зародышей у разных Кл колебалось от 12 до 1221 шт. на 1 г. ЭК. Мелкие соматические зародыши гибридной Кл5 не созревали. Прорастание соматических зародышей происходило на безгормональной среде АИ и начиналось с растяжения гипокотилия и удлинения корешка. Проросшие регенеранты укореняли в почвенном субстрате (торф : песок : вермикулит 1:1:1) в условиях ростовой камеры.

Для дальнейшего использования в плантационном лесовыращивании хвойных, оценена генетическая стабильность эмбриогенных культур *L. sibirica* и полученных от них клонированных саженцев. Клетки глобулярных зародышей при длительном культивировании оставались диплоидными. Генетический анализ эмбриогенных культур по 9 микросателлитным локусам показал слабую аллельную изменчивость. По локусам *bcLK066*, *bcLK224*, *bcLK232*, *bcLK260*, *UBCLXtet_1-22* во всех клеточных линиях наблюдалась полная идентичность с деревом-донором, исключение составляла лишь Кл5, которая по локусу *bcLK066* имела генотип 151/141, тогда как генотип дерева-донора по данному локусу был 151/151. Особое внимание из всех проверенных клеточных линий заслуживает Кл6, у которой семь локусов из 9 исследуемых были полностью идентичны генотипу дерева-донора. От этой Кл были получены клонированные саженцы лиственницы сибирской. Генотипирование 15-ти клонированных сеянцев показало полное соответствие саженцев и Кл6. Клонированные саженцы были высажены в теплице экспериментального хозяйства «Погорельский бор», где они растут в течение четырех лет.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 15-04-01427).

**ANALYSIS OF GENETIC STABILITY IN LONG-TERM PROLIFERATING
EMBRYOGENIC CULTURES AND DERIVED PLANTLETS IN SIBERIAN LARCH
USING MICROSATELLITE MARKERS**

M.E. Park, A.S. Ivanitskaya, I.A. Lisetskaya, I.N. Tretyakova

V.N. Sukachev Institute of Forest SB RAS

e-mail: mtavi@bk.ru

Somatic embryogenesis is the most perspective biotechnology of forest growing abroad, it allows to receive an unlimited number of homogeneous mass vegetative clones highly productive and pest-resistant trees (Multi-Varietal Forestry Program) (Park *et al.*, 2014).

As a result of experiments 17 proliferative cell lines (Cl) of *L. sibirica* were obtained from embryo culture from three donor trees resistant to larch bud gall midges Rozhkova (*Dasineura rozhkovi* Mam. et Nick.) (Pak *et al.*, 2016). Proliferating embryogenic culture of *Larix sibirica* is embryonal suspensor mass (ESM). Long-term proliferating cell lines (age from two to seven years) maintained high proliferative activity, but Cls differed in size and content of somatic embryos, their capability to mature, germinate and to form viable regenerants.

The number of somatic embryos ranged from 2040 to 11103 per 1 gram of fresh weight of ESM in young (age up to one year) Cls. Morphogenesis and maturation of somatic embryos was observed during 45 days on the medium AI (patent number 2456344; <http://www.freepatent.ru/images/patents/5/2456344/patent-2456344.pdf>) added with abscisic acid. The number of matured somatic embryos ranged from 12 to 1221 per 1 gram of ESM. Small somatic embryos of hybrid Cl5 do not mature on AI medium. The germination of somatic embryo occurred on medium AI without hormones and due to elongation of hypocotyls and roots. Somatic seedlings were transferred to soil substrate at the condition of growth-chamber.

The genetic stability of embryogenic cultures of *L. sibirica* and the plantlets were assessed to their further using for forest plantation. The cells of globula embryos remained diploid during prolonged culturing. Genetic analysis of embryogenic cultures for 9 microsatellite loci showed weak allelic variation. All cell lines showed complete identity with the donor tree in loci bcLK066, bcLK224, bcLK232, bcLK260, UBCLXtet_1-22. Only Cl5 had genotype 151/141 on locus bcLK066, while the genotype of the donor tree on this locus was 151/151. Cl6 deserves particular attention of all tested cell lines. In this Cl the seven loci from 9 were completely identical genotype of the donor tree. From this Cl cloned seedlings were obtained. Genetic analysis showed complete similarity of Cl6 and somatic embryo-derived plants originated from this Cl6. Somatic embryo-derived plants of *L. sibirica* were planted in the greenhouse of V. N. Sukachev Institute of Forest SB RAS where they successfully grow for four years.

This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research and Krasnoyarsk regional Fund competitions for scientific and technical activity (no. 15-04-01427).

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКАЯ
ХАРАКТЕРИСТИКА ОДНО- И ДВУСЕМЯДОЛЬНЫХ
ЗАРОДЫШЕЙ И ПРОРОСТКОВ *PINGUICULA VULGARIS* L.
(LENTIBULARIACEAE)**

Л. А. Пушкарева

Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия
e-mail: pushkareva-lubov@mail.ru

Pinguicula vulgaris – в норме односемядольный вид, который проявляет стабильную склонность (популяция из окрестностей Глядино, Ленинградская область) к формированию двусемядольных проростков и переходных форм на основе унимаргинальной синкотилии (УС) (Титова, 2012). Цель работы - оценка полиморфизма зародышей, формирующихся в пределах плодов ее растений (для проверки способности разных особей к образованию двусемядольных и переходных форм) и сравнительный анализ их строения.

В семенах каждого плода выявлено 6 типов зародышей: (I) крупные (0.5 мм) двусемядольные без срастания семядолей и (II) с их частичным срастанием в основании; (III) крупные (0.5 мм) односемядольные с бороздой на верхушке семядоли и (IV) без борозды; (V) мелкие (0.35-0.40 мм) односемядольные с бороздой на верхушке семядоли и (VI) без борозды. Зародыши всех типов дифференцированы на семядолю(-и), гипокотиль, апексы корня и побега, состоят из паренхимных клеток с запасными веществами. Они различаются по степени изогнутости оси, способу сложения семядоли(-ей) и объему апикальной меристемы побега (АМП) (организация меристемы корня сходна). Зародыши I–II-го типов прямые, с плоскими, равными по длине гипокотиллю и сомкнутыми семядолями, полностью скрывающими АМП; АМП плоская, из 3 слоев клеток. Зародыши III–IV-го типов прямые, их синтетическая семядоля симметричная, пликратно сложенная, равная по длине гипокотиллю, ее края слегка раздвинуты, приоткрывая латеральную часть АМП (сходного строения с АМП зародышей I–II-го типов). Зародыши V–VI-го типов с изогнутой осью, асимметричной, свернутой и более короткой синтетической семядолей; края последней смещены по вертикали и раздвинуты, приоткрывая увеличенную АМП (5-6 слоев клеток). При увеличении степени синкотилии (I–II → V–VI типы) характерно усиление сдвига общей симметрии зародыша (переориентация АМП и проводящей системы в сторону одной из срастающихся семядолей) и смещение АМП из горизонтального в наклонное положение (за счет вставки клеток с дорсальной стороны зародыша по линии слияния семядолей; особенно выражено у V–VI-го типов зародышей, где вставка распространяется в основание одной из срастающихся семядолей).

Таким образом, формирование разных типов зародышей свойственно каждой особи *P. vulgaris* (обычно 1 особь – 1 коробочка), а их односемядольность достигается на основе двух форм УС – симметричной (III–IV типы зародышей) и асимметричной (V–VI типы) (по терминологии Nacsius, Trompeter, 1960), причем каждая из форм вызывает характерный тип изменений. Так, при асимметричной УС рост объема АМП сопряжен с сокращением площади семядоли, что свидетельствует о компенсаторных взаимосвязях между органами (компенсация редукции семядоли за счет ускорения развития АМП). Обсуждается возможный механизм сдвига симметрии зародыша («семядольный шифтинг») и его роль в эволюционном становлении односемядольности в роде *Pinguicula*: все выявленные типы симметрии и сложения семядоли (симметричный, асимметричный, пликратный, свернутый), характерные для разных видов односемядольных жирянок (Degtjareva et al., 2004), свойственны зародышам, формирующимся в пределах одного плода *P. vulgaris*.

**COMPARATIVE MORPHOLOGY AND ANATOMY
OF MONO- AND DYCOTYLEDONOUS
EMBRYOS AND SEEDLINGS OF *PINGUICULA VULGARIS* L.
(LENTIBULARIACEAE)**

L. A. Pushkareva

Komarov Botanical Institute, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia
e-mail: pushkareva-lubov@mail.ru

Monocotyledonous *Pinguicula vulgaris* (Glyadino, Leningrad region, Russia) stable forms dycotyledonous seedlings and transitional forms based on unimarginal syncotyly (US) (Titova, 2012). Purpose - to estimate polymorphism of embryo formed in the fruits of plants (to test the ability of different individuals form dycotyledonous seedlings and transitional forms), and comparative analysis of their structure.

In the seed of each fruit six types of embryos were identified:(I) the large (0.5mm) dycotyledonous without cotyledon fusion and (II) with a partial fusion of the base;(III) large (0.5mm) monocotyledonous with furrows at the apex of the cotyledon and (IV) without furrows;(V) small (0.35-0.40mm) monocotyledonous with furrows at the apex of the cotyledon ;(VI) without furrows. Embryos of all types are differentiated on the cotyledon(-es), hypocotyl, and the apexes of shoot and root, composed of parenchyma with storage compound, but differ in the degree of curvature of the axis, the manner of the cotyledon(-es) folding and the volume of the shoot apical meristem (SAM) (organization of root apical meristem is similar). Embryos of I-II-nd type are erect, with flat, equal to the length of the hypocotyl and stocked cotyledons, completely hiding the SAM; SAM is flat, consists of three layers of cells. Embryos of III-IV-th type are erect, their synthetic cotyledon is symmetric, conduplicate built, equal to the length of hypocotyl, its edges are slightly apart, opening the lateral part of the SAM (SAM with a similar structure of embryo of I-II-nd type). Embryos of V-VI-th type are with a curved axis, asymmetrical, folded and shorter synthetic cotyledon; its edges are offset vertically and moved apart, opening the enlarged SAM (5-6 cell layers). With increasing the degree of syncotyly (I-II → V-VI types) shifting force of general symmetry of the embryo (reorientation of the SAM and the conduction system in the direction of one of the intergrows cotyledons) and the displacement of the SAM from horizontal to inclined position (due to the insert cells of the dorsal side of the embryo through the merger of the cotyledons; especially pronounced in V-VI-th embryo types, where the insert extends into the base of one of the intergrows cotyledons) are characteristic.

Thus: the formation of different types of embryo is typical for each individual of *P. vulgaris* (usually 1 specimen - 1 box); and their monocotyledonous species is achieved on the basis of the two forms of unimarginal syncotyly - symmetric (III-IV type embryos) and asymmetric (V-VI types) (terminology according Haccius, Trompeter, 1960), each of the forms causes characteristic type of changes. Thus, at asymmetrical US the growth of volume is associated with a reduction in the area of the cotyledons, suggesting compensatory relationships between organs (cotyledons compensation reduction by accelerating the development of SAM).

A possible mechanism of the shift of the embryo symmetry ("cotyledonary shifting") and its role in the evolutionary formation of monocotyledonous in the species *Pinguicula*: all types of symmetry and folding of cotyledons (symmetrical, asymmetrical, conduplicate, folded), identified in embryos formed in the fruit of *P.vulgaris*, are marked in different species *Pinguicula* (Degtjareva et al., 2004).

**«...ОТ ИСХОДНОГО ЕДИНООБРАЗИЯ, ЧЕРЕЗ МАКСИМАЛЬНО
ВЫСОКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ, К КОНЕЧНОМУ ЕДИНООБРАЗИЮ»
– ГЕНОМНЫЙ ШОК И ВТОРИЧНАЯ ДИПЛОИДИЗАЦИЯ КАК ЭТАПЫ
НА ПУТИ СТАНОВЛЕНИЯ НОВОГО ВИДА.**

А.В. Родионов

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург

Академик В.Л. Комаров в 1940 г. писал: «Большое искушение – предположить, что процесс возникновения новых видов, приспособленных к новым условиям, идет по пути известной гегелевской триады – от исходного единообразия через максимально высокое разнообразие к конечному единообразию». Данные сравнительной геномики и эксперименты по ресинтезу гибридогенных видов поразительным образом согласуются с предвиденьем В.Л. Комарова о путях видообразования у растений.

Изучение геномов представителей всех основных филогенетических ветвей цветковых растений показывает, что в истории каждого из современных таксонов неоднократно повторялся цикл: межвидовая гибридизация → нестабильный геном гибрида неогомоплоида или неополплоида → относительно стабильный геном эуполплоида или диплоида → вторичная диплоидизация (у полиплоидов) → межвидовая гибридизация – геномный шок... и т.д.

Объединение в одном ядре двух или более геномов разного происхождения в первых поколениях гибридов часто или всегда сопровождается феноменом «геномного шока» - экспансией транспозонов, неадитивными изменениями в транскриптоме и т.п. «Геномный шок» является источником разнообразных и множественных генетических и эпигенетических изменений в потомстве неополплоида или неогомоплоида, тем самым формируя уникальный по разнообразию вариантов полигон для естественного отбора организмов, в той или иной степени адаптированных к условиям среды. В дестабилизированных гибридных геномах, в изолированных популяциях, при участии отбора и вследствие дрейфа генов, постепенно будут накапливаться генные и хромосомные различия, включающие в действие все новые и новые репродуктивные изолирующие механизмы, усиливающие степень генетической изоляции новой расы, нового вида. Сохранению отобранных новых геномных и эпигеномных комбинаций способствует постепенная стабилизация генома на стадии эуполплоида, завешающаяся постепенной вторичной диплоидизацией генома и кариотипа.

И вышеописанный цикл может начаться сначала...

**"...FROM THE ORIGINAL UNIFORMITY THROUGH THE HIGHEST
POSSIBLE VARIETY TO THE FINAL UNIFORMITY":
GENOMIC SHOCK AND SECONDARY DIPLOIDIZATION AS STAGES ON
THE PATH TO BECOMING NEW SPECIES.**

A.V. Rodionov

Komarov Botanical Institute, St. Petersburg

Academician Vladimir L. Komarov in 1940 wrote: "the Great temptation is to assume that the process of origin of a new species adapted to new conditions, follows the path of the famous Hegelian triad – from original uniformity through the highest possible variety to the final uniformity". Comparative genomics and experiments on the resynthesis of hybridogenic species is wonderfully consistent with the Komarov's prediction on ways of speciation in plants.

The study of the genomes of plants belong to all the main phylogenetic branches of flowering plants shows that there were repeated cycle in the history of each of modern taxon: interspecific hybridization → unstable genome of the either homoploid or polyploid hybrid → relatively stable genome of eupolyploid or diploid → secondary diploidization → interspecific hybridization – etc.

The union in one nucleus of two or more different genomes in the first generations of hybrids is often or always accompanied by the phenomenon of "genomic shock" – an expansion of transposons, negative changes in the transcriptome, etc. "Genomic shock" is the source of varied and multiple genetic and epigenetic changes in the offspring of neopolyploids and neohomoploids, thereby forming an unique testing ground for natural selection of organisms. In destabilized hybrid genomes with the participation of selection and by genetic drift, will gradually accumulate the genetic and chromosomal differences that might effect on new reproductive isolation mechanisms that increase the degree of genetic isolation of a new population, new race, new species. The conservation of selected new genomic and epigenetic combinations contributes to the gradual stabilization of the genome at the stage of eupolyploids or homoploids followed by secondary diploidization of karyotype.

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ СВЯЗИ СЕМЕЙСТВ ПОРЯДКА *CAPPARALES* ПО ДАННЫМ СРАВНИТЕЛЬНОЙ ЭМБРИОЛОГИИ И АНАТОМИИ СЕМЯН

Г.Б. Родионова

Московский городской педагогический университет, Москва

e-mail: rodionova.g.b@yandex.ru

К порядку *Capparales* относятся семейства *Capparaceae*, *Brassicaceae*, *Tovariaceae*, *Resedaceae*, *Moringaceae* (Cronquist, 1968, 1988; Тахтаджян, 1966, Takhtajan, 1980), которые принимаются как близко родственные.

Capparaceae имеют все признаки, присущие общему предполагаемому предку, а *Cruciferae* прямо производны от *Capparaceae*. В позднем варианте своей системы А. Cronquist (1988) подтверждает несомненное родство *Brassicaceae* с *Capparaceae*, однако считает, что природа этой связи спорна, как спорна и возможность тесного родства между *Stanleya* (*Brassicaceae*) и *Cleome* (*Capparaceae*). А.Л. Тахтаджян (1987, 1991) выделил *Moringaceae* в самостоятельный порядок *Moringales*, J. Hutchinson (1973) признает порядок *Capparales* с семействами *Capparaceae*, *Moringaceae*, *Tovariaceae*, тогда как семейство *Brassicaceae* помещает в порядок *Brassicales* вместе с *Cleomaceae* и *Oxystilidaceae*, а *Resedaceae* рассматривает в составе порядка *Resedales*.

Анализ оригинальных данных по сравнительной эмбриологии и анатомии семян более 40 видов из пяти названных семейств (Родионова, 1992, 1993, 1997) свидетельствует о большей древности *Capparaceae* по сравнению с другими семействами порядка. Отличия, касающиеся морфологии семязачатков, типов эмбриогенеза и генезиса семенной кожуры у видов *Capparis* и *Cleome* (Родионова, 2010), соответствуют выделению двух подсемейств *Capparoideae* и *Cleomoideae*.

Уникальная для цветковых ценоцитная структура внутреннего интегумента у видов *Brassicaceae* (*Heliophila* и *Succowia*), эндотестальные семена, не характерные для *Capparaceae*, *Tovariaceae* и *Resedaceae*, как и другие эмбриологические признаки (Родионова, 1972, 1983, 1992), подтверждают обоснованность выделения *Brassicaceae* в самостоятельный порядок *Cruciales* (Козо-Полянский, 1945). Те же данные не подтверждают возможности объединения *Cleomaceae* и *Brassicaciae* в объеме общего порядка *Brassicales* (Hutchinson, 1973). Эмбриологические отличия *Brassicaciae*, как и отсутствие у них экзотегминальных семян, характерных для видов *Cleome*, отличия ультраструктуры поверхности тесты *Stanleya* и *Cleome* (Родионова, 1992, 1993) противоречат представлениям ряда систематиков (Janchen, 1942, Тахтаджян, 1966, 1987) о возможности тесного родства между примитивной трибой *Stanleyeae* (*Brassicaciae*) и подсемейством *Cleomoideae*, а также непосредственного выведения *Brassicaceae* из *Cleomoideae*.

Мезотестальные семена *Moringaceae* с прямым, а не изогнутым зародышем, наличие 2-гнездных пыльников, помимо 4-гнездных, согласуются с выделением *Moringaceae* в особый порядок *Moringales*.

Распределение признаков по разнообразию типов женского археспория, зрелых пыльцевых зерен, эмбриогенеза, структуры зрелого семени у представителей *Capparaceae*, *Tovariaceae*, *Brassicaceae*, *Resedaceae* и *Moringaceae* свидетельствует как о параллельной эволюции эмбриологических структур внутри каждого семейства и внутри порядка, так и параллельной эволюции семейств от общего анцестрального таксона.

**PHYLOGENETIC INTERACTIONS OF FAMILIES IN ORDER *CAPPARALES*
ACCORDING TO DATA OF COMPARATIVE EMBRYOLOGY
AND SEED ANATOMY**

G.B. Rodionova

Moscow state pedagogical university, Moscow

e-mail: rodionova.g.b@yandex.ru

The order *Capparales* includes the families *Capparaceae*, *Brassicaceae*, *Tovariaceae*, *Resedaceae*, *Moringaceae* (Cronquist, 1968, 1988; Takhtajan, 1966, 1980) that are considered to be closely related.

Capparaceae possess all features typical for the common expected ancestor, and *Cruciferae* is directly derived from *Capparaceae*. Cronquist in the late variant of his system (Cronquist, 1988) confirms undoubted relationship of *Brassicaceae* with *Capparaceae*, but believes that the nature of this relationship is debatable as debatable and the possibility of a close relationship between *Stanleya* (*Brassicaceae*) and *Cleome* (*Capparaceae*). A. L. Takhtajan (1987, 1991) distinguished *Moringaceae* in the independent order *Moringales*, J. Hutchinson (1973) accepts the order *Capparales* with the families *Capparaceae*, *Moringaceae*, *Tovariaceae*, whereas the family *Brassicaceae* places in the order *Brassicales* together with *Cleomaceae* and *Oxystilidaceae*, and regards *Resedaceae* as a part of the order *Resedales*.

The analysis of original data on the comparative embryology and anatomy of seeds of more than 40 species from the five families marked (Rodionova, 1992, 1993, 1997) indicates the great ancientness of *Capparaceae* compared to others families of the order. The differences, concerning ovules morphology, types of embryogenesis and the genesis of seed coat in the species *Capparis* and *Cleome* (Rodionova, 2010), correspond to the distinguishing of two subfamilies *Capparoideae* and *Cleomoideae*.

The unique for the flowering plants coenocytic structure of inner integument in the species of *Brassicaceae* (*Heliophila* and *Succowia*), endotestal seeds, not typical for *Capparaceae*, *Tovariaceae* and *Resedaceae*, as the other embryological features (Rodionova, 1972, 1983, 1992) confirm the validity of separating *Brassicaceae* into independent order *Cruciales* (Kozo-Polaynsky, 1945). The same data doesn't confirm the possibility to unite *Cleomaceae* and *Brassicaceae* in a general volume of the order *Brassicales* (Hutchinson, 1973). Embryological differences of *Brassicaceae*, as well as the absence of exotegminal seeds in them, typical for *Cleome* species, the differences of ultrastructure of the testa surface in *Stanleya* and *Cleome* (Rodionova, 1992, 1993) contradict to the views of some systematists (Janchen, 1942, Takhtajan, 1966, 1987) about the possibility of close relationship between the primitive tribe *Stanleyeae* (*Brassicaceae*) and subfamily *Cleomoideae*, and also to the immediate deriving of *Brassicaceae* from *Cleomoideae*.

The mezotestal seeds of *Moringaceae* with the straight but not curved embryo, the presence of 2-loculed anthers besides 4-loculed ones are consistent with separating of *Moringaceae* into a special order *Moringales*.

Distribution of characteristics on the diversity of female archesporium types, mature pollen grains, embryogenesis, the structure of the mature seed in the representatives of *Capparaceae*, *Tovariaceae*, *Brassicaceae*, *Resedaceae* and *Moringaceae* evidences both of the parallel evolution of embryological structures within each family and within the order and of the parallel evolution of families derived from a common ancestral taxon.

СТРУКТУРА ОБЛАСТИ РУБЧИКА У СЕМЯН ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ТРИБЫ *Sileneae* DC (*Caryophyllaceae* Juss.)

В.О. Романова, Т.И. Кравцова

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия.

e-mail: veronique71@mail.ru

С помощью СЭМ семена 73 видов из 23 родов гвоздичных из трибы *Sileneae* (*Caryophyllaceae*), по классификации Н.Н. Цвелева (2001), были впервые детально изучены с вентральной стороны (со стороны рубчика), что позволило выявить их новые морфологические особенности. Обнаруженное разнообразие строения семени в этой области связано с сохранением у некоторых видов и различной топографией тканей фуникулуса, участвующих в формировании придатков семени. Выделено 5 типов и несколько вариантов переходного строения околорубчиковой области семени: 1) без выступов, «открытый» тип, 2) со складками, 3) с валиком, 4) с латеральными придатками, прикрывающими рубчик, 5) с волосками. Околорубчиковый валик обычно характеризует роды (*Ixoca*, *Lychnis*, *Melandrium*, *Silenanthe*, *Ussuria*). Показано, что имеется некоторая зависимость между типом строения околорубчиковой области и величиной семени, а также таксономическим положением вида, а именно, его принадлежностью к роду или группе близких родов. Найдено, что этот признак довольно постоянен у многих видов, однако, может значительно меняться в пределах одной секции и рода, что позволяет использовать его, в комплексе с другими признаками, для диагностики видов и монотипных надвидовых таксонов. Своеобразное строение данной области семени у *Silene gallica* (опушенный тип) является диагностическим признаком этого вида. Выяснено, что нет четких различий между родами по данному признаку, в роде *Silene* найдены все 5 типов строения околорубчиковой области семени. Однако, между группами близких родов, установленных с помощью традиционного сравнительно-морфологического метода (Цвелев, 2001), определенные различия имеются. В лихнисовой и меландриевой группах преобладают открытый рубчик и околорубчиковый валик, латеральные складки и выступы встречаются редко, в основном их нетипичные формы. В силеноидной группе, наоборот, редко встречается околорубчиковый валик, а преобладают латеральные складки и в разной степени развитые латеральные выступы (придатки) семени, прикрывающие рубчик. Сравнение с молекулярными данными для трибы *Sileneae* (Oxelman, Liden, 1995; Михайлова и др., 2014) показало, что из-за того, что в верхние клады молекулярно-филогенетических деревьев вошли некоторые роды меландриевой группы, эта довольно стройная картина распределения типов строения околорубчиковой области семени нарушается. Для родов базальных групп этих деревьев (*Agrostemma*, *Eudianthe*, *Viscaria* group, *Lychnis* group) характерны открытый тип области рубчика и околорубчиковый валик, образованный в основном клетками фуникулуса. В *Viscaria* group преобладает открытый тип (исключение – род *Ixoca* с околорубчиковым валиком), в *Lychnis* group – околорубчиковый валик (исключение – род *Coronaria*). Латеральные складки и типичные латеральные выступы (придатки), прикрывающие рубчик, часто встречаются в выше стоящих кладах (*Silene* group или в силеноидной и сборной кладах), что говорит о том, что это, по-видимому, поздние эволюционные приобретения, как и рубчик с мелкими волосками, характерный только для *Silene gallica*.

**STRUCTURE REGIONS OF SEED'S HILAR REGION IN MEMBERS OF THE
TRIBE *Sileneae* DC (*Caryophyllaceae* Juss.)**

V.O. Romanova, T.I. Kravtsova.

Komarov Botanical Institute RAS, Saint Petersburg, Russia

The seeds of 73 species from 23 genera of the tribe *Sileneae* (*Caryophyllaceae*) (presumably of Russian flora), according to N.N. Tzvelev (2001) classification, were firstly examined in details using SEM on ventral side, in the hilum region, that permitted to discover their new morphological peculiarities. Structural diversity of this seed region is connected with maintenance in some species and different topography of funicular tissues, participating in appendages formation. Five types of hilar region structure are distinguished: 1) without appendages, “open” type, 2) transverse, narrow up to slit-like, accompanied by lateral folds, 3) surrounded by incomplete rim, 4) with lateral appendages, covering the hilum, 5) with small hairs and papillae; transitional forms between the types occur. Hilar rim applies to several genera entirely (*Ixoca*, *Lychnis*, *Melandrium*, *Silenanthe*, *Ussuria*), e. g., characterizes usually all their species. Possible biological significance of hilar region structure is discussed. The results suggest that “open” hilar type is primitive one, initial to all other, more specialized types. The observations show that there is certain dependence between the structure of hilar seed region and seed size, moreover, between this one and taxonomical position of the species. It is found that this character is rather constant within many species, but can show infrasectional and infrageneric variation, what makes it useful (in the complex with other morphological characters) for diagnosis of species and monotypic taxa above species level. Unique structure of this seed region in *Silene gallica* (pubescent type with small hairs) is diagnostic feature of the species. In the genus *Silene* thus all five types of hilar seed region are present. It is revealed that there are no clear differences by the character between genera studied, but they exist between groups of closely related genera, established using traditional comparative-morphological approach. In “lychnisoid” and “melandrioid” groups (Tzvelev, 2001) open type of hilar region structure and hilar rim dominate, lateral folds and lateral appendages are rare, generally their atypical forms occur that uncover the hilum. In “solenoid” group, on the contrary, lateral folds and typical lateral outgrowths (appendages), more or less covering the hilum, have been evolved, and hilar rim is rare. The comparison with molecular-phylogenetic trees of the tribe *Sileneae* (Oxelman, Liden, 1995; Mikhaylova, et al., 2014) does not give such clear pattern of the character distribution because of upper clades include several genera of melandrioid group. For the low branches (clades) of these trees (*Agrostemma*, *Eudianthe*, *Viscaria* group, *Lychnis* group) primitive open hilar type and hilar rim formed mainly by funiculus cells are characteristic. In *Viscaria* group open type prevails over the other types (with the exception of *Ixoca*, hilar rim), in *Lychnis* group hilar rim prevails (with the exception of *Coronaria* with some other types). In the upper branches (*Silene* group or solenoid and combined groups) such specialized types as narrow one with lateral folds, provided with typical lateral appendages, covering the hilum, are widely distributed, and moreover, the hairy hilum type occur (in *Silene gallica*).

АПИКАЛЬНАЯ МЕРИСТЕМА ПОБЕГА И МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ЭВОЛЮЦИЯ: СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РАЗНЫХ ТАКСОНОВ РАСТЕНИЙ

М.А. Романова¹, А.И. Евкайкина², Е.А. Климова^{1,2}, Е.В. Тютерева², К.С. Добрякова², А.Н. Иванова^{1,2}, К. Pawlowski³, L. Berke⁴, E. Wera³, О.В. Войцеховская²

1- Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 2 - Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, 3 - Stockholm University, Sweden, 4 - Wageningen University, Netherlands
e-mail: m.romanova@spbu.ru

Выявление механизмов функционирования структурно различающихся апикальных меристем побега (АМП), образующих различные по метамерии побеговые системы у представителей эволюционно древних таксонов растений, может прояснить ключевые вопросы морфологической эволюции. Предполагается, что АМП с единственной апикальной инициальной (АИ), характерная для большинства высших споровых растений, плезиоморфна и является единственно возможным типом организации у организмов, не обладающих способностью формировать вторичные (пост-цитокинетические) плазмодесмы. Возникновение последних скоррелировано с появлением нескольких АИ и, вероятно, они произошли независимо у равноспоровых плаунообразных и семенных растений. Важная роль при характеристике АМП с несколькими инициалами придается наличию или отсутствию внешних слоев клонально обособленных клеток - туники, характерной только для гнетовых и цветковых. Все типы АМП, независимо от числа АИ, трактуются как многоклеточные и характеризуются подразделением на различающиеся по цитологическим характеристикам центральную и периферическую зоны (ЦЗ и ПЗ). Связь разных структурных типов АМП с морфологией побега, а также их таксономическая приуроченность, не очевидны.

Открытие ключевых регуляторных транскрипционных факторов (ТФ) в АМП цветковых и картирование их экспрессии подтвердило ее функциональную компартиментализацию на ЦЗ и ПЗ, выявило неоднородность в пределах ЦЗ, показало функциональную аналогию АМП с нишей стволовых клеток животных. Раскрыты не клеточно-автономный характер действия большинства ТФ, их гормонзависимая природа. Выявлена исключительная роль наружного слоя туники в градиентном распределении фитогормона ауксина и в филлотаксисе.

Биоинформатический анализ геномов и транскриптомов представителей, Lycopodiophyta, Monilophyta и Pinophyta выявил наличие гомологов маркеров апикальных инициалей, клеток "ниши", всех меристематических клеток и инициалей листа (*CLE*, *WOX*, *KNOX*, *HD-Zip III*) у всех высших растений. Изучение паттернов их экспрессии у некоторых плаунообразных, хвощевидных и папоротникообразных показало как сходство, так и таксоноспецифичные особенности, коррелирующие с морфологической природой листа и типом ветвления побега и подтвердило функциональную многоклеточность АМП с единственной АИ и ее компартиментализацию на несколько доменов. Выяснилось, что *KNOX-ARP* взаимодействия не являются антагонистичными при заложении как микрофиллов плаунообразных, так и мегафиллов папоротникообразных, а экспрессия гомологов *HD-ZIP III* у разноспоровых плаунообразных не приурочена к листовым зачаткам и, вероятно, не определяет их дорсовентральность. Зарегистрированный у плаунообразных полярный транспорт ауксина создает максимум в АИ и регулирует не филлотаксис, но дихотомическое ветвление.

Исследования коллектива посвящены изучению симпластической организации и клеточных аспектов органогенеза в разных типах АМП, разработке вопроса о возникновении не клеточно-автономной регуляции АМП путем сравнительного изучения локализации транскриптов и белков гомологов *KNOX*-генов у представителей плаунообразных, папоротникообразных и голосеменных. Нами секвенирован и аннотируется транскриптом *Huperzia selago* - плауна с несколькими АИ в АМП. Споровое растение с таким типом АМП впервые стало моделью для молекулярно-генетических исследований. Работа ведется при поддержке РФФИ (проекты №№ 07-04-00851, 12-04-32168, 13-04-02000, 14-04-01397).

SHOOT APICAL MERISTEM (SAM) AND THE MORPHOLOGICAL EVOLUTION: STRUCTURAL, FUNCTIONAL AND MOLECULAR FEATURES OF SAM IN REPRESENTATIVES OF DIFFERENT PLANT TAXA

M.A. Romanova¹, A. I. Evkaikina², E.A. Klimova^{1,2}, E.V. Tyutereva², K.S. Dobryakova², A.N. Ivanova^{1,2}, K. Pawlowski³, L. Berke⁴, E.Wera³, O. V. Voitsekhovskaja²

*1 – St-Petersburg State University, St-Petersburg, 2-Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg³ - Stockholm University, Sweden, 4 - Wageningen University, Netherlands
e-mail: m.romanova@spbu.ru*

Unrevealing how structurally distinct shoot apical meristems (SAMs) originate different in metameric structure shoot systems in representatives of evolutionarily ancient plant taxa can enlighten the key issues of morphological evolution. It is assumed that the SAM with single apical initial (AI), which is characteristic for the majority of lower vascular plants is plesiomorphic and constitutes the only possible type of organization in organisms that are unable to form secondary (post-cytokinetic) plasmodesmata. The emergence of the latter correlates with the appearance of several AIs and is most likely homoplasious in homosporous lycophytes and seed plants. An important character of SAM with several AIs is the presence or absence of the outer layer(s) of clonally isolated cells – the tunic, characteristic only for gnetophytes and angiosperms. All types of SAM, regardless of the AI number, are considered multicellular and characterized by compartmentalization into the central and peripheral zones (CZ and PZ) differing in cytological characters. Correlation of different SAM structural types with shoot morphology and their taxonomic confinement are controversial.

Discovery of key meristem-specific transcription factors (TFs) and mapping of their expression patterns in the angiosperm SAM have confirmed its functional compartmentalization into the CZ and PZ, revealed heterogeneity within the CZ and exposed SAM functional analogy with the stem cell niche. Most TFs were shown to be non-cell-autonomous and hormone-dependent, and the outer tunic layer was demonstrated to play the exceptional role in a gradient distribution of phytohormone auxin and phyllotaxy.

Bioinformatic analysis of genomes and transcriptomes in model Lycophytes, Monilophytes and Pinophytes have revealed the presence of homologues of apical initials cells, niche cells, all meristematic cells, leaf founder cells markers (*CLE*, *WOX*, *KNOX*, *HD-Zip III*) in all land plants. The study of their expression patterns in some of spike mosses, horsetails and ferns have showed both similarities and taxon-specific features correlated with the morphological nature of the leaf and the type of shoot branching; confirmed the functional multicellularity of the single AI SAM and its compartmentalization into several domains. It was found that *KNOX-ARP* interactions are not antagonistic during the inception of both lycophyte microphylls and fern megaphylls, the expression of *HD-ZIP III* homologs in spike mosses is not confined to leaf primordia, and probably does not determine their dorsoventrality. The polar auxin transport detected in lycophytes creates maximum in AIs and presumably controls not phyllotaxy, but dichotomous branching.

Research of our group is focused on symplasmic organization, cellular aspects of organogenesis, non-cell-autonomous regulation of the SAM in the evolutionary context, specifically by a comparative study of the localization of transcripts and proteins of *KNOX* genes homologs in model lycophytes, ferns and gymnosperms. We have sequenced and are annotating transcriptome of *Huperzia selago* – a clubmoss with several AIs in SAM. Lower vascular plant with this SAM type has for the first time become a model for molecular genetic studies. The work is supported by RFBR (07-04-00851, 12-04-32168, 13-04-02000, 14-04-01397).

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ ОПИСАНИЕ МОРФОГЕНЕЗА РАСТЕНИЙ

И.В. Рудский

*Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург
e-mail: ivrudsky@mail.ru*

Целью работы было разработка способа, языка для описания клеточной архитектуры растений и тканевого трафика, а также языка для описания и анализа морфогенетических программ развития растений.

Видоспецифичная пространственная организация тканей и органов растений возникает в результате деятельности образовательных тканей. Она представляет собой тончайшую транспортную сеть, соединяющую каждую клетку тела растения потоком веществ. Деятельность образовательных тканей заключается в преобразовании транспортных потоков в потоки клеток, исходящие из меристем, которые пополняют и обновляют соматические ткани. Последние, в свою очередь, преобразуют входящий поток клеток в транспортные потоки веществ, которые потребляются образовательными тканями. Данные преобразования управляются в соответствии с видоспецифической программой развития.

В данной работе мы даём формализованное представление транспортных потоков и клеточной архитектуры растений, рассматриваем преобразование этих потоков друг в друга и сопряжение этих преобразований. Использование математического языка графов, категорий и сетей Петри позволяет 1) рассмотреть внутриклеточный и тканевой транспорт и химические преобразования веществ, как результат компартиментации трафика в соответствии с клеточной архитектурой; 2) рассмотреть деление клеток и возникающую в этом процессе пространственную организацию, как форму трафика и взаимодействия веществ; 3) построить схему программного контроля транспортных и морфогенетических процессов.

Для всех обнаруженных закономерностей будут приведены примеры, доступные для прямой проверки.

MATHEMATICAL DESCRIPTION OF PLANT MORPHOGENESIS

Rudskiy I.V.

Komarov Botanical Institute, Saint-Petersburg

e-mail: ivrudsky@mail.ru

This work was aimed to develop a description language for the cellular architecture and traffic in plants, and to elaborate a formalistic language for the description and analysis of the morphogenetic programs in plants.

Species-specific spatial organization of the tissues and organs in plants appears as result of activity of the formative tissues. It is delicate traffic network which connects every cell in plant body by means of the transport of substances.

Activity of the formative tissues is transformation of the streams of substances into the streams of cells, which leave meristems and become the somatic tissues. Somatic tissues in their turn convert the incoming stream of cells into the stream of substances. These transformations are under control of the species-specific developmental program.

In the present work we provide formalistic representation of the transport and the cellular architecture in plants and we consider the relation and adjunction of their mutual transformations. With help of the approaches of graphs, categories and Petri networks we were enabled to : 1) to consider the inner cellular and tissue traffics as result of the traffic compartmentalization according to the cellular architecture; 2) to consider the cell divisions and spatial relations between cells resulted as a form of the traffic and reactions of substances; 3) to construct a scheme of the programming control of the transport and morphogenetic processes.

All revealed regularities are supported by the observable examples.

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К СОЗДАНИЮ КОЛЛЕКЦИИ ГЕНОРЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ

Самарина Л.С.

Всероссийский научно-исследовательский институт цветоводства и
субтропических культур, Сочи
e-mail: samarinalidia@gmail.com

Развитие биотехнологий произвело революцию в области сохранения и использования генетических ресурсов. Благодаря культуре изолированных зародышей и протопластов *in vitro*, были преодолены генетические барьеры, и стали возможными отдаленные межвидовые скрещивания (Tomes, 1990; Withers, 1990). Молекулярно-генетические технологии позволили установить генетические связи между видами и составить характеристики гермоплазмы в коллекциях. Микроклонирование *in vitro* позволяет быстро размножать ценные образцы и безопасно проводить обмен элитными генотипами. Культура меристем и микропрививка в сочетании с методами терапии дают возможность оздоровить растения от патогенных вирусов, что особенно важно для вегетативно размножаемых генотипов (Withers, 1990).

Все эти преимущества биотехнологии можно реализовать в селекционных программах имея надежную базу. Этой базой является коллекция гермоплазмы видов и сортов растений, и, чем больше генетическое разнообразие в этой коллекции, тем выше ее селекционный потенциал для получения качественно новых форм с хозяйственно ценными признаками. Такие коллекции должны включать в себя не только окультуренные виды, но и их дикие родичи. Кроме полевой и тепличной коллекции в настоящее время важным стало сохранение геноресурсов *in vitro*, дающее известные преимущества. Важное место в создании генобанка *in vitro* занимает подготовка и регистрация коллекционных образцов, создание базы данных, что делает коллекцию надежной базой для селекционера. Перед регистрацией и включением образца в генобанк его статус, должен быть выверен.

Каждый образец, включаемый в генобанк должен иметь паспорт, в котором указаны название культуры, рода, вида, коллекционный номер, расположение в коллекции, страна происхождения, дата включения в коллекцию, фенология, источник получения, количество растений каждого генотипа. Для селекционных образцов необходимо также включить данные о родительских парах, от которых он произошел. Кроме того, каждый образец в коллекции должен иметь фитосанитарный сертификат в рамках внутренней фитосанитарной регуляции страны-держателя коллекции. Каждого образца в коллекции должно быть минимум три повторности (<http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/>).

Для характеристики образцов в генобанке *in vitro* ДНК маркеры, такие как AFLPs, SSRs and SNPs являются наиболее надежными. Они не только позволяют выявить одинаковые образцы в коллекциях, но и контролировать генетические отклонения, которые потенциально могут возникать при долгосрочном хранении *in vitro*.

При выполнении всех этих требований образцы могут пройти процедуру регистрации для включения в генобанк, которая заключается в присвоении коллекционного номера, внесении в базу данных в алфавитном или номерном порядке и внесении всех паспортных данных в систему документации коллекции.

In vitro коллекция ВНИИЦиСК насчитывает 87 видов и сортов, из которых 59 образцов – цветочно-декоративные культуры, 13 образцов – ягодные культуры, 6 видов природной флоры Западного Кавказа, 9 видов – чай и цитрусовые культуры. Разрабатываются методы ДНК-маркирования для характеристики образцов и определения их генетической стабильности при поддержке РФФИ.

BIOTECHNOLOGICAL APPROACHES TO PLANT GENETIC RESOURCES CONSERVATION

L.S. Samarina

Russian Research Institute of Floriculture and Subtropical Crops, Sochi

e-mail: samarinalidia@gmail.com

The development of biotechnology has made a revolution in conservation and utilization of genetic resources, and distant crossing become possible using embryo culture and protoplast culture, which help to overcome wide genetic barriers (Tomes, 1990; Withers, 1990). With the help of molecular techniques describing the genetic relationships between genotypes and complete characterization of germplasm in collections have become possible. Clonal micropropagation made propagation and exchange of elite genotypes more convenient and reliable than ever before. Micrografting technique together with therapies allow to release plants from pathogenic viruses, this is especially important for vegetatively propagated genotypes (Withers, 1990).

All of these benefits of biotechnology can be implemented in breeding programs when we have a basis – a germplasm collection of plant species and cultivars, and the more genetic diversity in this collection, the greater its potential for breeding for qualitatively new cultivars with agronomically valuable traits. These collections should include not only the cultivated species but also their wild relatives. In addition to field and greenhouse collections *in vitro* conservation of genetic resources is important, giving the well-known advantages. Preparation and registration of samples are important for *in vitro* genebank establishment, which makes the reliable basis for the breeder. Sample status must be verified prior to registration and inclusion in the genebank.

Each included sample in the genebank should have a passport. Minimum required passport data are the crop name, genus, species, collection number, location of sample in collection, country of origin, date of inclusion in the collection, phenology, the source of the sample and the number of plants of each genotype. The parents must also be enabled for the samples obtained from the breeding programs. Furthermore, each sample in the collection should have phytosanitary certificate within an internal regulation of the country. Plants and seeds in collection must have a minimum of three replicates (<http://croptgenebank.sgrp.cgiar.org/>).

DNA markers such as AFLPs, SSRs and SNPs are the most reliable to characterize the samples in the genebank. DNA markers can be used for revealing the identical samples in the collections as well as a tool to control the genetic changes that can potentially occur during the long-term storage *in vitro*.

If all these requirements are performed samples can be registered and included in the genebank, which is to assign the collection number, entry in the database in alphabetical order and submission of passport details in the genebank documentation.

In vitro collection RRIFSC includes 87 species and cultivars, of which 59 samples - ornamental crops, 13 samples - berries, 6 species of the Western Caucasus natural flora, 9 species - tea and citrus crops. The markers for DNA fingerprinting and genetic fidelity assessment in collection are under development and supported by RFBR.

МЕРНОСТЬ ЦВЕТКА И ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА НЕЕ

А.А. Синюшин

Биологический факультет МГУ имени М.В.Ломоносова, Москва

e-mail: asinjushin@mail.ru

Любое морфологическое описание растения, приводимое в определителях или иных источниках, представляет собой известного рода «усреднение». Это связано со значительной пластичностью морфогенеза растений и возможностью формирования однотипных органов (листьев, цветков), различающихся по строению в пределах одной особи, т.е. независимо от генотипа. Это относится и к мерности цветка, под которой понимают количество структур в круге (например, число чашелистиков или лепестков при их круговом расположении). Механизмы формирования мерности такие же, что и в случае вегетативных побегов, и имеют отношение к закономерностям листорасположения (филлотаксиса). Мерность цветка зачастую меняется в результате мутаций (например, приводящих к фасциации), но особый интерес представляют особенности нормального варьирования мерности в пределах одной особи.

В ходе представленной работы были проанализированы цветки 37 видов, относящихся к 23 семействам двудольных растений Европейской России. Сбор материала проводили так, чтобы минимизировать генетические различия (как правило, с одной особи). Отмечали положение цветка в соцветии, подсчитывали количество органов во всех кругах.

У подавляющего большинства видов были отмечены колебания мерности всех или части кругов цветка. В целом можно сформулировать следующие закономерности.

1. Терминальный цветок в закрытых соцветиях (на оси I порядка) обычно наиболее сильно уклоняется от «типичного» строения в сторону, как увеличения, так и уменьшения мерности (*Acer*, *Campanula*, *Ruta*, *Saponaria*). Вероятнее всего, это связано с необходимостью быстрого изменения размеров и формы апикальной меристемы при переходе от листовой серии вегетативного побега (обычно со спиральным филлотаксисом) к закладке кругов цветка. Этот процесс подвержен большему числу ошибок, чем при образовании латеральных цветков. У некоторых растений (*Lythrum*, *Ruta*) цветки на осях разных порядков регулярно имеют разную мерность.

2. Чем выше средняя мерность, тем более она склонна к флуктуациям. Так, чашечка, состоящая из димерных кругов (*Brassicaceae*), склонна к варьированию мерности в меньшей степени, чем пента-, гекса- и особенно гептамерная (*Trientalis*). Это можно объяснить в математических терминах, если предположить, что размеры примордиев органов цветка не меняются, а колебания мерности связаны лишь с изменением размеров флоральной меристемы (ФМ).

3. Зигоморфные цветки (*Balsaminaceae*, *Fabaceae*, *Lamiaceae*, *Plantaginaceae*) в целом оказались более стабильными, чем актиноморфные. Вероятно, существуют специальные механизмы, стабилизирующие ФМ в случае зигоморфии. В докладе обсуждается природа этих механизмов.

4. У культурных форм (сорта *Fragaria*, *Rubus*) стабильность цветка была меньшей, чем у дикорастущих родичей. Это связано с закреплением в генотипе мутаций, дестабилизирующих ФМ и, следовательно, приводящих к образованию более крупных цветков и плодов.

Работа частично поддержана РФФИ (проект № 15-04-06374).

FLORAL MERISM AND FACTORS AFFECTING IT

A.A. Sinjushin

Lomonosov Moscow State University, Biological Dept., Moscow
e-mail: asinjushin@mail.ru

Any morphological description of a plant comprises a certain kind of generalization. It deals with an outstanding degree of phenotypic plasticity in plants, together with a possibility to produce serial organs (leaves, flowers) which differ within the same individual, i.e. independent of genotype. This also applies to floral merism (merosity) which indicates a number of floral structures (e.g., sepals or petals) per whorl. Mechanisms of merism formation are the same as in vegetative shoots and related to phyllotaxis rules. Floral merism can be altered by some mutations (like ones causing floral fasciation) but the most intriguing thing is a normal merism variation within an individual.

During presented work, flowers of 37 species belonging to 23 dicot families were analyzed, all from European Russia. To reduce a genetic variation, flowers were preferentially collected from the same individual. Flower positions in inflorescence and number of structures in all domains were scored.

Most of species were characterized with merism fluctuations in all or several floral domains. The following regularities can be ruled out.

1. In closed inflorescences, a flower terminating 1st order axis is usually most deviating from “typical” morphology, having either increased or decreased merism (*Acer*, *Campanula*, *Ruta*, *Saponaria*). It is most probably connected with a necessity to change size and shape of apical meristem rapidly when shifting spiral phyllotaxis of frondose leaves to whorled initiation of floral phyllomes. This process is highly error-prone compared with the formation of lateral flowers. Some of plants (*Lythrum*, *Ruta*) normally exhibit position-dependent floral merism (flowers on different axes differ in morphology).

2. Increase of average merism leads to higher disposition to fluctuations. For example, a calyx composed of dimerous whorls (*Brassicaceae*) is more stable than penta-, hexa- and especially heptamerous (*Trientalis*) one. This phenomenon has a geometry-based explanation, if assume that primordia of floral structures have constant size and merism fluctuations are connected only with alterations in floral meristem (FM) sizes.

3. Monosymmetric flowers (*Balsaminaceae*, *Fabaceae*, *Lamiaceae*, *Plantaginaceae*) appeared more stable than polysymmetric. Some mechanisms probably exist which stabilize FM in case of monosymmetry. A nature of these mechanisms is discussed in report.

4. In cultivated plants (*Fragaria*, *Rubus*), floral stability was lower than in their wild relatives. This phenomenon is connected with introduction of mutations which decrease FM stability into genotypes of cultivars, thus obtaining larger flowers and fruits.

The work was partially supported by the Russian Foundation for Basic Researches (project no. 15-04-06374).

ФОТОСИНТЕЗ В СЕМЕНАХ ХЛОРОЭМБРИОФИТОВ

Г.Н. Смоликова

Санкт-Петербургский государственный университет

e-mail: g.smolikova@spbu.ru

В зависимости от наличия или отсутствия хлорофиллов в зародыше покрытосеменные растения делят на хлороэмбриофиты и лейкоэмбриофиты (Yakovlev, 1969; Яковлев, Жукова, 1973; Periasamy et al., 1986). Хлороэмбриофиты отличаются тем, что в процессе эмбриогенеза зародыши содержат фотохимически активные хлоропласты, которые обладают способностью к фотосинтезу (Ruuska et al., 2004; Puthur et al., 2013; Смоликова, Медведев, 2015). Основная функция хлоропластов заключается в генерации НАДФН и АТФ, которые расходуются на синтез запасных питательных веществ, в первую очередь жирных кислот (Ruuska et al., 2004; Allen et al., 2009). У лейкоэмбриофитов фотосинтез в зародышах не происходит, и они запасают питательные вещества за счет притока метаболитов из материнского растения, плодовых и семенных оболочек (Zhang et al., 2015).

Показано, что все основные фотосинтетические комплексы хлоропластов зеленых зародышей присутствуют в той же стехиометрии, что и у зеленых листьев, однако приспособлены к функционированию в условиях низкой освещенности (Asokanthan et al., 1997; Ruuska et al. 2004; Puthur et al., 2013; Allorent et al., 2015).

Особенность «темновых» реакций фотосинтеза у хлороэмбриофитов заключается в том, что основным источником углерода является не CO_2 воздуха, а сахароза, поступающая из материнского растения (Asokanthan et al., 1997; Ruuska et al., 2004). При образовании ацетил-СоА из пирувата происходит дополнительное выделение CO_2 , которое может вызывать подкисление цитозоля. Поэтому в семенах обнаружена высокая активность РуБисКО (Ruuska et al., 2004). Важно также, что в процессе фотосинтеза происходит выделение O_2 , что предотвращает развитие гипоксии и поддерживает митохондриальное дыхание (Weber et al. 2005; Borisjuk, Rolletschek, 2009; Tschiersch et al., 2011).

На поздних стадиях эмбриогенеза семена переходят в состояние покоя. Этот процесс сопровождается обезвоживанием, распадом фотосинтетического аппарата, деградацией Хл и превращением хлоропластов в пластиды, заполненные запасными питательными веществами. Известно, что все эти процессы находятся под контролем АБК-зависимого фактора транскрипции АВ13 (Clerkx et al, 2003; Delmas et al., 2013).

Однако часто Хл в семенах разрушаются не полностью. Причиной может являться генетическая гетерогенность семян, условия внешней среды и местонахождение на материнском растении (Батыгина, 2000; Matilla et al., 2005). Установлено, что присутствие не полностью разрушившихся Хл приводит к существенному снижению устойчивости семян к длительному хранению и абиотическим стрессорам (Смоликова и др., 2011).

Существуют также виды хлороэмбриофитов, у которых при созревании семян Хл совсем не разрушаются. Классическим примером являются зеленые семена *Pisum sativum* L. Зеленый цвет семян гороха определяется мутацией в генах *SGR* (*STAY-GREEN*), которые кодируют ферменты, участвующие в распаде Хл (Armstead et al., 2007). Особенности функционирования хлоропластов зародышей на поздних стадиях эмбриогенеза у таких видов растений еще предстоит выяснить.

PHOTOSYNTHESIS IN THE SEEDS OF CHLOROEMBRYOPHYTES

G.N. Smolikova

Saint Petersburg State University

e-mail: g.smolikova@spbu.ru

Depending on the presence or absence of chlorophylls in the embryos, the angiosperms are divided on the chloroembryophytes and leucoembryophytes (Yakovlev, 1969; Yakovlev, Zhukova 1973; Periasamy et al, 1986). The chloroembryophytes differ in that during the embryogenesis the embryos contain photochemical active chloroplasts, which have an ability to photosynthesis (Ruuska et al, 2004; Puthur et al, 2013; Smolikova, Medvedev, 2015). The main function of chloroplasts is to generate NADPH and ATP, which are consumed for the synthesis of reserve nutrients, first of all, fatty acids (Ruuska et al, 2004; Allen et al, 2009). The leucoembryophytes's embryos have no ability to photosynthesis, so they reserve the nutrients due to the inflow of metabolites from the parent plant, fruit and seed coats (Zhang et al., 2015).

It was shown that all major chloroplasts photosynthetic complexes in the green embryos have the same stoichiometry as in the green leaves, however, they are adapted to low light conditions (Asokanathan et al, 1997; Ruuska et al, 2004; Puthur et al, 2013; Allorent et al, 2015).

The specificity of "dark" photosynthesis in the chloroembryophytes is that not CO₂ from the air is considered to be the primary source of carbon, but sucrose, which is coming from the mother plant (Asokanathan et al, 1997; Ruuska et al, 2004.). During the formation of acetyl-CoA from pyruvate there is an additional release of CO₂, which can cause the cytosol acidification. Therefore, the high activity of Rubisco in the seeds was shown (Ruuska et al, 2004). Also, it is important that in the process of photosynthesis the generation of O₂ takes place, which prevents the development of hypoxia and supports the mitochondrial respiration (Weber et al 2005; Borisjuk, Rolletschek, 2009; Tschiersch et al, 2011).

At the later stages of embryogenesis, the seeds enter the dormancy state. This process is accompanied by the dehydration, disintegration of the photosynthetic apparatus, degradation of the chlorophyll, and transformation of the chloroplasts in the plastids with reserve nutrients. It is known that these processes are controlled by the ABA-dependent transcription factor ABI3 (Clerkx et al, 2003; Delmas et al, 2013).

Often, however, the chlorophyll in the seeds is not completely destroyed. This may be due to the genetic heterogeneity of seeds, environmental conditions, and the allocation on the mother plant (Batygina 2000; Matilla et al, 2005). It has been established that the presence of the residual chlorophylls leads to the significant reduction of seed tolerance to the long-term storage and abiotic stressors (Smolikova et al., 2011).

Also, there are types of chloroembryophytes that do not demonstrate the degradation of chlorophylls during the maturation. A classic example is the green seeds of *Pisum sativum* L. The green coloration of pea seeds is determined by the mutation in the genes *SGR* (*STAY-GREEN*), which encode the enzymes that are involved in the chlorophyll degradation (Armstead et al, 2007). The specificity of chloroplasts functioning in the embryos at the later stages of embryogenesis in these species is remains to be seen.

АПОМИКСИС У ГИБРИДОВ КУКУРУЗЫ С ГАМАГРАССОМ.

В. А. Соколов^{1,2}, П.А. Панихин¹.

¹ Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск

² Всероссийский институт растениеводства РАСХН, Санкт-Петербург

e-mail: sokolov@mcb.nsc.ru

В докладе обсуждаются результаты исследований, касающихся цитогенетического контроля апомиксиса у гамаграсса восточного (*Tripsacum dactyloides* – Td) и передаче кукурузе (*Zea mays* – Zm) его элементов путем гибридизации. Установлено, что гены, контролирующие апомиктическое развитие, косегрегируют с RFLP маркерами, локализованными в шести хромосомах. Для передачи агамоспермного размножения кукурузе проводили опыление ее тетраплоидной формы ($2n = 4x = 40$) пылью тетраплоидного гамаграсса ($2n = 4x = 72$). Минимальное число хромосом дикого сородича, необходимое для экспрессии апомиксиса у гибридов – 9.

Часть полученных в 1965 г. гибридов F1 ($2n = 56; 20Zm + 36Td$) экспрессировали признак апомиктического воспроизведения и поддерживаются нами до настоящего времени. Отсюда можно было предположить, что данный признак доминантен и отцовская форма гамаграсса по нему гетерозиготна. Позднее нам удалось установить, что два элемента апомиксиса – апомейоз и партеногенез - сегрегируют, т.е. генетически контролируются независимо. Так как созданные апомиктические гибриды имели 36 хромосом гамаграсса и были далеки по хозяйственным признакам от кукурузы, то встала проблема редукции части генетического материала дикого родителя, не имеющей отношения к контролю признака апомиксиса. Это возможно, поскольку апомиктические гибриды с небольшой частотой дают половое потомство (VI гибриды), чему предшествуют нормальное протекание мейоза и оплодотворение яйцеклетки. В этом случае у 56 хромосомных гибридов формируется зародышевый мешок, ядра которого имеют по 28 хромосом. При опылении диплоидной кукурузой образуются потомки с 38 хромосомами ($20Zm + 18Td$). В случае, когда нередуцированная яйцеклетка оплодотворяется, число хромосом в зиготе возрастает, и такого типа половое потомство называют VIII гибридами. Используя эту возможность, удалось создать серию апомиктических гибридных линий, имеющих разное число (от 2 до 6) полных геномов кукурузы ($x = 10$) и один геном гамаграсса ($x = 18$). Далее были выявлены несколько 39 хромосомных апомиктических гибридов ($30Zm + 9Td$), которые получили так же, как и ранее выделенные 38 хромосомные ($20Zm + 18Td$), благодаря редкому половому воспроизведению с редукцией хромосом и VI гибридизацией. Примечательно, что все независимо полученные 39 хромосомные линии имели внешне идентичные наборы из девяти хромосом гамаграсса.

APOMIXIS IN CORN-TRIPSACUM HYBRIDS

V. A. Sokolov^{1,2} P. A. Panikhin¹

¹ *Institute of Molecular and Cell Biology, Novosibirsk, Russia;*

² *All-Russian Institute of Plant Industry, St. Petersburg, Russia*

email: sokolov@mcb.nsc.ru

We have been studying the cytogenetic control of apomixis in gamagrass (*Tripsacum dactyloides*, Td) and transmission of its elements to maize (*Zea mays*, Zm) through hybridization. Investigation on gamagrass, has shown that the genes controlling apomictic development cosegregate with RFLP markers located in six chromosomes. For transferring the mode of asexual reproduction through seeds to maize, its tetraploid form ($2n = 4x = 40$) was pollinated with pollen of tetraploid gamagrass ($2n = 4x = 72$). Some of the F1 hybrids ($2n = 56$; 20Zm + 36Td) obtained in the year 1965 expressed the apomictic mode of reproduction and have been maintained until the present time. This allowed us to suppose that this character was dominant, and the paternal form was heterozygous in its genes. Later, we found that two elements of apomixis (apomeiopsis and parthenogenesis) segregated; i.e., their genetic controls were independent from each other. Those apomictic hybrids had 36 gamagrass chromosomes and were far from maize with respect to their economic characters, which raised the problem of reducing the part of the genetic material of the wild parent that was not related to the control of apomixis. It is possible because apomictic hybrids produce, though rarely, sexual offspring (BII hybrids), which is preceded by normal meiosis and fertilization of the egg cell. In this case, 56-chromosome hybrids form an embryosack whose nuclei have 28 chromosomes. Pollination by diploid maize yield offspring with 38 chromosomes (20Zm + 18Td). If an unreduced egg cell is pollinated, the number of chromosomes in the zygote increased; this sexual offspring is termed BIII hybrids. We used this possibility to obtain a series of apomictic hybrid lines carrying different numbers (from two to six) complete maize genomes ($x = 10$) and one gamagrass genome ($x = 18$). Afterwards, we identified several 39-chromosome apomictic hybrids (30Zm + 9Td), which, like the 38-chromosomes (20Zm + 18Td) ones obtained earlier resulted from the rare sexual reproduction involving chromosomes reduction (BII hybridization). Note that all 39 chromosome lines, which were obtained independently, had apparently identical sets of nine gamagrass chromosomes. Subsequent studies showed that these nine gamagrass chromosomes were the minimum necessary for maintaining apomixis: the loss of any of them led to restoration of sexual reproduction. Comparison of the results of the study on the genetic control of apomixis in gamagrass, where six linkage groups were found to be necessary for its expression, and the nine chromosomes of the wild parent in apomictic hybrids leads to the assumption that some additional hereditary elements are required along with the major genes of asexual reproduction through seeds. Probably, these elements are components of the asexual reproduction character; however, they may play a role in maintaining the transmission of the nine gamagrass chromosomes as a group. These data indicate that apomixis in the hybrids is under polygenic control and requires nine chromosomes of the wild parent for its expression. Thus, the problem of creating apomictic maize has become complicated, because the presence of a large amount of gamagrass genetic material considerably affects the habitus of the plants. They have multiple stems and multiple ears, the growth of additional ears being sometimes undetermined. However, this problem is solvable, because the hybrids are characterized by dynamic genomes and respond to selection as readily as maize does. For example, we have breed a single stem maizoid apomictic hybrid with $2n = 58$ (40Zm + 18Td) that is phenotypically almost indistinguishable from maize. On the other hand, the existing material can be used as a basis for obtaining commercial foraging hybrids with a high green mass yield per unit area and exceeded forage value in comparison with maize.

**РЕДУКЦИОННЫЕ ПРОЦЕССЫ В ЭВОЛЮЦИИ ГИНЕЦЕЯ
ПОКРЫТОСЕМЕННЫХ РАСТЕНИЙ: МОНОМЕРИЯ И ПСЕВДОМОНОМЕРИЯ**
**Д.Д.Соколов, П.В.Карпунина, М.С.Нуралиев, А.А.Оскольский,
М.В.Ремизова, К.И.Фомичев**

*Биологический факультет Московского государственного университета имени
М.В.Ломоносова, Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург,
Department of Botany and Plant Biotechnology, University of Johannesburg
e-mail: sokoloff-v@yandex.ru*

Типология гинеев покрытосеменных растений и выявление направлений их эволюционных преобразований – одни из наиболее сложных вопросов сравнительной и эволюционной морфологии. Гинееи различаются по числу плодолистиков, а также наличию или отсутствию и способу срастания между плодолистиками. Наличие нескольких свободных плодолистиков – исходное состояние для покрытосеменных. Мы рассматриваем вопрос о соотношении мономерных и псевдомономерных гинееев. Традиционно предполагалось, что мономерные гинееи возникали из олигомерных апокарпных, а псевдомономерные – как результат редукции ценокарпных гинееев, в ходе которой сохранялся только один фертильный плодолистик. Эти взгляды развивались в контексте представлений о преимущественной необратимости переходов от апокарпии к ценокарпии в ходе эволюции покрытосеменных. Молекулярно-филогенетические данные указывают, однако, на вторичный характер апокарпии в таких известных семействах как розоцветные, бобовые, пальмы. Мы предлагаем считать мономерными гинееи, возникшие при резком (без переходных форм) изменении меризма гинеея до 1, а псевдомономерными – такие, которые возникли путем постепенной стерилизации и редукции всех плодолистиков, за исключением одного; при этом мы предлагаем не учитывать наличие или отсутствие конгенитального срастания между плодолистиками в гинеее предковых форм. Выявление случаев псевдомономерии в конкретных группах может быть затруднено из-за отсутствия рудиментов стерильных плодолистиков у современных форм, а также из-за возможной ошибочной интерпретации каких-либо необычных особенностей строения плодолистика (например, наличия большего числа проводящих пучков) как рудиментов стерильных плодолистиков. Как среди двудольных, так и среди однодольных растений известны гинееи, в которых фертильный плодолистик не имеет рыльца, и пыльца прорастает на рыльце стерильного плодолистика (или плодолистиков). Особый тип гинеея возникает при полной утрате индивидуальности сросшихся плодолистиков; это явление мы предлагаем называть миксомерией.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, проект № 15-04-05836.

REDUCTION IN EVOLUTION OF ANGIOSPERM GYNOECIA: MONOMERY AND PSEUDOMONOMERY

D.D. Sokoloff, P.V. Karpunina, M.S. Nuraliev, A.A. Oskolski, M.V. Remizowa, K.I. Fomichev

*Biological Faculty of M.V. Lomonosov Moscow State University, V.L. Komarov Botanical Institute of Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Department of Botany and Plant Biotechnology, University of Johannesburg
e-mail: sokoloff-v@yandex.ru*

Classification of angiosperm gynoecia and assessing pathways of their morphological evolution are among the most problematic issues of comparative and evolutionary morphology. Angiosperm gynoecia vary in carpel number and presence or absence and mode of intercarpellary fusion. Non-monomerous apocarpy is plesiomorphic in angiosperms. We review issues related to discussion on monomerous and pseudomonomerous gynoecia. It is widely accepted that monomery has evolved from non-monomerous apocarpy whereas pseudomonomery has appeared as a result of reduction of syncarpous gynoecia to retain only one fertile carpel. These views implied that a transition from apocarpy to syncarpy is usually irreversible in angiosperm evolution. However, molecular phylogenetic data indicate the secondary nature of apocarpy in such families as Rosaceae, Leguminosae and Areacaceae. We propose to use the term monomery for gynoecia appeared through an abrupt (with no intermediate forms) change of gynoecium merism leading directly to single carpel. We use the term pseudomonomery for gynoecia that undergone a multistep process of sterilization and reduction of all carpels but one, irrespectively to the presence of congenital carpel fusion in presumptive ancestral gynoecium. Technical recognizing of pseudomonomery in particular groups can be problematic because of possible loss of any traits of rudimentary sterile carpels and extinction of intermediate forms and possible misinterpreting unusual carpel features (e.g., additional vascular bundles) as rudiments of sterile carpels. A peculiar kind of pseudomonomery with one carpel having fertile ovule and another (or others) having receptive stigma is recorded in both, eudicots and monocots. We propose a term 'mixomery' for a loss of carpel individuality in non-monomerous syncarpous gynoecia. The study is supported by RFBR (project 15-04-05836).

ФЕНОМЕН «СИАМСКИХ ЗАРОДЫШЕЙ» У РАСТЕНИЙ, ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ В ЭВОЛЮЦИИ И ПРИКЛАДНОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Титова Г. Е.

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия
e-mail: galina_titova@mail.ru

Термин «Сиамские зародыши» (СЗ) применительно к растениям введен С. Fischer et al. (1997) для обозначения полимерных зародышей пшеницы с множественными, нередко слившимися в разной степени органами – меристемами побегов, щитками, колеоптилями и иногда первичными корнями. Данные полимерные структуры были индуцированы воздействием ингибиторов полярного транспорта ауксина (ИПТА - НФК, кверцетин) на изолированные зародыши *Triticum aestivum in vitro* (в глобулярной стадии и стадии перехода к органогенезу) и объединены авторами в класс фенотипов «Множественные меристемы побега». В зависимости от числа и топографии органов выделены 2 группы фенотипов: «СЗ спина-к-спине» (с 2-5 щитками, обращенными друг к другу дорсальными сторонами, с одним, а иногда с двумя или несколькими первичными корнями) и «Сердечковидные СЗ» (обычно с двумя щитками, обращенными друг к другу вентральными сторонами или расположенными линейно, чаще с одним, реже двумя корнями). В случаях образования нескольких корней составляющие полимерные структуры единицы оставались сросшимися друг с другом в проксимальной части или (в чрезвычайных случаях) – лишь в области щитков. Также при данном воздействии формировались зародыши только с двумя объединенными щитками и одним первичным корнем – класс фенотипов «Множественные щитки», причем между фенотипами обоих классов наблюдались переходы. Согласно авторам, тип и частота фенотипов определялись концентрацией ингибитора, а физиологический механизм их возникновения – нарушением полярного транспорта ауксинов при становлении билатеральной симметрии зародыша.

Образование полимерных зародышей с множественными органами отмечено и у других растений (некоторых двудольных, однодольных покрытосеменных, голосеменных) – обычно при воздействии на соцветия, семена или экспланты *in vitro* различных обработок (ростовых веществ, ИПТА, мутагенов), реже – как спонтанное возникновение в семени (Nishimura, 1922; Naccius, 1955; Dogra, 1978; Durzan, 2008, и др.). Предложены различные трактовки природы полимерных зародышей: как результат «вегетативной полиэмбрионии» (растительный педогенез, возникающий партеногенетически под действием ростовых веществ; Яковлев, Снигирев, 1954) или задержанной кливажной полиэмбрионии (Naccius, 1955; Erdelska, Vidovencova, 1994). Fischer et al. (1997) определили полимерные сиамские зародыши с одним первичным корнем как частичное умножение зародышевых осей, а с множественными корнями – как их полное умножение (полиэмбриония).

В ходе исследования генезиса полимерных микроспориальных эмбриоидов пшеницы класса фенотипов «Множественные меристемы побега» (индуцированных воздействием 2,4-Д на пыльники *in vitro*) установлен структурный механизм их возникновения: кливажная полиэмбриония, сопровождающаяся фасциациями – радиальной («СЗ спина к спине»), линейной и кольцевой («Сердечковидные СЗ» с линейным расположением единиц и с их вентральным обращением) (Titova et al., 2016).

Обсуждается вопрос значительных аналогий СЗ у растений, животных и человека, а также возможная роль феномена СЗ в эволюции зародыша семенных растений: становление ди-, поли- и монокотилии через последовательные этапы полимеризации нескольких зародышей, инверсии и слияния их органов на основе фасциаций разных типов. Рассмотрено значение данных по морфогенезу СЗ для прикладных целей: получение растений с измененными признаками, влияние аномалий развития на жизнеспособность регенерантов.

PHENOMENON OF “SIAMESE EMBRYOS” IN PLANTS, A POSSIBLE ROLE IN EVOLUTION AND APPLIED SIGNIFICANCE

Titova G. E.

Komarov Botanical Institute of RAS, Sankt Petersburg, Russia

e-mail: galina Titova@mail.ru

The term “Siamese embryos” (SE) in respect to the plants was introduced by C. Fischer et al. (1997) for designation of polymeric wheat embryos with multiple, often fused in various degree organs – shoot meristems, scutella and sometimes with the primary roots. These polymeric structures were induced by the inhibitors of polar auxin transport (IPAT) action (NFA, quercetin) on the isolated embryos of *Triticum aestivum in vitro* (at globular and transitional stages) and united in the class of phenotypes «Multiple shoot meristems». Depending on the organ quantity and topography, 2 groups of phenotypes were allocated: «back-to-back SE» (with 2-5 scutella, dorsally oriented at each other, with one, sometimes with two or several primary roots) and “heart-shaped SE” (usually with two scutella, ventrally directed at each other, or situated in line, frequently with one, rare with two roots). In the cases of formation of several roots, the units consisting of the polymeric structures was united in their proximal parts, or (in extreme cases) – in the field of scutella only. At the same action of IPAT the embryos with only two fused scutella and one primary root were obtained – the class of phenotypes “Multiple scutella”, and the continuous transitional states between both classes of phenotypes were observed. According to the authors, the type and the frequency of phenotypes depended on the inhibitor concentrations, and the physiological mechanism of their arising is determined by the disturbance of the polar auxin transport during the establishment of embryo bilateral symmetry.

The formation of polymeric embryos with multiple organs was noted in other plants (Dicots, Monocots, some Gymnosperms) – usually at the action of different treatments on inflorescences, seeds or explants *in vitro* (synthetic auxins, IPAT, mutagens), more rarely – as their spontaneous arising in the seed (Nishimura, 1922; Haccius, 1955; Dogra, 1978; Durzan, 2008, and others). The different interpretations of the polymeric embryos nature were proposed: the result of “vegetative polyembryony” (plant pedogenesis, originating partenogenetically at the action of synthetic auxins; Yakovlev, Snigirev, 1954), late cleavage polyembryony (Haccius, 1955; Erdelska, Vidovencova, 1994). Fischer et al. (1997) defined the polymeric siamese embryos with single primary root as the a partial multiplication of embryonic axes, whereas the same embryos with multiple roots – as its full multiplication (polyembryony).

During the analysis of the genesis of wheat polymeric microsporial embryoids from the class of phenotypes “Multiple shoot meristems” (induced by 2.4-D in the anther culture *in vitro*) the structural mechanism of its originating was established: the cleavage polyembryony, accompanied by fasciations – radial (“back-to-back SE”), flat and ring (“heart-shaped SE” with linear arrangement of units and its ventral converting) (Titova et al., 2016).

The question of significant analogies between the SE of plants, animals and humans is discussed, and also a possible role of the SE phenomenon in the evolution of seed plants embryo: the establishment of di-, poly- and monocotyly via the step-by-step stages of several embryos polymerization, inversions and fusion of their organs on the base of the different fasciation types. The importance of data on SE morphogenesis for applied aims is considering (the obtaining of plants with the new characters, the influence of developmental abnormalities on the plant-regenerants viability).

ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССА ДВОЙНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ У *DIOSCOREA NIPPONICA* И *D. CAUCASICA* (*DIOSCOREACEAE*)

А.А. Торшилова

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург

e-mail: altorsh62@mail.ru

Несмотря на успехи, достигнутые в области понимания механизмов двойного оплодотворения у цветковых растений, многие его аспекты до конца не познаны. Несомненный интерес представляет выявление возможной взаимосвязи между типом оплодотворения и типами развития женского гаметофита и эндосперма (Герасимова-Навашина, 1971; Batygina, 2006, Шамров, 2015). Цель работы состояла в детальном сравнительном анализе процесса оплодотворения у двух видов рода *Dioscorea* L. (*D. nipponica* и *D. caucasica*), контрастирующих по типу развития зародышевого мешка (*D. nipponica* - Polygonum-тип, *D. caucasica* - Drusa-тип), но обладающих сходным типом эндоспермогенеза (нуклеарный с признаками гелобияльного) (Торшилова, Титова, 2010; Торшилова и др. 2016).

Оплодотворение яйцеклетки и формирование зиготы у обоих видов осуществляется сходно. Объединение гамет происходит до начала митоза (G1-тип кариогамии), что соответствует премитотическому типу оплодотворения (Герасимова-Навашина, 1971; Carmichael, Friedman 1995, 1996).

Процесс тройного слияния протекает различно. Различия касаются положения полярных ядер в центральной клетке и их состояния на момент оплодотворения. У *D. nipponica* ядра обычно расположены вблизи антипод. В ходе движения в цитоплазме центральной клетки спермий, вероятно, завершает свой митотический цикл и к моменту контакта с полярными ядрами находится в состоянии интерфазы, сливаясь с ними в начале митоза. При этом нам ни разу не удалось выявить наличия интерфазного состояния первичного ядра эндосперма, а наблюдалось только его деление. Таким образом, для центральной клетки *D. nipponica*, вероятно, характерно наличие М-типа кариогамии (по Батыгина, Васильева, 1997) и, соответственно, промежуточного типа оплодотворения. В отличие от этого, у *D. caucasica* положение полярных ядер в центральной клетке нестабильное, связанное с их постоянной миграцией вдоль микропиларно-халазальной оси. При этом нам удалось наблюдать первичное ядро эндосперма в состоянии интерфазы и его последующее деление. Таким образом, тройное слияние у *D. caucasica* осуществляется по премитотическому типу.

По мнению ряда авторов (Плющ 1992; Russell, 1992; Vasilyeva, Batygina, 1997; Кордюм, 2008), различия в типах оплодотворения свидетельствуют лишь о разной скорости прохождения данного процесса. Согласно полученным нами данным, у *D. nipponica* более медленный промежуточный тип оплодотворения при тройном слиянии сочетается с Polygonum-типом развития женского гаметофита. И, наоборот, у *D. caucasica* более быстрый премитотический тип тройного слияния сочетается с онтогенетическим ускорением развития гаметофита Drusa-типа, а также эндосперма. Выявленные закономерности у изученных видов, по-видимому, свидетельствуют о существовании взаимосвязи между особенностями развития их зародышевого мешка, процесса оплодотворения и эндосперма.

**PECULIARITIES OF DOUBLE FERTILIZATION IN
DIOSCOREA NIPPONICA AND *D. CAUCASICA* (DIOSCOREACEAE)**

A.A. Torshilova

Komarov Botanical Institute Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg

e-mail: altorsh62@mail.ru

In spite of the progress made in the understanding of the mechanisms of double fertilization in flowering plants, many aspects of it are not investigated completely. The identification of possible relationships between the type of fertilization and development of the female gametophyte and endosperm is of great interest (Gerassimova-Navashina, 1971; Batygina, 2006, Shamrov, 2015). The aim of this work consisted in a detailed comparative analysis of the process of fertilization in two species of the genus *Dioscorea* L. (*D. nipponica* and *D. caucasica*), contrasting by the development of the embryo sac (*D. nipponica* - Polygonum-type, *D. caucasica* - Drusa-type), but with similar type of endospermogenesis (nuclear with globular signs) (Torshilova, Titova, 2010; Torshilova 2016, etc.).

Fertilization and zygote formation in both species is similar, the gametes fusion occurs before the beginning of mitosis (G1-type of karyogamy), which corresponds to premitotic type of fertilization (Gerassimova-Navashina, 1971; Carmichael, Friedman 1995, 1996).

Process of triple fusion occurs in different ways. The differences relate to the position of the nuclei in the central cell and their condition at the time of fertilization. In *D. nipponica* nuclei usually located near the antipodes. The sperm during the movement in the cytoplasm of the central cell, probably, completes its mitotic cycle, and by the time of contact with the polar nuclei is in interphase, fusing with them in the beginning of mitosis. It should be noted that we failed to identify the presence of interphase state in the primary nucleus of the endosperm, only divisible was seen. Thus, central cell in *D. nipponica* is probably characterized by the presence of the M-type of karyogamy (Batygina, Vasilyeva, 1997) and, consequently, an intermediate type of fertilization. In contrast, the position of the polar nuclei of *D. caucasica* is unstable, also due to their migration along the micropylar-halazal axis. But still, we could identify a primary nucleus of endosperm in interphase, and its subsequent dividing. Thus, the type of fertilization in triple fusion in *D. caucasica* is premitotic.

The differences in the types of fertilization, according to some authors (Pliuchsh, 1992; Russell, 1992; Vasilyeva, Batygina, 1997; Kordium, 2008), indicates only the different speed of this process. According to our data, in *D. nipponica* the slower intermediate type of fertilization in triple fusion is combined with Polygonum-type of development of the female gametophyte. Conversely, in *D. caucasica* faster premitotic type in triple fusion is combined with ontogenetic acceleration of the gametophyte development of Drusa-type, as well as the endosperm. The regularities of the studied species seem to indicate the existence of linkage between peculiarities of the development of the embryo sac, fertilization and endosperm.

ЭМБРИОГЕНЕЗ ПОЛОВЫХ (В ЕСТЕСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ) И СОМАТИЧЕСКИХ ЗАРОДЫШЕЙ ХВОЙНЫХ *IN VITRO*

И.Н. Третьякова

Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН

e-mail: culture@ksc.krasn.ru;

Развитие половых зародышей, развивающихся в естественных условиях, и соматических зародышей в культуре *in vitro* подчиняется закономерностям эмбриогенеза, характерным для высших растений (Батыгина 1999). В развитии инициальных клеток половых и соматических зародышей наблюдается много общих признаков. Зигота и соматическая клетка, ставшая на путь эмбриогенеза, уже перед делением проявляют полярность, имеют большую вакуоль и ядро, смещенное к апикальному полюсу клетки.

У хвойных первое и следом за ним идущее второе деление зиготы происходят в центре архегония с образованием четырех одинаковых свободных ядер проэмбрио, которые двигаются к основанию архегония, где формируется шестнадцатиклеточный проэмбрио, состоящий из одинаковых клеток, расположенных в четыре этажа (по четыре клетки в каждом) (USE тип) (Singh, 1978). Через 7-10 дней после оплодотворения четыре клетки предпоследнего ряда (eS) начинают интенсивно растягиваться до 200-300 мкм в длину и продвигают клетки нижнего ряда (e) в коррозийную полость женского гаметофита. Таким образом, формируется четыре первичных суспензора и четыре инициали эмбрио. Растяжение клеток суспензора идет с неодинаковой скоростью и инициальные клетки разобщаются, что приводит к кливажной эмбрионии (Третьякова, 1990). Необходимым условием для запуска соматического эмбриогенеза *in vitro* у хвойных, является растяжение клеток зародыша до 200 мкм и их асимметричное деление, которое индуцируется ауксином (2.4- Д). В результате образуется инициальная клетка эмбрио и эмбриональная трубка.

Таким образом, асимметричное деление и полярность являются основными критериями, определяющими переход клеток на путь эмбриогенеза: соматического или зиготического. Далее, процесс развития половых и соматических зародышей идет сходно. У тех, и других формируются две группы клеток – эмбриональные клетки и эмбриональные трубки. Из эмбриональных клеток формируются эмбриональные глобулы, а из эмбриональных трубок - дополнительные эмбриональные трубки, слагающие суспензор. Следовательно, как у зиготических, так и соматических зародышей различаются две структурные единицы, одна из которых образует зародыш, а другая эмбриональные трубки и, в последствии, клетки суспензора. Увеличение числа соматических зародышей *in vitro* идет через расщепление глобулярного зародыша и пролиферацию клеток суспензора.

Общность морфогенетических процессов, лежащих в основе развития половых и соматических зародышей хвойных видов, еще раз подтверждает концепцию о параллелизме их развития *in vivo* и в культуре *in vitro* (Батыгина 1999).

У хвойных растений заложены несколько возможных путей для реализации репродуктивного потенциала: соматический эмбриогенез и полиэмбриония (в том числе и кливажная). В экспериментальных условиях культуры *in vitro*, в основном наблюдается соматический эмбриогенез.

EMBRYOGENESIS OF SEXUAL AND SOMATIC CONIFER EMBRYOS IN VIVO AND IN VITRO, RESPECTIVELY

I.N. Tretyakova

*V.N. Sukachev Institute of Forest, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences,
Krasnoyarsk, Russia,
e-mail: culture@ksc.krasn.ru*

The development of sexual embryos found in natural conditions and of somatic embryos in *in vitro* cultures follows the embryogenesis mechanisms characteristic of higher plants (Batygina 1999). The development of the initial cells of sexual embryos has much in common with that of the cells of somatic embryos. The zygote and somatic cell involved in embryogenesis had, as early as before division, big vacuoles and nuclei shifted to either of the cell end.

In conifers, the first and second divisions of zygote occurred in the center of archegonium with the formation of four similar free proembryo nuclei. The free nuclei moved to the base of archegonium where a 16-celled proembryo was formed that consisted of similar cells arranged as four rows, one over another, with four cells in each row (USE type) (Sing 1978). On the 7th-10th day after fertilization, the four cells of the last but one row (eS) began to elongate intensively to 200-300 μm and to push the cells of the lower row (e) out and into the corrosive cavity of the female gametophyte. As a result, four primary suspensors and four embryo initials were formed. The elongation of suspensor cells occurred at different rates and the initials became separate. Cleavage took place (Tretyakova 1990). For somatic embryogenesis to start in conifer species, the elongation of the somatic cells of a zygotic embryo to 200 μm and their asymmetric division were necessary. The elongation and division was achieved by applying auxin (2,4-D and 6-BA). As a result, the embryo initial and embryonal tube developed.

Asymmetric division and polarity are thus the major factors accounting for the transition of cells to zygotic or somatic embryogenesis. Then, zygotic and somatic embryos develop in a similar way. Two cell groups – embryonal cells and embryonal tubes – are formed in both embryo types. Embryonal cells form embryonal globules and embryonal tubes produce additional embryonal tubes that make up suspensor. The multiplication of somatic embryos occurs through globule cleavage and suspensor cell proliferation.

Similarity between the morphogenetic processes constituting the basis of the development of zygotic and somatic embryos in conifers confirms the concept of parallelism of their development in natural conditions and in *in vitro* cultures (Batygina, 1999).

Conifer plants could reproduce in a number of ways: asexual appearance of embryos, polyembryony, and cleavage. Their reproductive potential showed a wide range of realizations, mainly through somatic embryogenesis, for *in vitro* cultures.

МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ СЕМЕНИ И АРИЛЛУСА *EUPHORBIA SEGUERIANA*

Н.А. Трусов

Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, Москва

e-mail: n-trusov@mail.ru

В семействе *Euphorbiaceae* Juss., насчитывающем более 200 родов, одним из характерных признаков представителей является наличие ариллуса. Считается, что в большинстве случаев, это не фуникулярный ариллус, а мясистый микропилярный вырост – карункула (экзостомальный ариллус). Есть сведения, что карункула у представителей *Euphorbiaceae* примыкает к обтуратору (Комар, 1992). Ранее было предположено, что ариллус *Euphorbia amigdaloides* L. отрастает от обтуратора, т.е. является обтураторным ариллусом (Трусов, 2014).

Данное исследование продолжает изучение плодов представителей рода *Euphorbia* L., семена которых имеют ариллусы. Необходимо отметить, что ариллусы наблюдаются не у всех видов рода. Объектом послужили плоды *E. segueriana* Neck., собранные в Карадагском природном заповеднике в 2014 г.

Семена эллипсоидальные, светло-коричневые, с мелкоячеистой поверхностью, около 4 мм длиной и 2,5 мм в диаметре. Семенная кожура из 5 слоев клеток. Наружный слой представлен относительно крупными сфероидальными тонкостенными клетками с прозрачным содержимым. Его подстилает слой мелких прозрачных паренхимных клеток, не имеющих четкой формы и содержащих сферокристаллы. Ниже следует упорядоченный слой таблитчатых сильно уплощенных в радиальном направлении клеток, также прозрачных. Основную часть семенной кожуры формируют косо-радиально вытянутые склереиды, окрашенные в светло-коричневый цвет. Между таблитчатыми клетками и склереидами встречаются паренхимные уплощенные клетки. Внутренний слой семенной кожуры представлен радиально очень сильно уплощенными клетками с прозрачным содержимым. В литературе (Mandl, 1926) этот слой иногда называют «внутренняя семенная оболочка» или «пленка». Семенная кожура *Euphorbia* весьма разнообразна по строению. Из описанных ранее видов, семенная кожура *E. segueriana* сходна с таковой у *E. pepus* L. (Райлян, 1973).

Клетки эндосперма и зародыша округлые, заполнены жировыми включениями.

Ариллус *E. segueriana* располагается на микропилярном конце семени. Он желтоватый, мелкий, около 1 мм шириной и 0,5 мм высотой. Ариллус прижат к семени и по форме представляет собой «бабочкоподобную» структуру. В отличие от ариллуса *E. amigdaloides*, он сжатый и состоит только из эпидермальных клеток. Возможно, клетки паренхимы разрушаются в процессе его развития. Эпидермальные клетки полигональные, с кутикулой, толстыми клеточными стенками, ядрами и зернистыми включениями, наблюдаемыми по периферии клеток (вероятно пластидами). Жировые включения в них не обнаружены. Ариллус прикрепляется к семени тяжом вытянутых тонкостенных плотно расположенных клеток. Прикрепление к семени точечное, локальное, в центре места обрастания ариллусом семени. Вероятно ариллус *E. segueriana* также как и *E. amigdaloides* имеет обтураторное происхождение. Функционально ариллус *E. segueriana* вряд ли участвует в распространении семян: для вскрывания плодов ариллус слишком сухой, а для привлечения агентов распространения семян мало привлекателен, вследствие отсутствия сочной паренхимы и жировых включений в клетках. Это, вероятно, может указывать на то, что ариллус данного вида *Euphorbia* выполняет свои функции только на ранних этапах развития семени или является рудиментом.

MORPHOLOGO-ANATOMICAL STRUCTURE OF SEEDS AND ARIL *EUPHORBIA SEGUERIANA*

N.A. Trusov

N.V. Tsitsin Main Botanical Garden Russian Academy of Sciences, Moscow

e-mail: n-trusov@mail.ru

The *Euphorbiaceae* Juss. family with more than 200 genera, has a characteristic feature – the presence of aril. It is believed that in most cases, it is not funicular aril, but fleshy micropyle's outgrowth – caruncle (exostome-aril). There are reports that in *Euphorbiaceae* the caruncle adjacent to the obturator (Komar, 1992). Previously it was assumed that aril of *Euphorbia amigdaloides* L. grows from the obturator, i.e. is obturator-aril (Trusov, 2014).

This study continues the research of the fruit *Euphorbia* L., with arilated seeds. The object served as fruits of *E. segueriana* Neck., collected in Karadag nature reserve in 2014.

Seeds ellipsoidal, light brown, with small mesh surface about 4 x 2,5 mm. Testa of 5 cells layers. The outer layer is a relatively thin-walled large spheroidal cells with clear content. It underlies by a layer of small transparent parenchyma cells containing spherocrystals. The following is a layer of tabular much radially flattened cells, also transparent. The main part of the seed coat is formed obliquely radially extended sclereids, of a light brown color. Between tabular cells and sclereids found parenchymal flattened cells. The inner layer of the seed coat is presented by radially very flattened cells with transparent content, this layer is sometimes called "the inner seed coat" or "membrane"(Mandl, 1926). Testa in *Euphorbia* structurally is very diverse, in *E. segueriana* it is similar to *E. peplus* L. (Railean, 1973).

Endosperm and embryo cells are rounded and filled with oil inclusions.

Aril *E. segueriana* located on the micropyle end of the seed. It is yellowish, small, 1 x 0,5 mm. Aril pressed to seed and "butterfly"-shaped. Unlike aril *E. amigdaloides*, it is compressed and consists only of epidermal cells. Perhaps parenchyma cells are destroyed during its development. Epidermal cells polygonal, with the cuticle, thick cell walls, nucleus and granular inclusions on the periphery of the cell (probably plastids). Liposomes were found. Aril is attached to the seed by bundle of elongated thin-walled cells, in the center of the place aril fouling seed. Probably, aril of *E. segueriana* as well as *E. amigdaloides* has obturator origin. Functionally aril *E. segueriana* is hardly involved in the dissemination of seeds: for dehiscence aril is too dry, and for attracting seed dissemination agents isn't attractive enough, due to the lack of fleshy parenchyma and oil inclusions in the cells. This can probably indicates that this type of aril performs its functions only at the early stages of development of the seed or is rudimentary.

ЗАВИСИМОСТЬ СТРОЕНИЯ ПЫЛЬЦЫ КУКУРУЗЫ ОТ ПЛОИДНОСТИ РАСТЕНИЙ

О.С. Трушелева, Л.П. Лобанова, А.Ю. Колесова

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, Саратов

e-mail: vtoroe-dihanie@mail.ru, lobanova-lp@yandex.ru

С помощью экспериментальной полиплоидии и гаплоидии получены новые сорта многих экономически значимых культур. Однако переход на другой уровень плоидности часто приводит к снижению фертильности и завязываемости семян. Изучение развития и строения пыльцы позволяет выявить причину мужской стерильности у растений различной плоидности.

Нами было проведено исследование особенностей строения пыльцы и ее морфометрических характеристик у гаплоидных, диплоидных, триплоидных и тетраплоидных форм кукурузы. Все 4 формы были созданы на основе генома линии АТ.

Между выборками растений разной плоидности зарегистрированы четкие различия по качеству пыльцы. Максимальное количество пустой и дегенерирующей пыльцы обнаружено у гаплоидных растений (до 70 %). Триплоидные растения в среднем содержат 22% дегенерирующей пыльцы. Однако у триплоидов образуется наибольшее количество выполненной пыльцы аномального строения (18%). Зарегистрированные в разных вариантах аномалии пыльцы представлены двумя основными типами: остановкой развития на ранних стадиях и увеличением числа ядер и клеток. Соотношение типов аномальных пыльцевых зерен также зависит от плоидности растений. У гаплоидов все аномальные пыльцевые зерна 1-ядерные. Достаточно часто 1-2-ядерные пыльцевые зерна встречаются и в других вариантах, но у диплоидов и тетраплоидов с частотой примерно в 1 % регистрируется пыльца с дополнительными спермиями или с двумя вегетативными ядрами. У триплоидов спектр отклонений в развитии пыльцы значительно шире, а количество разных вариантов многоядерной пыльцы достигает 6 %. Возрастание уровня плоидности приводит к увеличению размера пыльцы и размаха изменчивости пыльцевых зерен по диаметру. Самая мелкая пыльца с минимальным размахом изменчивости выявлена у гаплоидов. Самая крупная пыльца встречается у тетраплоидов, а для триплоидов характерен широкий диапазон изменчивости диаметра пыльцевых зерен.

Таким образом, по дефектности пыльцы доминируют гаплоидные и триплоидные растения, для которых характерна высокая несбалансированность хромосомного набора. Различия в соотношении количества и качества дегенерирующей и аномальной пыльцы между этими двумя вариантами показывают, что при формировании дефектной пыльцы могут работать различные механизмы, нарушающие ход ее развития. Тетраплоидная форма прошла достаточно длительный отбор на повышение фертильности пыльцы и поэтому зарегистрированные у нее нарушения сравнимы с контрольной диплоидной линией. Некоторые различия между вариантами разной плоидности носят принципиальный характер и указывают на специфику ряда показателей пыльцы, которые следует учитывать в селекционной работе.

DEPENDENCE OF MAIZE POLLEN STRUCTURE ON PLANTS PLOIDY

O.S. Trushcheleva, L.P. Lobanova, A.U. Kolesova

National Research Saratov State University by N.G. Chernyshevsky, Saratov

e-mail: vtoroe-dihanie@mail.ru, lobanova-lp@yandex.ru

A new cultivars of many economically significant crops were received by experimental polyploidy and haploidy. However a transition to another ploidy level frequently results in fertility and seeds setting decrease. A study of development and structure of pollen helps to identify the cause of male sterility in the plants with various ploidy.

We have carried out the study of pollen structure peculiarities and its morphometric characteristics in haploid, diploid, triploid and tetraploid maize forms. All four forms were created on base of AT line genome.

The clear distinctions of pollen quality among the plants samples with different ploidy were identified. The maximum quantity of empty and degenerative pollen (up to 70%) was found in haploid plants. The triploid plants have 22% of degenerative pollen on average. However the triploid plants have the most quantity of farctate pollen with abnormal structure (18%). The pollen anomalies registrated in different variants are represented by two basic types: abortion at early stages and cells and nuclei amount increase. The ratio of abnormal pollen grains types depends on plants ploidy. The haploid abnormal pollen is represented by the mononuclear grains. Mononuclear and binuclear pollen grains are also often found in other variants. But in diploids and tetraploids the pollen with additional sperms or vegetative nucleus is registrated with the frequency of about 1%. The triploids have much wider pollen development deviation spectrum and the number of different variants of polynuclear pollen achieves 6%. The growth of genome ploidy brings to the increase of pollen size and pollen grains diameter variation range. The smallest pollen with the minimal variation range was found in haploids. The greatest pollen was found in tetraploids and the feature of triploids is the wide range of pollen grains diameter.

Thus haploid and triploid plants, for which the high imbalance of the chromosoms set is typical, most of all have the defective pollen. The difference in quantity and quality ratio of degenerative and abnormal pollen between these two variants shows that during defective pollen formation the different mechanisms disturbing its development may be working. The tetraploid form passed the long-term selection for pollen fertility increasing therefore its registered anomalies are comparable with control diploid line. Some distinctions between different ploidy variants are principal and indicate specific character of number of pollen parameters that should be taken in account in breeding work.

АПОМИКТИЧНЫЙ СПОСОБ РЕПРОДУКЦИИ У ВИДОВ *CHONDRILLA* L. ЮГА ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ

Е.В. Угольникова, А.С. Кашин, А.О. Попова

Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского,
Саратов

e-mail: cat.ugolnikova@yandex.ru, kashinas2@yandex.ru

Гаметофитный апомиксис известен у представителей рода *Chondrilla* (Asteraceae) (Поддубная-Арнольди, 1976; van Dijk, 2003; Noyes, 2007), но сведения о его распространении до настоящего времени остаются весьма неполными и фрагментарными (Сравнительная эмбриология..., 1987).

Изучение системы семенного размножения видов рода *Chondrilla* может дать дополнительные сведения о причинах противоречивости представлений о его таксономической структуре.

Исследование проводили в 2013-2015 гг. в 28 популяциях 7 видов *Chondrilla* из Саратовской, Астраханской, Волгоградской, Ростовской областей, Республик Калмыкия и Крым, Краснодарского края. В среднем в каждый год наблюдения в каждой популяции исследовано по 30 растений и по 120 мегагаметофитов. Соцветия для цитоэмбриологического анализа фиксировали на стадии зрелого бутона в фиксаторе Кларка. Препараты мегагаметофитов готовили по методике П.Г. Куприянова (1982). Материал предварительно окрашивали 2%-ным ацетокармином. Частоту апомиксиса определяли по частоте встречаемости мегагаметофитов с признаками развития зародыша и (или) эндосперма без оплодотворения. Семенную продуктивность в тех же популяциях определяли при: 1) свободном опылении; 2) беспыльцевом режиме цветения.

Во всех исследованных местонахождениях представители *C. juncea* и *C. graminea* произрастали совместно. При этом по таксономически значимым морфологическим признакам особи образовывали непрерывный спектр переходов от одной крайней формы к другой, так что выделять «чистые» морфы растений того или другого вида иногда было весьма проблематичным. Поэтому часто мы исследовали смешанную случайную выборку растений этих двух видов.

В целом по изученным популяциям частота апомиксиса варьировала в диапазоне 0–62%. В итоге нами выявлено, что растениям из популяций *C. juncea*, *C. graminea*, *C. juncea* × *C. graminea*, *C. canescens*, *C. brevirostris*, *C. latifolia* и *C. acantholepis* присуща способность к факультативному апомиксису. При изучении структуры мегагаметофитов обнаружены цитоэмбриологические маркерные признаки гаметофитного апомиксиса: чаще всего – преждевременная эмбриония, реже – эндоспермогенез без оплодотворения или развитие яйцеклетки и центральной клетки в одном мегагаметофите без оплодотворения. Вывод о способности растений этих видов к воспроизводству семян путём апомиксиса подтвержден результатами исследования семенной продуктивности данных видов при беспыльцевом режиме цветения.

Во всех исследованных популяциях *C. ambigua* все мегагаметофиты имели нормальное строение без признаков апомиктичного развития. При этом семена у растений данного вида при беспыльцевом режиме цветения не завязывались. Это свидетельствует о том, что данный вид является облигатно амфимиктичным.

Частота обнаружения цитоэмбриологических признаков апомиксиса и завязываемости семян путём апомиксиса у видов рода *Chondrilla* отличается существенной внутри- и межпопуляционной изменчивостью.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 15-04-04087).

APOMIXIC WAY OF REPRODUCTION OF *CHONDRILLA* L. IN THE SOUTH OF THE EUROPEAN PART OF RUSSIA

E.V.Ugolnikova, A.S.Kashin, A.O.Popova

Saratov State University after N.G.Chernyshevsky, Saratov

e-mail: cat.ugolnikova@yandex.ru, kashinas2@yandex.ru

Gametophyte apomixis is known to be a representative of *Chondrilla* genus (Asteraceae) (Poddubnaya –Arnoldi, 1976; van Dijk, 2003; Noyes, 2007), but the data about its spreading are rather incomplete and fragmentary even now (Comparative Embryology..., 1987).

The study of seed reproduction system of species of *Chondrilla* genus can give some additional information about the reasons of contradictoriness of its taxonomic structure representation.

The research was conducted among 28 populations of 7 *Chondrilla* species taken from Saratov, Astrakhan, Volgograd and Rostov regions, Kalmykia and Crimea Republics and Krasnodar Territory in 2013-2015. On average 30 plants and 120 megagametophytes in every population were examined each year while researching. Inflorescences for cytoembryological analysis were fixed at the stage of mature bud in Clarke holder. The preparations of megagametophytes were made with the help of Kupriyanov's method (1982). The material had been dyed beforehand with 2% acetocarmine. The frequency of apomixis was defined using the frequency of megagametophytes occurrence with the signs of embryo development and (or) endosperm without fertilization. Seed productivity in the same populations was defined during free pollination and at the regime of blossoming without pollen.

In all the habitats examined plants of *C. juncea* and *C. graminea* grew in sympatric populations. According to taxonomically important morphologic characteristics a continuous spectrum of transitions from one form to another was created. So it was rather problematic to distinguish a "pure" plants morphs of one or the other species. Due to this reason a mixed random sample of plants of these two species was examined during many years of research.

Generally in the populations examined the frequency of apomixis was varied in the range of 0-62 %. As a result we found out that the plants from populations *C. juncea*, *C. graminea*, *C. canescens*, *C. brevirostris*, *C. latifolia* и *C. acantholepis* have the ability to optional apomixis. While studying the structure of megagametophytes, cytoembryological marker signs of gametophyte apomixis were found: premature embryony happens more often, endosperm genesis without fertilization or ovule development and central cell in one megagametophyte without fertilization happen seldom. The conclusion about the ability of these species to seed reproduction by apomixis was confirmed by the results of seed productivity research of these species in the blossoming period without pollen.

In all the populations of *C. ambigua* examined all megagametophytes were of normal structure without the signs of apomixis development and the plants of this species did not produce seeds in the blossoming period without pollen. It gives evidence that this species is obligate amphimictic.

Frequency of the occurrence of cytoembryological signs of apomixis and seed production with apomixis in species of *Chondrilla* genus differs in significant intra- and interpopulation variability.

The work was done with financial grant support of Russian Fund of Fundamental Research, project no. 15-04-040887.

**ИЗМЕНЧИВОСТЬ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ
РЕПРОДУКТИВНЫХ И ВЕГЕТАТИВНЫХ ОРГАНОВ *EPIRACTIS*
ATORRUBENS и ГИБРИДНЫХ ОСОБЕЙ *E. × SCHMALHAUSENII***

Я. А. Феоктистова, М.М. Кривошеев, М.М. Ишмуратова

Башкирский государственный университет, Уфа
yaroslava-f@mail.ru, m.m.krivosheev@mail.ru

Epipactis atrorubens (Hoffm. ex Bernh.) Bess. – евроазиатский вид (Вахрамеева и др., 2014). На южной границе ареала встречается редко, включен в Красные Книги Республики Башкортостан (2011) и других регионов России: Удмуртской Республики (2012), Челябинской (2005), Свердловской обл. (2008), внесен в Приложение II к Конвенции СИТЕС.

Это полиморфный вид, образует большое число форм (Борзіловський, 1950, Prochazka, Velisek, 1983; Fuller, 1986; Собко, 1989). Помимо растений с типичными темно-красными цветками встречаются формы с другой окраской околоцветника: f. *viridiflora* Sanino - с желтовато-зеленой, f. *pallens* Backhaus - зеленовато белой, f. *lutescens* Coss. et Germ. - светло-желтой, способен образовывать межвидовые гибриды (Ефимов, 2004; Пинчук и др., 2010. Вахрамеева и др., 2014). Однако пределы изменчивости для форм и гибридов на территории их ареалов недостаточно исследованы, что затрудняет их выделение.

На территории РБ описан межвидовой гибрид *E. × schmalhausenii* Richter (*E. atrorubens × E. helleborine*) в местах совместного произрастания родительских видов (Пушкарева, Ишмуратова, 2012; Пушкарева, 2013).

Цель работы заключалась в изучении изменчивости качественных и количественных морфологических признаков репродуктивных и вегетативных органов *E. atrorubens* и гибридных особей *E. × schmalhausenii* на Южном Урале.

В 2015 году на территории Южно-Уральского государственного природного заповедника (ЮУГПЗ) изучена изолированная ценопопуляция *E. atrorubens* (30 генеративных особей). Вторая популяция изучена в местах произрастания родительских форм *E. atrorubens* и *E. helleborine* на территории Башкирского государственного природного заповедника (БГПЗ), описано 40 генеративных особей - *E. atrorubens* и 23 особи гибридного происхождения. Всего проанализировано 4 признака побега, 6 признаков соцветия и 12 признаков цветка.

Анализ степени изменчивости морфологических признаков вегетативной и генеративной сфер в изучаемых выборках показал, что исследованные популяции *E. atrorubens* на территории БГПЗ и ЮГПЗ и гибридные особи - *E. × schmalhausenii* (ЮГПЗ) достоверно не отличаются (согласно коэффициенту Стьюдента) между собой. Наиболее вариабельными, как для исследуемых видов, так и для гибридных особей оказались признаки вегетативных органов, в частности: высота побега (*E. atrorubens* БГПЗ min 17,0 - max 56,0, CV = 26,12 %; *E. atrorubens* ЮГПЗ min 31,5 - max 84,5, CV = 19,71 %; *E. × schmalhausenii* min 22,5 – max 51,5, CV = 25,52 %) и высота побега до соцветия (*E. atrorubens* БГПЗ min 11,5 - max 38,0 CV = 28,06 %; *E. atrorubens* ЮГПЗ min 7,5 - max 54,5, CV = 25,83; *E. × schmalhausenii* min 15,0 – max 36,0, CV = 28,46 %).

Таким образом, в проведенном исследовании не удалось обнаружить морфометрические признаки, по которым гибриды *E. × schmalhausenii* различались от особей одного из родительских видов - *E. atrorubens*. Необходимо дальнейшее изучение данных таксонов, в т.ч. с применением методов генетического анализа.

**THE VARIABILITY OF MORPHOLOGICAL FEATURES OF
REPRODUCTIVE AND VEGETATIVE ORGANS *EPIPACTIS ATRORUBENS* AND
HYBRID INDIVIDUALS *E. × SCHMALHAUSENII***

Y.A. Feoktistova, M.M. Krivosheev, M.M. Ishmuratova

Bashkir State University, Ufa

e-mail: yaroslava-f@mail.ru, m.m.krivosheev@mail.ru

Epipactis atrorubens (Hoffm. ex Bernh.) Bess. is the euroasian species (Vahrameeva and oth., 2014), can rarely be discovered on the south area boundaries, it is included in Red Books of the republic of Bashkortostan (2011) and other regions of Russia: the Udmurt republic (2012), Chelybinsk (2005) and Sverdlovsk regions (2008), it is also included in Appendice II to the CITES Convention.

Epipactis atrorubens is a polymorphic species, producing many forms (Borzilovskiy, 1950, Prochazka, Velisek, 1983; Fuller, 1986; Sobko, 1989): besides plants with typical dark red flowers there are yellow green perianth forms f. *viridiflora* Sanino, green white perianth forms f. *pallens* Backhaus, light yellow perianth forms f. *lutescens* Coss. et Germ, it can produce intraspecific hybrids (Yefimov, 2004, Pinchuk and oth. 2010. Vahrameeva and oth., 2014) However, the limits of intraspecific variability of forms and hybrids within their areas were explored insufficiently, morphological characteristics of hybrids are not described, which makes difficult to select them.

There is an intraspecific hybrid *E. × schmalhausenii* Richter (*Epipactis atr. × Epipactis h.*) described in areas of the joint growth of parental species *Epipactis atrorubens* (Hoffm. ex Bernh.) Bess. and *E. helleborine* (L.) Crantz (Pushkareva, Ishmuratova, 2012; Pushkareva, 2013).

The objective of our work is to study the variability of qualitative and quantitative morphological features of reproductive and vegetative organs of *E. atrorubens* and hybrid forms *E. × schmalhausenii* in the South Ural.

In 2015 the isolated coenopopulation *Epipactis atrorubens* (30 generative individuals) is studied on the territory of South Ural State Nature Reserve. The second population is studied in areas of the joint growth of parental species *E. atrorubens* и *E. helleborine* on the territory of Bashkir State Nature Reserve; 40 generative individuals *E. atrorubens* and 23 hybrid individuals are described. We analyzed in total 4 characters of sprout, 6 characters of inflorescence and 12 characters of flower.

The analysis of the variability degree in morphological features of vegetative and generative sphere in studied samples shows that the population *E. atrorubens* studied on territory of South Ural State Nature Reserve and Bashkir State Nature Reserve and hybrid individuals of *E. × schmalhausenii* (SUSN) have no differences (according to Student's coefficient). The vegetative features are the most variable for studied species as well as for hybrid individuals. For instance, height of sprout (*E. atrorubens* SUSN min 17,0 - max 56,0, CV = 26,12 %; *E. atrorubens* ЮПИЗ min 31,5 - max 84,5, CV = 19,71 %; *E. × schmalhausenii* min 22,5 – max 51,5, CV = 25,52 %) and height of sprout to inflorescence (*E. atrorubens* БПИЗ min 11,5 - max 38,0 CV = 28,06 %; *E. atrorubens* ЮПИЗ min 7,5 - max 54,5, CV = 25,83; *E. × schmalhausenii* min 15,0 – max 36,0, CV = 28,46 %).

Thus, it is difficult to select features which could distinguish parental form *E. atrorubens* and hybrid individuals *E. × schmalhausenii* on the basis of the results received so further studies are needed including methods of genetic analysis.

ПОЛУЧЕНИЕ ГАПЛОИДОВ ТРИТИКАЛЕ В КУЛЬТУРЕ ПЫЛЬНИКОВ *IN VITRO* - ПРЕДОБРАБОТКА ДОНОРНЫХ РАСТЕНИЙ ХОЛОДОМ

О.В. Хомякова, В.Н. Акинина, А.В. Поминов

*Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Юго-Востока,
Саратов*

e-mail: homyakova_olesya@mail.ru

Культура пыльников является одним из методов массового получения гаплоидных растений тритикале (Лукьянюк, 1983; Schuman, 1990; Ganzalez, 2006; Игнатова, 2008 и др.). По сравнению с культурой изолированных микроспор он менее трудоемок. Общая отзывчивость при культивировании пыльников включает три феномена: получение эмбриогенных пыльников, способность эмбриоидов к регенерации растений и получение зеленых растений.

Изучение эффекта холодового воздействия на донорные растения показало неоднозначность полученных результатов. На различных по уровню отзывчивости генотипах мягкой пшеницы саратовской селекции показано, что спорофитное развитие микроспор происходит и в пыльниках свежесрезанных колосьев, причем, у некоторых генотипов с большей частотой по сравнению с пыльниками, подвергающимися воздействию этого стресса (Ткаченко и др., 2001; Дьячук и др., 2003).

Приведенные выше результаты свидетельствуют о неоднозначности роли холодового стресса при спорофитном развитии микроспор. Проведенные цитологические исследования установили возможность различных событий при культивировании свежесрезанных пыльников. Основная часть микроспор погибает уже к 7 дню культивирования, часть микроспор продолжает гаметофитную программу с последующей дегенерацией продуктов деления, и лишь немногочисленная популяция клеток переходит на спорофитный путь развития.

Анализ частоты образования различных андрогенетических структур свидетельствует о том, что для индукции андрогенеза в культуре пыльников тритикале не требовалось воздействие шокowymi температурами. Более того, у двух генотипов (амфидиплоида АД-1 и сорта-стандарта Студент) спорофитное развитие микроспор наблюдалось только в пыльниках свежесрезанных колосьев, не подвергавшихся хранению при пониженных положительных температурах 1,7 и 7,8% соответственно.

Полученные нами результаты по культивированию пыльников тритикале не подтверждают точку зрения о роли пониженных положительных температур (4-7°C) как триггера спорофитного развития микроспор (Круглова и др., 2005). Очевидно, само удаление колосьев с донорного растения является стрессом, который в сочетании с искусственным культивированием пыльников в условиях *in vitro* без других воздействий может вызывать репрессию гаметофитных генов и переключение программы на спорофитный путь развития.

THE OBTAINING OF TRITICALE HAPLOID PLANTS – A PRETREATMENT OF THE DONOR PLANTS BY COLD SHOK

O.V. Khomyakova, V.N.Akinina, A.V. Pominov

Agricultural Research Institute of South-East Region, Saratov

e-mail: homyakova_olesya@mail.ru

Anther culture is one of the efficient methods for triticales haploid plants production (Lukjanyuk, 1983; Schuman, 1990; Ganzales, 2006; Ignatova, 2008). In comparison with isolated microspore culture it is less laborious. The general anther culture responsiveness includes three phenomena: obtaining of embryogenic anthers, the regeneration ability of embryoids and green plants production.

The studying of the cold effects on the donor plants shows the ambiguousness of the obtaining results. It has been shown on the genotypes of common bread wheat of Saratov selection with various level of responsiveness that sporophytic microspore development was observed in fresh collected anthers moreover the several genotypes had significantly increased the yield of the embryogenic anthers in comparison with pretreated inflorescence (Tkachenko et al., 2001; Dyatchouk et al., 2003).

The above mentioned results evidenced on the not single role of the cold stress on the sporophytic microspore development. The cytological studying reflects the possibility of the different events in fresh anthers culture. The main part of microspores is perished on the 7th day of the culturing. Another microspores part continues the gametophyte program with following degeneration of the division products and only small microspores population passages on the sporophytic mode of development.

Analysis of the different androgenetic structures frequency evidenced that androgenesis induction in triticales anther culture is not required the shok cold temperature. Moreover the sporophytic microspore development in two genotypes (Amphydiploid 1 and standard variety Student) was observed only in anthers of fresh collected inflorescences (1,7 and 7,8% accordingly).

Our results on triticales anther culture don't confirm point of view about the role of low temperatures (4-7⁰C) as a trigger of microspores sporophytic development (Kruglova et al., 2005). It is possible, ear removing itself from donor plants is first stress, that in combination with anther culture in vitro switches microspore development from a gametophytic to a sporophytic mode of development.

ВЫЯВЛЕНИЕ НЕРЕДУЦИРОВАННОГО АПОМИКСИСА В ИНБРЕДНЫХ ЛИНИЯХ СОРГО И КУКУРУЗЫ

М.И. Цветова, Л.А. Эльконин, Ю.В. Итальянская

Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Юго-Востока,
Саратов

e-mail: lalkonin@gmail.com

Апомиксис – возникновение семян за счёт партеногенеза неоплодотворённой яйцеклетки – установлен у многих видов покрытосеменных растений. Предполагается, что перспективы коммерческого использования апомиксиса в селекции связаны с возможностью сохранения эффекта гетерозиса и других селекционно-ценных признаков в ряду поколений вследствие отсутствия генетического расщепления в потомстве (Savidan, 2000; Наумова, 2008). Однако нередко данные о наличии апомиксиса у диплоидных культурных растений вызывают сомнение (Соколов и др., 2011).

Чаще всего для выявления апомиксиса у растений используют скрещивание исследуемой формы с отцовским родителем, отличающимся доминантными маркерными генами (признаками). Отсутствие этих признаков у потомков позволяет полагать, что они произошли за счёт партеногенеза. Общеизвестно, что нередуцированный апомиксис осуществляется на базе нередуцированного зародышевого мешка (ЗМ). В нашей работе мы основывались на известном положении о том, что в семействе *Poaceae* в большинстве случаев эндосперм является гибридным, образуясь в результате оплодотворения полярных ядер ЗМ (Наумова, 2008; Albertini et al., 2010). При этом для нормального развития семени необходимо, чтобы соотношение материнского (м) и отцовского (о) геномов в эндосперме соответствовало бы 2м:1о. В результате тройного слияния двух полярных ядер нередуцированного ЗМ диплоидной материнской формы и гаплоидного ядра спермии диплоидного отцовского родителя формируется пентаплоидное первичное ядро эндосперма, соотношение м:о в эндосперме нарушается, и развиваются шуплые зерновки с низкой жизнеспособностью. Поэтому для выявления псевдогамного апомиксиса у кукурузы и сорго мы предприняли опыление диплоидных линий, лишенных собственной пыльцы, пыльцой тетраплоидных линий. В таком скрещивании при оплодотворении диплоидных полярных ядер нередуцированного ЗМ диплоидным спермием возникает гексаплоидный эндосперм с соотношением материнского и отцовского геномов 2м:1о.

Нормально сформированные зерновки были получены у 4 линий сорго и 12 линий кукурузы. Цитологический и фенотипический анализ растений, развившихся из этих зерновок, показал, что среди них были ди- и тетраплоидные гибриды, а также диплоидные растения материнского типа. Очевидно, что тетраплоидные гибриды возникли при оплодотворении нередуцированных ЗМ диплоидной пыльцой отцовских тетраплоидов. Возникновение диплоидных гибридов в диплоидно-тетраплоидных скрещиваниях объясняется формированием гаплоидных пыльцевых зёрен у тетраплоидов в результате соматической редукции (Цветова и Эльконин, 2002). Относительно диплоидных растений материнского типа сделано предположение, что они возникли за счёт псевдогамного апомиксиса. Для подтверждения этой гипотезы был проведён анализ запасных белков эндосперма зерновок, из которых развились матроклинные растения (часть эндосперма была отделена до начала прорастивания). С помощью SDS-электрофореза было обнаружено, что в электрофоретических спектрах белков, выделенных из зерновок, из которых развились матроклинные растения, присутствовали полипептиды, характерные для отцовских линий, что указывает на гибридную природу эндосперма таких зерновок и, следовательно, на формирование таких растений за счёт псевдогамного апомиксиса.

К настоящему времени апомиксисные растения выявлены у 4 ЦМС-линий сорго и 5 линий кукурузы.

IDENTIFICATION OF UNREDUCED APOMIXIS IN SORGHUM AND MAIZE INBRED LINES

M.I. Tsvetova, L.A. Elkonin, Yu.V. Italyanskaya

Agricultural Research Institute for South-East Region, Saratov

e-mail: elkonin@gmail.com

Apomixis – formation of seeds due to parthenogenesis of unfertilized egg cell – has been revealed in many angiosperm species. It is assumed that the perspectives of commercial usage of apomixis in breeding are connected with capability of apomictic lines to retain the heterotic or

another superior genotypes through series of generations due to absence of genotypic segregation in progeny (Savidan 2000; Naumova 2008). However, not infrequently data on the presence of apomixis in diploid crop plants are doubtful (Sokolov et al., 2011).

Most often to identify apomictically developed progeny the plants are crossed with paternal parent possessing dominant marker gene(s) (traits). Absence of such gene(s) (traits) in the progeny plant suggests that it has occurred due to parthenogenesis of an egg cell of maternal parent.

It is generally accepted that unreduced apomixis is realized on the basis of unreduced embryo sac (ES). Our work was based on the well-known fact that in the *Poaceae* in most cases endosperm is forming in result of fertilization of ES polar nuclei (Naumova 2008; Albertini et al., 2010). Herewith, for normal seed development the ratio of maternal (m) and paternal (p) genomes in endosperm would correspond to 2m:1p. When unreduced ES of a diploid maternal plant is fertilized by haploid pollen of a diploid male parent this ratio disturbs and seeds with pentaploid endosperm develop (such seeds are shriveled and possessing low viability). Therefore, in order to reveal pseudogamous apomixis in maize and sorghum we have taken pollination of diploid lines by pollen of tetraploid strains. In such crossings, fertilization of diploid polar nuclei of unreduced ES by diploid sperm cell results in hexaploid endosperm formation with the ratio of maternal to paternal genomes 2m:1p.

Normally formed kernels developed in 5 sorghum and 12 maize strains. Cytological and phenotypic analysis of plants, developed from these kernels showed that among them there were di- and tetraploid hybrids and diploid plants of maternal type. Obviously, tetraploid hybrids developed as a result of fertilization of unreduced ESs by diploid pollen of the paternal tetraploids. The origin of diploid hybrids in diploid-tetraploid crosses may be explained by formation of haploid pollen grains in tetraploids due to somatic reduction (Tsvetova and Elkonin, 2002). Diploid maternal plants were assumed to develop due to pseudogamous apomixis. To confirm this hypothesis, we performed the analysis of the endosperm proteins from the kernels, produced maternal type plants using SDS gel electrophoresis (endosperm parts have been separated prior to germination). Polypeptides characteristic of the paternal lines were found in the electrophoretic spectra of the proteins isolated from these kernels that suggested to the hybrid nature of endosperm of such kernels and, hence, to formation of such plants by pseudogamous apomixis.

To date, apomictic plants identified in 4 sorghum CMS-lines and 5 lines of maize.

**РЕПРОДУКТИВНАЯ БИОЛОГИЯ *GLADIOLUS IMBRICATUS* L.
И *G. TENUIS* VIEB.**

М.А. Черткова, Л.В. Новоселова

*Пермский государственный национальный исследовательский университет,
Пермь*

e-mail: plyusnina-marina@yandex.ru

Гладиолус (*Gladiolus* L.) является клубнелуковичным геофитом, который ценится за относительную неприхотливость к условиям выращивания, довольно продолжительным периодом цветения и многообразием форм и расцветок. Одним из важных этапов при разработке селекционных программ является изучение репродуктивной биологии. Основные данные в этой сфере описаны для гладиолуса гибридного, для диких видов, перспективных к включению в селекционный процесс, данные немногочисленные.

Целью исследования являлось изучение жизнеспособности пыльцы у 2 европейских видов гладиолуса с раннелетним сроком цветения *Gladiolus imbricatus* L. и *G. tenuis* Vieb.

Жизнеспособность пыльцы определяли 2 способами: путем ее проращивания на искусственных средах и тканях пестика – *in vitro* и *in vivo*.

Проращивание пыльцы *in vitro* проводили на искусственных средах, содержащих 0,1% агар-агар и различные концентрации сахарозы (10-25%). При этом использовали как свежесобранную, так и хранившуюся в течение 2-3 суток (при комнатной температуре и влажности воздуха 60-70%) пыльцу. Просмотр проводили под микроскопом через 2, 4, 6 часов. При исследовании жизнеспособности пыльцы *in vitro* выяснили, что прорастала только свежесобранная пыльца *G. tenuis* на среде с 10% и 15% содержанием сахарозы. Пыльца *G. imbricatus* ни на одной из сред не прорастала.

Для исследования прорастания пыльцы *in vivo* соцветия гладиолусов на стадии бутонов изолировали, в дальнейшем проводили кастрацию цветков. Искусственное опыление *G. imbricatus* производили собственной пыльцой и пыльцой *G. tenuis*, а *G. tenuis* – смесью пыльцы *G. tenuis* и *G. imbricatus*. Через 1, 3, 7, 24 часа срезали пестики и фиксировали их в фиксаторе Кларка. Исследование прорастания пыльцы на рыльце проводили под световым микроскопом. Для окрашивания использовали ацетокармин и спиртовой раствор метиленового синего.

Результаты показали, что рыльце способно воспринимать пыльцу не ранее как через 2-3 дня после раскрытия цветка. Прорастание наблюдалось спустя 3 часа после опыления. Выявлено, что у *G. imbricatus* пыльца характеризуется очень низкой жизнеспособностью.

По результатам исследования установлено, что у обоих видов имеет место дихогамия в форме протерандрии, что согласуется с полученными нами ранее данными по антэкологии этих видов. В целях гибридизации необходимо брать только свежую пыльцу, поскольку при хранении она очень быстро теряет способность к прорастанию. Пыльца *G. imbricatus* имеет очень низкую жизнеспособность, поэтому в селекционные программы с гладиолусом гибридным имеет смысл в качестве донора пыльцы включать *G. tenuis*.

REPRODUCTIVE BIOLOGY OF *GLADIOLUS IMBRICATUS* L. И *GLADIOLUS TENUIS* BIEB.

M.A. Chertkova, L.V. Novoselova

PermStateUniversity, Perm

e-mail: plyusnina-marina@yandex.ru

Gladiolus (*Gladiolus* L.) is valued for simplicity to growing conditions, a long flowering period and the variety of shapes and colors. Study of reproductive biology is one of the important steps in the development of breeding. Basic data are described for *Gladiolus* × *hybridus* hort., but wild species are not studied yet.

The aim of the study was to investigate the viability of the pollen of *Gladiolus imbricatus* L. and *Gladiolus tenuis* Bieb.

Relative viability of pollen of Gladiolus was determined by two methods - *in vitro* and *in vivo*.

In vitro pollen germination was performed on artificial medium, that contain 0.1% agar and various concentrations of sucrose (10-25%), with fresh pollen distinguished and stored for 2-3 days at temperature +26°-+28°C and relative humidity 60-70 %. We have studied pollen with a microscope after 2, 4, 6 hours since the pollen inoculation on medium. In the study of pollen viability *in vitro* best results were observed in medium supplemented with 10% and 15% sucrose, only fresh pollen of *Gl. tenuis* germinate.

To study the germination of pollen *in vivo*, we castrated and then pollinated inflorescences of *Gl. imbricatus* by its own pollen and by pollen of *Gl. tenuis* and inflorescence of *Gl. tenuis* by mixture of pollen. We cut pistils after 1, 3, 7, 24 hours and fixed them in the latch Clark. We used acetocarmine and alcoholic solution of methylene blue for coloring of microscope slides.

Results of pollen germination *in vivo* showed that the stigma becomes receptive on 2-3 days of blooming, until this moment the pollen on the stigma not even delayed. On the 3 day of flowering pollen begins to germinate 3 hours after pollination. Pollen of *Gl. imbricatus* showed a very low viability.

Conducted researches have shown that proterandry, that is the form of dichogamy, is presented in both species, that is consistent with earlier data of Antecology (Chertkova, 2015). For the hybridization only fresh pollen should be taken, because it quickly loses its ability to germinate. Pollen of *Gl. imbricatus* shows very low viability, so *Gl. tenuis* better involve to crossings with *Gl. hybridus* as the pollen donor.

МЕТАБОЛОМИКА, *OMNES ET SINGULAS*

А.Л.Шаварда

*Ботанический институт им В.Л.Комарова РАН,
РЦ «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ, Санкт-
Петербург
e-mail: stachyopsis@gmail.com*

Инструментальный анализ метаболитного пула прочно вошел в арсенал современных методов исследования биологических систем. Корреляции содержания малых молекул в составе живого на любом уровне, от клетки, или даже органеллы вплоть до органов и целых организмов, предоставляют огромный массив данных, позволяющий получать очень интересную информацию о природе самого процесса жизнедеятельности.

В докладе изложены основные положения метаболомного анализа, аппаратная платформа, методические варианты и основные приемы обработки получаемых данных. Особое внимание уделено концептуальной основе использования понятия биохимического состояния для моделирования процессов роста и развития растений и грибов.

METABOLOMICS, *OMNES ET SINGULAS*

A.L.Shavarda

*Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences,
RRC Molecular and Cell Technologies, SPBSU
e-mail: stachyopsis@gmail.com*

Instrumental analysis of the metabolite pools firmly entrenched in the arsenal of the modern methods for the study of the biological systems. Correlations content of small molecules in the composition of life on every level, from the cells, the organelles, or even up to the organs and whole organisms, providing a huge amount of data, which yields very interesting information about the nature of the process of vital activity.

The report outlines the main provisions of the metabolomic analysis, the hardware platform, the methodological options and the basic techniques of the data mining. Particular attention is given to the conceptual basis of the use of the notion of the biochemical state for modeling the processes of growth and development of plants and fungi.

РАЗНООБРАЗИЕ СЕМЯЗАЧАТКОВ И ВОЗМОЖНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ИХ ТРАНСФОРМАЦИЙ

И.И.Шамров

*Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена,
Санкт-Петербург*

e-mail: ivan.shamrov@gmail.com

Семязачатки цветковых растений характеризуются значительным разнообразием. Однако признаки, по которым их можно идентифицировать (особенно кампилотропные и амфитропные), не всегда обоснованы (Шамров, 2007, 2008, 2015). Становление кампилотропного семязачатка является самым продолжительным и начинается, как правило, после мегаспорогенеза, но семязачаток принимает окончательный вид только после оплодотворения. Именно с этих позиций «амфитропный тип» семязачатка должен быть признан несуществующим, так как он представляет собой стадию развития кампилотропного семени. Кроме того, необходимы дополнительные исследования кампилотропных семязачатков, которые сильно различаются по строению.

Исходя из указанных особенностей морфогенеза семязачатков, нами предложена новая классификация их морфологических вариантов, которая включает 4 типа и 4 подтипа: **ортотропный** (прямая морфологическая ось проходит через все части семязачатка; полюса оси не изменяют своего положения - микропиле противостоит халаза и располагается под углом в 90° по отношению к плаценте; халаза, гипостаза и проводящий пучок находятся в орто-положении), **анатропный** (прямая морфологическая ось изменяет угол наклона по отношению к плаценте на 90° , в результате чего большая часть элементов оказывается расположенной параллельно фуникулусу и/или рафе; происходит инверсия полюсов оси и поворот на 180° , так что микропиле оказывается вблизи рубчика и плаценты, а халаза, гипостаза и проводящий пучок смещаются в ана-положение), **гемитропный** (геми-анатропный подтип - прямая морфологическая ось, представленная фуникулусом и/или рафе, изменяет угол наклона относительно плаценты; в результате смещения халазы, гипостазы и проводящего пучка в гемиположение большая часть элементов как в анатропном семязачатке, но под углом 45° к плаценте; гемиположительно-ортотропный подтип - прямая морфологическая ось, проходящая через фуникулус и/или рафе, изгибается в направлении структур халазальной области, сохраняющих орто-положение; вследствие большего разрастания структур микропиллярной и средней частей ильно с антирафальной стороны ось в области интегументов и нуцеллуса остается прямой, при этом микропиле не подходит к плаценте), **кампилотропный** (большая часть морфологической оси изогнута, однако сохраняется отрезок прямой оси, проходящей через фуникулус и/или рафе: орто-кампилотропный подтип - халазальная часть повторяет топографию орто-ортотропного, а микропиллярная - анатропного семязачатка; гемиположительно-кампилотропный подтип - структуры халазальной части в гемиположении, а микропиллярная часть сохраняется как в анатропном семязачатке).

Ранее нами было поддержано мнение о первичности ортотропных семязачатков (Шамров, 2006, 2008). В свете новых представлений более аргументированным является положение о том, что исходными были ортотропные и анатропные семязачатки одновременно (Vosquet, 1959; Vosquet, Bersier, 1960). Однако дивергенция этих типов, вероятно, произошла очень рано в эволюции и их трансформации были независимыми. Все дальнейшие преобразования происходили через серии промежуточных состояний (прежде всего варианты гемитропных и кампилотропных семязачатков), при этом коррелятивно возникали изменения в форме и строении завязи, плацент, семязачатков, семян, а также характере запасной питательной ткани и размерах зародыша.

DIVERSITY OF OVULES AND POSSIBLE TRENDS OF THEIR TRANSFORMATIONS

I.I.Shamrov

Herzen State Pedagogical University of Russia, St. Petersburg

e-mail: ivan.shamrov@gmail.com

The ovules of flowering plants are characterized by considerable diversity. They emphasize 5 morphological types (orthotropous, anatropous, hemitropous, campylotropous and amphitropous), not counting variants on the ovule position in the ovary. However, the signs by which the types of ovules can be identified is not always justified. This is especially true for campylotropous and amphitropous ovules (Shamrov, 2007, 2008, 20015). The most clearly distinguishable anatropous and orthotropous ovules, which take the corresponding form in the period of megasporogenesis. Morphological type of the hemitropous ovule, similar to the early stages of development with anatropous and orthotropous ovules, is finally established just before fertilization. Formation of the campylotropous ovule is the longest one, it usually begins after megasporogenesis, but the ovule obtains a final view only after fertilization, that is to say, during seed development. From this standpoint amphitropous type the ovule must be considered as non-existent, as it is a stage of campylotropous seed development. Thus, ovule types in some previously known taxa require re-investigation. Especially campylotropous ovules are needed to be adjusted, as the number of taxa with similar ovules clearly more than believed until now.

Based on these features of the ovule morphogenesis, we have suggested a new classification of morphological variants of the ovules, which includes 4 types and 4 subtypes. Orthotropous type - a straight morphological axis pass through all ovule parts and lies at an angle of 90° in relation to the placenta; pole axis does not change position - the micropyle in the opposite direction in relation to the chalaza; chalaza, hypostase and the vascular bundle in the ortho-position. Anatropous type - direct morphological axis, on which funiculus or raphe are situated, changes the angle of bending in relation to the placenta by 90° , resulting in large part of elements is located parallel to funiculus; inversion of the axis poles and ovule bending by 180° , so that the micropyle is near placenta and chalaza, hypostase and the vascular bundle are shifted in ana-position. Hemitropous type: hemi-anatropous - direct morphological axis, represented by funiculus or raphe, changes the angle of bending in relation to the placenta; as a result of displacement of the chalaza, hypostase and the vascular bundle in hemi-position most of the ovule elements lying as in anatropous ovule, but at an angle of 45° to the placenta; hemi-orthotropous - direct morphological axis passing through funiculus or raphe is bent in the direction of structures of chalazal region, preserving the ortho-position; due to the more proliferation of structures of the micropylar and middle parts from antiraphal side the morphological axis in most of integuments and the nucellus remains straight, the micropyle is not approached to the placenta. Campylotropous type - most of the morphological axis is curved, but there is still a segment of straight axis passing through funiculus or raphe: ortho-campylotropous - chalazal part is as in orthotropous ovule, but micropylar part is as in anatropous ovule; hemi-campylotropous - elements of chalazal part in hemi-position, and micropylar part is retained as in anatropous ovule.

Earlier we considered that primitive ovule had a structure of orthotropous type (Shamrov, 2006, 2008). In the light of new data we support the state that original ovules were orthotropous and anatropous variants (Bocquet, 1959; Bocquet, Bersier, 1960). However, the divergence of these types probably evolved very early in evolution and their transformation were independent. All further transformations occurred through a series of intermediate states (primarily variants of hemitropous and campylotropous ovules), and the correlative changes in the form and structure of the ovary, placentae, ovules and seeds, in character of nutritive tissue and the size of the embryo have taken place.

ЦИТОЛОГО-ЭМБРИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ В НИКИТСКОМ БОТАНИЧЕСКОМ САДУ

С. В. Шевченко

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН, Ялта
e-mail, Shevchenko_nbs@mail.ru; Shevchenko_nbs@ukr.net

В Никитском ботаническом саду (НБС) цитолого-эмбриологические исследования были начаты еще в 70-е годы XIX века, и первыми в этом плане считаются работы бывшего директора Н.Е. Цабеля по растительной гистологии (1860, 1864). В начале XX века активно велись работы по гибридизации, экспериментальному мутагенезу и полиплоидии табака, винограда и овощных культур (Терновский, 1936; Терновский, Миссюра, 1936). В 50-е годы XX столетия особое внимание было обращено на эмбриологические исследования плодовых, субтропических, технических и декоративных культур в связи с их интродукцией, селекцией и морозо- и зимостойкостью (Елманов, 1959; Елманов, Яблонский, Шолохов, Судакевич, 1962). А.И. Здруйковской-Рихтер впервые в Советском Союзе был разработан метод культуры *in vitro* изолированных органов и тканей, позволивший ей получить ряд ценных сортов черешни, груши, персика, миндаля (1964, 1981, 2003). Начиная с 70-х годов прошлого столетия и по настоящее время в НБС успешно проводятся исследований репродуктивной биологии высших растений, охватывающие практически все этапы репродуктивного цикла. С огромной благодарностью и сердечностью мы вспоминаем годы сотрудничества и дружбы (1975-2015) с членом-корреспондентом РАН, заслуженным деятелем науки Российской Федерации, профессором Татьяной Борисовной Батыгиной. Ее статьи, монографии и устные советы для нас были и остаются руководящими и направляющими. Следует подчеркнуть, что значение сведений репродуктивной биологии для систематики и филогении, генетики, селекции и интродукции известно давно, и об этом свидетельствуют работы В.А. Поддубной-Арнольди, М.С. Яковлева, И.Д. Романова, Т.Б. Батыгиной, Е.Л. Кордюм, А.А. Чеботаря, В.П. Банниковой, О.П. Камелиной и др. В результате изучения сотрудниками НБС процессов формирования репродуктивных структур у ряда интродуцированных в Крым видов семейств Magnoliaceae, Annonaceae, Davidiaceae, Nyssaceae, Rhamnaceae, Rosaceae, Oleaceae, Taxaceae, Cupressaceae, Ephedraceae, Taxodiaceae и др., а также у представителей местной флоры из семейств Anacardiaceae, Ericaceae, Orchidaceae, Cistaceae, Papaveraceae, Campanulaceae, Ranunculaceae и др. установлено, что эволюционные преобразования генеративных структур проходят гетерохронно, и не всегда совпадают с темпами эволюции других морфологических признаков, хотя и явно прослеживается тенденция к прогрессивной эволюции комплекса признаков системы репродукции. Антэкологические наблюдения показали, что синдром опыления представлен специфическими для изученных видов и весьма совершенными приспособлениями, обеспечивающими эффективное опыление. Диссеминация также направлена на успешное семенное размножение видов и колонизацию ими новых территорий. Показано, что на репродуктивный успех изученных видов оказывают большое влияние условия произрастания (почвенно-климатические условия, наличие насекомых-опылителей, повреждаемость вредителями и вирусными патогенами, антропогенное влияние и т.д.). Все это, как известно, имеет существенное значение в развитии, воспроизведении, сохранении видов растений и удержании ими территорий.

Таким образом, результаты исследований пополняют сведения по общей эмбриологии растений, позволяют установить причины сокращения численности редких видов флоры Крыма, определить их репродуктивный успех и стратегию выживания; выявить сопряженность генезиса мужских и женских генеративных структур, особенностей формирования элементов цветка и насекомых-опылителей, показать тесную связь морфологии репродуктивных структур с их функцией при определяющей роли последней, что обуславливает высокую специализацию системы воспроизведения, а также свидетельствует о ее пластичности и надежности.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского научного фонда по проекту № 14-50-00079 (2014-2018 гг)

CYTOLOGO-EMBRYOLOGICAL RESEARCHES IN NIKITA BOTANICAL GARDEN

S.V. Shevchenko

*Nikita Botanical Gardens – National Science Centre RAS, Republic Crimea, Yalta,
Nikita, descent Nikitsky, 52,
e-mail: Shevchenko_nbs@ukr.net*

Cytologo-embryological researches were initiated in Nikita Botanical Gardens (NBG) back in 70-ies of the XIX century and the first ones considered to be the works of the former Director N.E. Zabel on plant histology (1860, 1864). In the beginning of XX century, the active researches on hybridization, experimental mutagenesis and polyploidy of tobacco, grapes and vegetables were held (Ternovsky, 1936; Ternovsky, Missüra, 1936). In the 50-ies of XX century, special attention was drawn to the embryological study of fruit, subtropical, technical and decorative plants in connection with their introduction, selection and frost and winter hardiness (Elmanov, 1959; Elmanov, Yablonsky, Sholokhov, Sudakevich, 1962). AI Zdrujkovskaya-Richter for the first time in the Soviet Union has developed the method of culture *in vitro* of isolated organs and tissues, allowing to obtain some valuable early maturing cultivars of cherry, pear, peach, almonds (1964, 1981, 2003).

Starting from the 70-ies of the 20th century and now the researches on reproductive biology of higher plants, covering almost all the stages of the reproductive cycle are successfully conducted in the NBG. With great gratitude and warmth we remember the years of collaboration and friendship (1975-2015) with corresponding member of the Russian Academy of Science, Professor Tatyana Borisovna Batygina. Her articles, monographs and advices were and still are valuable and guiding for us. It should be emphasized that the value of information on reproductive biology to systematics and phylogeny, genetics, breeding and introduction is known for a long time, and this is evidenced by the works of W.A. Poddubnaya-Arnoldi, M.S Yakovlev, I.D. Romanov, T.B. Batygina, E.L. Kordüm, A.A. Cebotaru, V.P Bannikova, O.P. Kamelina etc. As a result of the research of the NBG workers on the processes of reproductive structures formation in several representative of families Magnoliaceae, Annonaceae, Davidiaceae, Nyssaceae, Rhamnaceae, Rosaceae, Oleaceae, Taxaceae, Cupressaceae, Ephedraceae, Taxodiaceae, etc., introduced in Crimea as well as representatives of the local flora of the Anacardiaceae, Ericaceae, Orchidaceae, Cistaceae, Papaveraceae, Campanulaceae, Paeoniaceae, Ranunculaceae and other it has been established, that evolutionary transformation of generative structures pass geterohronously, and do not always coincide with the pace of the evolution of other morphological traits, though there has been a clear trend towards the progressive evolution of the complex of reproduction system features. Antecological observations revealed that pollination syndrome is presented by devices specific for all species studied and highly sophisticated for enable efficient pollination. Dissemination also aimed to successful seed propagation of plants varieties and the colonization of new territories. It is shown that the reproductive success of all species studied is greatly influence by growing conditions (soil-climatic conditions, the presence of insect pollinators, harming pests and viral pathogens, anthropogenic influence, etc.). All this, as it is known, plays a significant role in the development, reproduction, holding territories and the preservation of plants species.

Thus, research information supplements the data on plant embryology, allows to identify the reasons for the downsizing of the rare species of the Crimea flora, to determine their reproductive success and survival strategy; to identify common genesis of male and female generative patterns, features of the flower elements and pollinator insects, to demonstrate a close relationship of morphology of reproductive structures with their function in defining the role of the latter, making high specialization playback systems, and also shows its plasticity and reliability.

This study was partly funded by a research, project № 14-50-00079 of the Russian Scientific Foundation.

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИ-РЕГУЛИРУЕМЫЕ ТИПЫ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МУЖСКОЙ СТЕРИЛЬНОСТИ У СОРГО

Л.А. Эльконин¹, Г.А. Геращенко², В.В. Кожемякин¹, Н.А. Рожнова²

¹ НИИ сельского хозяйства Юго-Востока, г. Саратов,

² Институт биохимии и генетики УфНЦ РАН

lelkonin@gmail.com

Цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС) является исключительно удобной моделью для исследования генетического контроля развития мужских репродуктивных структур растений. Хорошо известно, что ЦМС возникает в результате нарушения скоординированного взаимодействия ядерных и цитоплазматических генов, контролирующих разные стадии этого процесса. Нами в процессе изучения генетики восстановления фертильности в некоторых типах стерильных цитоплазм сорго, общим свойством которых является нарушение вскрывания пыльников (A₃, A₄, 9E, M35-1A), выявлено необычное явление: гены-восстановители стабильно функционируют после самоопыления в потомстве гибридов F₁ с восстановленной мужской фертильностью, но очень слабо экспрессируются в тест-кроссах с ЦМС-линиями с тем же типом цитоплазмы.

Анализ этого явления в ЦМС типа 9E показал, что важным фактором, регулирующим восстановление фертильности в тест-кроссах, является уровень влагообеспеченности растений на этапе микроспорогенеза. «Индукцированная» высоким уровнем влагообеспеченности фертильность наследуется и проявляется в самоопыленном потомстве фертильных гибридов, выращенном в «неиндуктивных» условиях (в «засушнике»), при этом в большинстве семей наблюдается доминантный характер экспрессии генов-восстановителей фертильности. В тест-кроссах полученных фертильных линий с ЦМС-линиями экспрессия «индуцированной» фертильности вновь зависела от условий влагообеспеченности растений. Полученные данные свидетельствуют, что стерильность гибридов F₁ с ЦМС типа 9E обусловлена инактивацией генов-восстановителей в условиях засухи, тогда как при высоком уровне влагообеспеченности происходит их «включение». Эти данные служат наглядной иллюстрацией зависимости доминирования от условий внешней среды: в условиях высокой влагообеспеченности гены-восстановители ЦМС типа 9E проявляют доминирование в геноме гибридов F₁, тогда как в условиях засухи оказываются рецессивными.

Для выявления возможных причин утраты функциональной активности генов-восстановителей в геноме гибридов F₁ был проведен MSAP-анализ ДНК фертильных и стерильных растений с использованием праймеров к нескольким генам, участвующим в регуляции развития пыльников и пыльцы. Установлено специфическое изменение характера метилирования ядерного гена транскрипционного регулятора MYB46 в условиях засухи, коррелирующее с восстановлением мужской фертильности, при этом был выявлен маркерный ампликон размером 190 п.н., присутствующий в спектрах стерильных растений и отсутствующий у фертильных ревертантов.

У гибридов с ЦМС типа A₃ дополнительный полив увеличивал долю фертильных растений в тест-кроссах в 2 раза. Кроме того, фертильность тест-кроссов отрицательно коррелировала с показателем дефицита влажности воздуха в период цветения ($r=-0.96$; $P<0.01$). Фертильные растения из семей F₂ в условиях дополнительного полива, обладали значительно более высокой способностью к восстановлению фертильности тест-кроссов по сравнению с растениями, выращенными в условиях «засушника», которые через два поколения самоопыления (в F₄), оставаясь фертильными, полностью утрачивали восстановительную способность. Эти различия, возможно, связаны с эпигенетическими изменениями в генах-восстановителях, индуцируемыми условиями выращивания. Таким образом, восстановление фертильности в ЦМС сорго типов 9E и A₃ является эпигенетически-регулируемым признаком.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проекты №№ 13-04-01404, 16-04-01131.

EPIGENETICALLY-REGULATED TYPES OF CYTOPLASMIC MALE STERILITY IN SORGHUM

L.A. Elkonin¹, G.A. Gerashchenkov², V.V. Kozhemyakin¹, N.A. Rozhnova²

¹*Agricultural Research Institute of the South-East of Russia, Saratov,* ²*Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa*
e-mail: lElkonin@gmail.com

Cytoplasmic male sterility (CMS) is a convenient model for studying the mechanisms of genetic control of plant male reproductive structures. It is well known that cytoplasmic male sterility arises as a result of disturbances in closely coordinated interaction of nuclear and cytoplasmic genes controlling different stages of this process.

Our study of genetics of fertility restoration in some types of sorghum CMS-inducing cytoplasm, a common property of which is formation of non-dehiscent anthers (A₃, A₄, 9E, M35-1A), revealed an unusual phenomenon: fertility-restoring genes function in F₁ hybrids and in their self-pollinated progeny, but they are very weakly expressed in testcrosses with CMS lines with the same type of sterile cytoplasm.

Analysis of this phenomenon in the 9E CMS shows that an important factor governing restoration of fertility in testcrosses is the level of water availability during microsporogenesis. Male fertility induced by high water availability is inherited and expressed in the self-pollinated progeny of fertile hybrids grown in non-inductive conditions (in the dryland plots) as a dominant trait. In testcrosses of selected fertile lines with CMS-lines expression of “induced” fertility depends upon water availability at microsporogenesis. These data testify that male sterility of F₁ hybrids in the 9E cytoplasm may be caused by down-regulation of fertility-restoring genes by drought, whereas high water availability conditions up-regulate these genes. These data provide a clear illustration of dominance, depending on environmental conditions: under conditions of high water availability fertility-restoring genes show dominance in genome of F₁ hybrids, while under drought conditions they are recessive.

To identify the possible causes of the loss of functional activity of the 9E cytoplasm fertility-restoring genes in genome of F₁ hybrids, we performed MSAP-analysis of DNA of fertile and sterile plants with using specific primers targeted to the genes involved in regulation of anther and pollen development. We found a specific change in the nature of methylation of nucleotide sequence of the gene encoding transcription factor MYB46 occurring in drought conditions, correlating with expression of male sterility. Specific marker amplicon of 190 bp presenting in the spectra of sterile plants and lacking in fertile revertants was detected.

In the A₃ CMS, the frequency of fertile plants in testcrosses grown in the irrigated plots was two times higher than under dryland plots ($P < 0.05$). In addition, fertility of testcross hybrids negatively correlated with air vapor pressure deficit (VPD) at flowering ($r = -0.96$; $P < 0.01$) suggesting VPD is a trigger for down-regulation of *Rf*-genes for A₃ cytoplasm. Fertile plants from F₂ family grown in the irrigated plot had significantly higher ability to restore fertility of testcross hybrids, in comparison with fertile plants from the same F₂ family grown in the dryland plots. After two generations of self-pollination, fertile selections from the dryland plot lost fertility restoration ability, contrary to fertile selections from the irrigated plot. These differences may be associated with epigenetic changes in fertility-restoring genes induced by growth conditions. These data suggest that restoration of male fertility in the 9E and A₃ CMS of sorghum is epigenetically-regulated phenomenon.

This work was partially supported by the Russian Foundation for Basic Research, project № 13-04-01404, 16-04-01131.

**ПАЛИНОМОРФОЛОГИЧЕСКОЕ И ЭМБРИОЛОГИЧЕСКОЕ
РАЗНООБРАЗИЕ МУЖСКИХ ГЕНЕРАТИВНЫХ СТРУКТУР У
ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА *ROSACEAE***

Л.Ф. Яндовка

Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена,

Санкт-Петербург

e-mail: yandovkaTGU@mail.ru

Семейство *Rosaceae* – сложная в систематическом отношении группа. Объем и границы между таксонами в семействе до сих пор остаются предметом дискуссий. Многие виды – представители разных триб *Rosaceae* близки по комплексу признаков, переменчивы в разных экологических условиях и имеют множество переходных форм. Для уточнения и подтверждения их таксономического статуса, выявления эволюционных путей развития необходимо привлечение дополнительных анатомо-морфологических признаков, ранее не используемых систематиками. Так как мужские генеративные структуры наиболее переменчивы по сравнению с женской сферой, использование их в качестве видовых таксономических признаков является актуальным. Проведено палиноморфологическое и цитоэмбриологическое изучение мужских генеративных структур у наиболее крупных и широко распространенных во флоре Евразии родов триб *Rosaceae*.

Объектами исследования были представители 19 видов, относящихся, согласно Potter et al. (2007), к двум подсемействам: 1) *Rosoideae*, трибы *Potentilleae* (виды родов *Potentilla*, *Fragaria*, *Sanguisorba*), *Colurieae* (*Rosa*, *Rubus*), 2) *Spiraeoideae*, трибы *Pyreae* (*Pyrus*, *Malus*, *Cotoneaster*, *Sorbus*, *Cydonia*, *Crataegus*), *Amygdaleae* (*Prunus*), *Sorbarieae* (*Amelanchier*), *Spiraeae* (*Spiraea*). Для светооптического изучения пыльцы применяли классический ацетолизный метод Эрдтмана (Erdtman, 1952). Детали строения поверхности пыльцевых зерен уточняли на сканирующем электронном микроскопе Zeiss EVO-40 в Центре коллективного пользования «Атомно-силовой и электронной микроскопии» РГПУ им. А.И. Герцена. Строение стенки микроспорангия пыльника изучали путем приготовления постоянных микропрепаратов по общепринятой методике (Паушева, 1974) с окрашиванием гематоксилином по Гейденгайну.

Пыльцевые зерна изученных представителей *Rosaceae* одиночные, изопольные, трехбороздные или трехбороздно-поровые; у некоторых растений (*Sanguisorba officinalis*) обнаружена шестибороздная пыльца. Результаты показали широкую морфологическую переменчивость экзины пыльцы у исследуемой группы растений. У большинства розоцветных поверхность пыльцы струйчатая, однако, встречаются сетчатые, и микроперфорированные поверхности, а также переходные варианты между ними. Выявлены признаки скульптуры поверхности пыльцы, по которым виды *Rosaceae* более всего различаются: характер борозды пыльцевого зерна на всем ее протяжении (глубина и ширина борозды в разных ее частях, уровень погруженности борозды, изрезанность края борозды). Наряду с этим, сравнительный анализ пыльцы позволил выявить общий таксонспецифичный признак, характерный для представителей разных триб в подсемействах *Rosaceae*, - отсутствие слияния борозд на поверхности пыльцевого зерна (борозды далеко или немного не доходят до полюсов).

Эмбриологическое изучение пыльника показало, что число слоев стенки микроспорангия у всех видов *Rosaceae* остается постоянным (эпидерма, эндотеций, средний слой и тапетум). Однако, такие признаки, как форма и размеры клеток каждого слоя, число рядов клеток среднего слоя, наличие или отсутствие фиброзных утолщений в клетках эндотеция, наличие или отсутствие клеток тапетума в сформированной стенке микроспорангия неодинаковые у разных видов.

Выявленные таксонспецифичные признаки мужских генеративных структур, будут использованы для определения филогенетических связей между таксонами в системах *Rosoideae* и *Spiraeoideae* (*Rosaceae*).

**PALYNOMORPHOLOGICAL AND EMBRYOLOGICAL DIVERSITY OF
MALE GENERATIVE STRUCTURES IN REPRESENTATIVES OF THE
ROSACEAE FAMILY**

L.F. Yandovka

*The Herzen State Pedagogical University of Russia, Saint-Petersburg
e-mail: yandovkaTGU@mail.ru*

The *Rosaceae* family is a taxonomically complex group. The volume and boundaries between taxa in the family are still the question under discussion. Many species, representatives of different *Rosaceae* tribes, are close by the complex of traits, are variable under different environmental conditions and have many transitional forms. To clarify and confirm their taxonomic status, identification of the evolutionary paths of development it is necessary to attract additional anatomical and morphological traits that were not previously used by taxonomists. Since the male generative structures are more variable in comparison with the female sphere, their use as taxonomic characters is important. The palynomorphological and cytoembryological research on male generative structures in the largest and most widespread in flora Eurasian genera of *Rosaceae* tribes was carried out.

The objects of the research were representatives of 19 species belonging, according to Potter et. al. (2007), to two subfamilies: 1) *Rosoideae*, *Potentilleae* tribe (*Rotentilla*, *Fragaria*, *Sanguisorba* genera types), *Colurieae* (*Rosa*, *Rubus*), 2) *Spiraeoideae*, *Pyreae* tribe (*Pyrus*, *Malus*, *Cotoneaster*, *Sorbus*, *Cydonia*, *Crataegus*), *Amygdaleae* (*Prunus*), *Sorbarieae* (*Amelanchier*), *Spiraeae* (*Spiraea*). The classic acetolytic method of Erdtman was used for light-optical study of pollen (Erdtman, 1952). Details of the surface structure of pollen grains were clarified in a scanning electron microscope – Zeiss EVO-40 – at the Center of shared knowledge, "Atomic-powered and electron microscopy" at Herzen University. The wall structure of an anther microsporangium was studied by preparing a permanent micropreparations by the common method (Paushev, 1974) staining with hematoxylin by Heidenhain.

Pollen grains of studied *Rosaceae* representatives are single, isopolar, tricolpate or tricolpate-ellipsoid; in some plants (*Sanguisorba officinalis*) there is hexacolpate pollen. The results showed a wide morphological variability of an exine in pollen in the studied group of plants. The majority of *Rosaceae* pollen has got an undulated surface; however, there are net and microperforated surfaces and transient variations between them. The sculpture surface signs of pollen were revealed according to which *Rosaceae* species are most distinguished: the nature of the pollen grain grooves along its entire length (the depth and the width of grooves in its various parts, the level of grooves embedment, irregularity of a groove edge). In addition, a comparative analysis of pollen revealed a taxon-specific common feature that is characteristic of different tribe members in the *Rosaceae* subfamily – the absence of grooves mergence on the surface of the pollen grain (grooves are far or do not reach the poles a little).

Embryological studies of an anther showed that the number of layers of microsporangium wall in all species of *Rosaceae* remains constant (an epidermis, an endothecium, a middle layer and a tapetum). However, such features as the shape and the size of each layer of cells, the number of rows of the middle layer of cells, the presence or absence of fibrotic nodules in endothecium cells, the presence or absence of the tapetum cells in the developed wall of a microsporangium are unequal in different species.

The identified taxon-specific signs of male generative structures revealed will be used for determining the phylogenetic relationships between taxa in the systems of *Rosoideae* and *Spiraeoideae* (*Rosaceae*).

СОДЕРЖАНИЕ

Приветственное обращение к участникам Школы Г. Е. Титовой от имени Оргкомитета.....	7
Титова Г. Е. ПУТЬ В НАУКЕ И ТВОРЧЕСКОЕ НАСЛЕДИЕ ТАТЬЯНЫ БОРИСОВНЫ БАТЫГИНОЙ (1927-2015).....	9
Новоселова Л. В., Верещагина В. А. ТАТЬЯНА БОРИСОВНА БАТЫГИНА – ИНИЦИАТОР МЕЖДУНАРОДНЫХ ШКОЛ ДЛЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ «ЭМБРИОЛОГИЯ, ГЕНЕТИКА И БИОТЕХНОЛОГИЯ» (на примере IV Школы, Пермь, 3–9 декабря 2012 г.).....	17
S.V.S. Chauhan, Seema Chauhan MARVELS OF TAPETUM.....	25
Акинина В. Н., Хомякова О. В., Поминов А. В. ГАПЛОИДИЯ В КУЛЬТУРЕ ПЫЛЬНИКОВ ТРИТИКАЛЕ: ВЛИЯНИЕ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД.....	26
Алтаева Н. А., Исакова А. Б., Терлецкая Н. В. ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ КАЛЛУСНЫХ ТКАНЕЙ ВИДОВ И ГИБРИДОВ ПШЕНИЦЫ.....	28
Анапияев Б. Б., Исакова К. М., Бейсенбек Е. Б. ПУТИ РАЗВИТИЯ МИКРОСПОР ПШЕНИЦЫ IN VITRO И ПРОЦЕССЫ ОБРАЗОВАНИЯ СПОНТАННЫХ ДИГАПЛОИДНЫХ РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ.....	30
Андропова Е. В. КОМПЛЕКСНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИИ РЕДКИХ ВИДОВ ОРХИДНЫХ В СВЯЗИ С РАЗРАБОТКОЙ БИОТЕХНОЛОГИЙ ИХ РАЗМНОЖЕНИЯ.....	32
Анисимова Г. М. ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ ПЫЛЬНИКА У НЕКОТОРЫХ ВИДОВ <i>KALANCHOE</i> (CRASSULACEAE) В УСЛОВИЯХ ИНТРОДУКЦИИ.....	34
Апанасова Н. В., Гуторова О. В. МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ ГАПЛОИДОВ У КУКУРУЗЫ НА ОСНОВЕ НАСЛЕДУЕМОГО И НЕНАСЛЕДУЕМОГО ПАРТЕНОГЕНЕЗА.....	36

Бабро А. А. НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ НАДЕЖНОСТИ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ У РОДОДЕНДРОНОВ (<i>RHODODENDRON L.</i>).....	38
Батыгина Т. Б., Исаева В. В. СИСТЕМЫ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК РАСТЕНИЙ И ЖИВОТНЫХ – ОСНОВА РАЗВИТИЯ, ВЫЖИВАНИЯ И РЕПРОДУКЦИИ ОРГАНИЗМА.....	40
Брюхин В.Б. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ АПОМИКСИСА....	42
Буглова Л. В. АНОМАЛИИ МЕЙОЗА И ФОРМИРОВАНИЯ ПЫЛЬЦЫ У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА <i>TROLLIUS</i>.....	44
Буданцев А. Ю. О ГИСТОЛОГИЧЕСКОМ ПРОЦЕССИНГЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ТКАНЕЙ (ИСТОЧНИКИ АРТЕФАКТОВ ПРИ ФИКСАЦИИ, ПЕРЕЖИВАЮЩИЕ СРЕЗЫ РАСТИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ).....	46
Бутузова О. Г. ДОРАЗВИТИЕ ЗАРОДЫША ПОСЛЕ ДИССЕМИНАЦИИ КАК ОДНА ИЗ РЕПРОДУКТИВНЫХ СТРАТЕГИЙ ПОКРЫТОСЕМЕННЫХ.....	48
Бутузова О. Г., Жинкина Н. А. БИОЛОГИЯ ПРОРАСТАНИЯ СЕМЯН <i>PAEONIA SUFFRUTICOSA</i> ANDREWS В УСЛОВИЯХ ИНТРОДУКЦИИ.....	50
Виноградова Г. Ю. МОРФОГЕНЕТИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯЦИИ: АНАЛИЗ ПРОГРАММ РАЗВИТИЯ ЖЕНСКОГО ГАМЕТОФИТА ПОКРЫТОСЕМЕННЫХ РАСТЕНИЙ.....	52
Вишнякова М. А. ЭВОЛЮЦИЯ СИСТЕМ СЕМЕННОЙ РЕПРОДУКЦИИ В ПРОЦЕССЕ ОКУЛЬТУРИВАНИЯ РАСТЕНИЙ (НА ПРИМЕРЕ БОБОВЫХ).....	54
Волкова О. А., Ремизова М. М., Соколов Д. Д., Северова Е. Э. МИКРОСПОРОГЕНЕЗ <i>SCHEUCHZERIA PALUSTRIS</i>: РАЗНООБРАЗИЕ ТИПОВ ТЕТРАД.....	56
Воронова О. Н. АПОМИКСИС У ЦВЕТКОВЫХ РАСТЕНИЙ.....	58

Герашенков Г. А., Рожнова Н. А., Ясыбаева Г. Р., Чемерис А. В. КОНСТРУИРОВАНИЕ АПОМИКСИСА - КЛЮЧЕВОЕ НАПРАВЛЕНИЕ В ИССЛЕДОВАНИИ БЕСПОЛОСЕМЕННОГО РАЗМНОЖЕНИЯ.....	60
Грошева Е. В., Маслова М. В. ВЛИЯНИЕ ТОКСИНОВ ЭНДОФИТНОЙ БАКТЕРИИ НА РЕПРОДУКТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА <i>TULIPA</i> L.....	62
Гуля Н. И., Маслова Е. В., Петросян М. Т. ПОЛУЧЕНИЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ КУЛЬТУР НЕКОТОРЫХ РЕДКИХ И ИСЧЕЗАЮЩИХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ ФЛОРЫ БЕЛГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ В УСЛОВИЯХ IN VITRO.....	64
Десницкий А. Г. МОРФОГЕНЕЗ РЕПРОДУКТИВНЫХ СТРУКТУР И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗМЕНЕНИЕ ПОЛА У ЗЕЛЕННЫХ ВОДОРОСЛЕЙ РОДА <i>VOLVOX</i>.....	66
Доморацкая Д. А., Матвеева Т. В. ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДА ПОЛУЧЕНИЯ КУЛЬТУРЫ КОСМАТЫХ КОРНЕЙ <i>LINARIA MAROCCANA</i> L.....	68
Дорофеева М. М. ЭМБРИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СТРОЕНИЯ И РАЗВИТИЯ СЕМЯЗАЧАТКОВ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ РОДА <i>IRIS</i> L. (<i>IRIDACEAE</i>).....	70
Евдокимова Е. Е., Андропова Е. В., Семенов А. В. ОСОБЕННОСТИ СЕМЕННОГО РАЗМНОЖЕНИЯ У <i>ORCHIS PURPUREA</i> SSP. <i>CAUCASICA</i> (<i>ORCHIDACEAE</i>).....	76
Ермаков И. П., Матвеева Н. П., Брейгина М. А. ФИЗИОЛОГИЯ ГАПЛОИДНОГО ПОКОЛЕНИЯ СЕМЕННЫХ РАСТЕНИЙ: МУЖСКОЙ ГАМЕТОФИТ.....	72
Ермошин А. А., Зимницкая С. А., Стрекалова С. А. ВЛИЯНИЕ ГИПЕРПРОДУКЦИИ АУКСИНА НА РАЗВИТИЕ МУЖСКОГО ГАМЕТОФИТА ТАБАКА.....	74
Жакова С. Н., Новоселова Л. В. РЕПРОДУКТИВНАЯ БИОЛОГИЯ ВИДОВ И КУЛЬТИВАРОВ РОДА СИРЕНЬ (<i>SYRINGA</i> L., <i>OLEACEAE</i>).....	78
Жинкина Н.А. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭМБРИОЛОГИЯ ВИДОВ РОДА <i>SAMPANULA</i> (<i>SAMPANULACEAE</i>).....	80

Жужжалова Т. П., Васильченко Е. Н., Подвигина О. А. ИНДУЦИРОВАНИЕ <i>IN VITRO</i> ГАПЛОИДНОГО ПАРТЕНОГЕНЕЗА.....	82
Иванов В. Б. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИЗУЧЕНИЯ АПИКАЛЬНЫХ МЕРИСТЕМ КОРНЕЙ.....	84
Иванова А. Н. ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ: ОТ КЛЕТОК ДО МОЛЕКУЛ ...	86
Ивасенко Ж. В. РАЗВИТИЕ <i>DACTYLORHIZA MACULATA</i> S.L. (ORCHIDACEAE) В КУЛЬТУРЕ <i>IN VITRO</i> И В ПРИРОДНЫХ УСЛОВИЯХ.....	88
Кадырова Л. Р. ПЫЛЬЦЕВАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ И ФЕРТИЛЬНОСТЬ ПЫЛЬЦЫ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА <i>FAGOPYRUM</i> MILL.....	90
Кайбелева Э. И., Юдакова О. И. ОСОБЕННОСТИ РЕПРОДУКЦИИ ДИКОРАСТУЩИХ ЗЛАКОВ ФЛОРЫ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ.....	92
Карабицина Ю. И., Анисимова И. Н., Воронова О. Н., Алпатьева Н. В., Гаврилова В. А. ОСОБЕННОСТИ НАСЛЕДОВАНИЯ ПРИЗНАКА ФЕРТИЛЬНОСТИ ПЫЛЬЦЫ У МЕЖЛИНЕЙНОГО ГИБРИДА ПОДСОЛНЕЧНИКА.....	94
Карасёва Т. А. НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ АНТЭКОЛОГИИ ОХРАНЯЕМОГО ВИДА <i>SALVIA AUSTRIACA</i> JACQ.....	96
Карпунина П. В., Нуралиев М. С., Оскольский А. А., Соколов Д. Д. ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ЦВЕТКА У НЕКОТОРЫХ МАЛАГАСИЙСКИХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА <i>POLYSCIAS</i> (<i>ARALIACEAE</i>: APIALES).....	98
Кашин А. С., Крицкая Т. А., Петрова Н. А., Шилова И. В., Попова А. О., Пархоменко А. С. ПОЛИМОРФИЗМ В ПОПУЛЯЦИЯХ ВИДОВ <i>CHONDRILLA</i> ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ В СВЯЗИ С ОСОБЕННОСТЯМИ СЕМЕННОГО РАЗМНОЖЕНИЯ.....	100
Кетова М. В., Кузнецова В. О., Данилова М. А. ФЕРТИЛЬНОСТЬ ПЫЛЬЦЫ И ЗАРОДЫШЕВЫХ МЕШКОВ ЧЕРНИКИ ОБЫКНОВЕННОЙ (<i>VACCINIUM MYRTILLUS</i> L.).....	102

Кливер С. Ф. ОСНОВНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ГЕНОМНОЙ БИОИНФОРМАТИКИ РАСТЕНИЙ.....	104
Ковалева Л. В., Захарова Е. В., Воронков А. С., Тимофеева Г. В., Минкина Ю. В. ФИТОГОРМОНЫ И ПОЛЯРНЫЙ РОСТ ПЫЛЬЦЕВОЙ ТРУБКИ.....	106
Коврижных В. В., Пастернак Т., Омелянчук Н. А., Миронова В. В. ДОЗОЗАВИСИМАЯ РЕГУЛЯЦИЯ АУКСИНОМ ЭКСПРЕССИИ И ПОЛЯРНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ PIN БЕЛКОВ В МЕРИСТЕМЕ КОРНЯ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> L.....	108
Кравец Е. А., Сидорчук Ю. В., Мурсалимов С. Р., Дейнеко Е. В., Емец А. И., Блюм Я. Б. ЦИТОМИКСИС КАК ФОРМА КОЛЛЕКТИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ И САМООРГАНИЗАЦИИ КЛЕТОК В МИКРОСПОРОГЕНЕЗЕ ПОКРЫТОСЕМЕННЫХ.....	110
Кравцова Т. И. О ЗНАЧЕНИИ СТРОЕНИЯ СЕМЕННОЙ КОЖУРЫ ДЛЯ СИСТЕМАТИКИ ПОКРЫТОСЕМЕННЫХ РАСТЕНИЙ.....	112
Крицкая Т. А., Кашин А. С. ГЕННЫЙ БАНК <i>IN VITRO</i> РЕДКИХ И ИСЧЕЗАЮЩИХ РАСТЕНИЙ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ.....	114
Круглова Н. Н., Сельдимирова О. А., Зайцев Д. Ю., Галин И. Р., Зинатуллина А. Е. МИКРОСПОРА КАК МОДЕЛЬНАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ СПОРОФИТНЫХ ПУТЕЙ МОРФОГЕНЕЗА РАСТЕНИЙ <i>IN VITRO</i>.....	116
Кузнецова Е. Н. НАЧАЛЬНЫЕ ЭТАПЫ В РАЗВИТИИ РЯДА РЕДКИХ РАСТЕНИЙ УДМУРТИИ В УСЛОВИЯХ <i>IN VITRO</i>.....	118
Кузьмина Т. Н. КРИТИЧЕСКИЕ СТАДИИ В РАЗВИТИИ СЕМЯН КАННЫ САДОВОЙ И ЛИЛЕЙНИКА ГИБРИДНОГО.....	120
Куликова А. И., Скапцов М. В. АНАЛИЗ МУТАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ <i>LONICERA CAERULEA</i> (<i>CAPRIFOLIACEAE</i>) В ЛОКАЛЬНОЙ СЕЙСМОТЕКТОНИЧЕСКИ АКТИВНОЙ ЗОНЕ.....	122

Лавреха В. В., Пастернак Т., Миронова В. В. ТРЕХМЕРНАЯ КАРТА ПРОЛИФЕРАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ В КОНЧИКЕ КОРНЯ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i>: РАДИАЛЬНАЯ, БИЛАТЕРАЛЬНАЯ И ПРОДОЛЬНАЯ СИММЕТРИИ.....	124
Максимов Н. М. РЕДОКС-РЕГУЛЯЦИЯ ПРОГАМНОЙ ФАЗЫ ОПЛОДОТВОРЕНИЯ.....	126
Маслова М. В., Дубровский М. Л. ОЦЕНКА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ПЫЛЬЦЫ РАСТЕНИЙ РОДА <i>CERASUS</i> В УСЛОВИЯХ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ МЕТАБОЛИТОВ БАКТЕРИИ <i>PSEUDOMONAS</i>.....	128
Медведев С. С. СИСТЕМНАЯ БИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ.....	130
Новоселова Л. В., Верещагина В. А., Колясникова Н. Л. ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ БИОЛОГИИ И ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ В ПЕРМИ.....	132
Нотов А. А. МОДУЛЬНЫЕ ОРГАНИЗМЫ КАК ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ БИОЛОГИИ.....	134
Осадчий Я. В. АПОМИКСИС В РОДЕ <i>BOECHERA</i> Á. LÖVE & D. LÖVE (<i>BRASSICACEAE</i>) ПО ДАННЫМ КЛАССИЧЕСКИХ И СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	136
Пак М. Э., Иваницкая А. С., Лисецкая И. А., Третьякова И. Н. АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТАБИЛЬНОСТИ ДЛИТЕЛЬНО ПРОЛИФЕРИРУЮЩИХ ЭМБРИОГЕННЫХ КУЛЬТУР И ПОЛУЧЕННЫХ ОТ НИХ САЖЕНЦЕВ ЛИСТВЕННИЦЫ СИБИРСКОЙ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ МАРКЕРОВ.....	138
Пушкарева Л. А. СРАВНИТЕЛЬНАЯ МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОДНО- И ДВУСЕЯДОЛЬНЫХ ЗАРОДЫШЕЙ И ПРОРОСТКОВ <i>PINGUICULA VULGARIS</i> L. (<i>LENTIBULARIACEAE</i>).....	140

Родионов А. В. «...ОТ ИСХОДНОГО ЕДИНООБРАЗИЯ, ЧЕРЕЗ МАКСИМАЛЬНО ВЫСОКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ, К КОНЕЧНОМУ ЕДИНООБРАЗИЮ» – ГЕНОМНЫЙ ШОК И ВТОРИЧНАЯ ДИПЛОИДИЗАЦИЯ КАК ЭТАПЫ НА ПУТИ СТАНОВЛЕНИЯ НОВОГО ВИДА.....	142
Родионова Г. Б. ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ СВЯЗИ СЕМЕЙСТВ ПОРЯДКА <i>CAPPARALES</i> ПО ДАННЫМ СРАВНИТЕЛЬНОЙ ЭМБРИОЛОГИИ И АНАТОМИИ СЕМЯН.....	144
Романова В. О., Кравцова Т. И. СТРУКТУРА ОБЛАСТИ РУБЧИКА У СЕМЯН ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ТРИБЫ <i>SILENEAE</i> DC (<i>CARYOPHYLLACEAE</i> JUSS.).....	146
Романова М. А., Евкайкина А. И., Климова Е. А., Тютерева Е. В., Добрякова К. С., Иванова А. Н., Rawlowski K., Berke L., Wera E., Войцеховская О. В. АПИКАЛЬНАЯ МЕРИСТЕМА ПОБЕГА И МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ЭВОЛЮЦИЯ: СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РАЗНЫХ ТАКСОНОВ РАСТЕНИЙ.....	148
Рудский И. В. МАТЕМАТИЧЕСКОЕ ОПИСАНИЕ МОРФОГЕНЕЗА РАСТЕНИЙ...150	
Самарина Л. С. БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К СОЗДАНИЮ КОЛЛЕКЦИИ ГЕНОРЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ.....	152
Синюшин А. А. МЕРНОСТЬ ЦВЕТКА И ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА НЕЕ.....	154
Смоликова Г. Н. ФОТОСИНТЕЗ В СЕМЕНАХ ХЛОРОЭМБРИОФИТОВ.....	156
Соколов В. А., Панихин П. А. АПОМИКСИС У ГИБРИДОВ КУКУРУЗЫ С ГАМАГРАССОМ.....	158
Соколов Д. Д., Карпунина П. В., Нуралиев М. С., Оскольский А. А., Ремизова М. В., Фомичев К. И. РЕДУКЦИОННЫЕ ПРОЦЕССЫ В ЭВОЛЮЦИИ ГИНЕЦЕЯ ПОКРЫТОСЕМЕННЫХ РАСТЕНИЙ: МОНОМЕРИЯ И ПСЕВДОМОНОМЕРИЯ.....	160

Титова Г. Е. ФЕНОМЕН «СИАМСКИХ ЗАРОДЫШЕЙ» У РАСТЕНИЙ, ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ В ЭВОЛЮЦИИ И ПРИКЛАДНОЕ ЗНАЧЕНИЕ.....	162
Торшилова А. А. ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССА ДВОЙНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ У <i>DIOSCOREA NIPPONICA</i> И <i>D. CAUCASICA</i> (DIOSCOREACEAE).....	164
Третьякова И. Н. ЭМБРИОГЕНЕЗ ПОЛОВЫХ (В ЕСТЕСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ) И СОМАТИЧЕСКИХ ЗАРОДЫШЕЙ ХВОЙНЫХ <i>IN VITRO</i>.....	166
Трусов Н. А. МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ СЕМЕНИ И АРИЛЛУСА <i>EUPHORBIA SEGUERIANA</i>.....	168
Трущелева О. С., Лобанова Л. П., Колесова А. Ю. ЗАВИСИМОСТЬ СТРОЕНИЯ ПЫЛЬЦЫ КУКУРУЗЫ ОТ ПЛОИДНОСТИ РАСТЕНИЙ.....	170
Угольников Е. В., Кашин А. С., Попова А. О. АПОМИКТИЧНЫЙ СПОСОБ РЕПРОДУКЦИИ У ВИДОВ <i>CHONDRILLA</i> L. ЮГА ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ.....	172
Феоктистова Я. А., Кривошеев М. М., Ишмуратова М. М. ИЗМЕНЧИВОСТЬ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ РЕПРОДУКТИВНЫХ И ВЕГЕТАТИВНЫХ ОРГАНОВ <i>EPIPACTIS ATRORUBENS</i> И ГИБРИДНЫХ ОСОБЕЙ <i>E. × SCHMALHAUSENI</i>.....	174
Хомякова О. В., Акинина В. Н., Поминов А. В. ПОЛУЧЕНИЕ ГАПЛОИДОВ ТРИТИКАЛЕ В КУЛЬТУРЕ ПЫЛЬНИКОВ <i>IN VITRO</i> - ПРЕДОБРАБОТКА ДОНОРНЫХ РАСТЕНИЙ ХОЛОДОМ.....	176
Цветова М. И., Эльконин Л. А., Итальянская Ю. В. ВЫЯВЛЕНИЕ НЕРЕДУЦИРОВАННОГО АПОМИКСИСА В ИНБРЕДНЫХ ЛИНИЯХ СОРГО И КУКУРУЗЫ.....	178
Черткова М. А., Новоселова Л. В. РЕПРОДУКТИВНАЯ БИОЛОГИЯ <i>GLADIOLUS IMBRICATUS</i> L. И <i>G. TENUIS</i> ВИБ.....	180

Шаварда А. Л. МЕТАБОЛОМИКА, <i>OMNES ET SINGULAS</i>.....	182
Шамров И. И. РАЗНООБРАЗИЕ СЕМЯЗАЧАТКОВ И ВОЗМОЖНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ИХ ТРАНСФОРМАЦИЙ.....	183
Шевченко С. В. ЦИТОЛОГО-ЭМБРИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ В НИКИТСКОМ БОТАНИЧЕСКОМ САДУ.....	185
Эльконин Л. А., Геращенко Г. А., Кожемякин В. В., Рожнова Н. А. ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИ-РЕГУЛИРУЕМЫЕ ТИПЫ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МУЖСКОЙ СТЕРИЛЬНОСТИ У СОРГО.....	187
Яндовка Л. Ф. ПАЛИНОМОРФОЛОГИЧЕСКОЕ И ЭМБРИОЛОГИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ МУЖСКИХ ГЕНЕРАТИВНЫХ СТРУКТУР У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА <i>ROSACEAE</i>.....	189
Содержание	191

CONTENT

Welcome address to the School participants.....	8
Titova G. E. TATYANA BORISOVNA BATYGINA (1927-2015), LEGACY AND SCIENTIFIC CAREER.....	13
Novoselova L.V., Vereschagina V. A. TATYANA BORISOVNA BATYGINA – INITIATOR OF THE INTERNATIONAL SCHOOL FOR YOUNG SCIENTISTS "EMBRYOLOGY, GENETICS AND BIOTECHNOLOGY."(through the example of IV School, Perm, 3–9 December, 2012).....	21
S.V.S. Chauhan, Seema Chauhan MARVELS OF TAPETUM.....	25
Akinina V. N., Khomyakova O. V., Pominov A. V. HAPLOIDY IN TRITICALE ANTHHER CULTURE - THE IBFLUENCE OF THE MEDIUM COMPOSITION.....	27
Altayeva N. A., Iskakova A. B., Terletsckaya N. V. CYTOLOGICAL STUDIES CALLUS TISSUES SPECIES AND HYBRIDS OF WHEAT.....	29
Anapiyayev B. B., Iskakova K. M., Beisenbek Y. B. WAYS OF DEVELOPMENT OF WHEAT MICROSPORES <i>IN VITRO</i> AND PROCESSES OF SPONTANEOUS FORMATION OF DOUBLED HAPLOID REGENERANT- PLANTS.....	31
Andronova E. V. A COMPREHENSIVE STUDY OF THE BIOLOGY OF RARE SPECIES ORCHID IN THE DEVELOPMENT OF BIOTECHNOLOGICAL METHODS OF REPRODUCTION.....	33
Anisimova G. M. PECULIARITIES OF ANTHHER STRUCTURE IN SOME SPECIES OF <i>KALANCHOE</i> (CRASSULACEAE) UNDER INTRODUCTION.....	35
Apanasova N. V., Gutorova O. V. METHODS OF CORN HAPLOIDS PRODUCTION ON THE BASIS OF THE HERITABLE AND NONHERITABLE PARTHENOGENESIS.....	37
Babro A. A. SOME ASPECTS OF REPRODUCTION SYSTEM RELIABILITY IN RHODODENDRONS (<i>RHODODENDRON</i> L.).....	39
Batygina T. B., Isaeva V. V. STEM CELL SYSTEMS IN PLANTS AND ANIMALS – THE BASIS OF DEVELOPMENT, SURVIVAL AND REPRODUCTION.....	41
Brukhnin V. B. MOLECULAR AND GENETIC REGULATION OF APOMIXIS.....	43
Budantsev A. Yu. THE HISTOLOGICAL PROCESSING OF PLANT TISSUES (FIXATION’S ARTEFACTS, SLICES OF PLANT TISSUES).....	47
Buglova L. V. ABNORMALITIES OF MEIOSIS AND POLLEN PRODUCTION IN <i>TROLLIUS</i> SPECIES.....	45
Butuzova O. G. EMBRYO POSTDEVELOPMENT AFTER DISSEMINATION AS ONE OF REPRODUCTIVE STRATEGIES IN ANGIOSPERMS.....	49

Butuzova O. G., Zhinkina N. A. GERMINATION BIOLOGY OF SEEDS IN <i>PAEONIA SUFFRUTICOSA</i> ANDREWS AT INTRODUCTION.....	51
Chertkova M. A., Novoselova L. V. REPRODUCTIVE BIOLOGY OF <i>GLADIOLUS IMBRICATUS</i> L. И <i>GLADIOLUS TENUIS</i> BIEB.....	181
Desnitskiy A. G. MORPHOGENESIS OF REPRODUCTIVE STRUCTURES AND EXPERIMENTAL SEX CHANGE IN THE GREEN ALGAE OF THE GENUS <i>VOLVOX</i>	67
Domoratskaya D. A., Matveeva T. V. OPTIMIZATION OF THE METHOD OF RECEIVING OF THE HAIRY ROOTS CULTURE OF <i>LINARIA MAROCCANA</i> L.....	69
Dorofeeva M. M. COMPARATIVE STUDY OF OVULE STRUCTURE IN SPECIES OF <i>IRIS</i> L. (IRIDACEAE).....	71
Elkonin L. A., Gerashchenkov G. A., Kozhemyakin V. V., Rozhnova N. A. EPIGENETICALLY-REGULATED TYPES OF CYTOPLASMIC MALE STERILITY IN SORGHUM.....	188
Ermoshin A. A., Zimnitskaya S. A., Strekalova S. A. AUXIN HYPERPRODUCTION EFFECT ON TOBACO MALE GAMETOPHYTE DEVELOPMENT.....	75
Evdokimova E. E., Andronova E. V., Semenov A. V. FEATURES OF SEED PROPAGATION IN ORCHIS PURPUREA SSP. CAUCASICA (ORCHIDACEAE).....	77
Feoktistova Y. A., Krivosheev M. M., Ishmuratova M. M. THE VARIABILITY OF MORPHOLOGICAL FEATURES OF REPRODUCTIVE AND VEGETATIVE ORGANS <i>EPIPACTIS ATROPURBENS</i> AND HYBRID INDIVIDUALS <i>E. × SCHMALHAUSENII</i>	175
Gerashchenkov G. A., Rozhnova N. A., Yasybayeva G. R., Chemeris A. V. ENGINEERING OF APOMIXIS IS THE KEY DIRECTION IN RESEARCH OF SEEDS-WITHOUT-SEX REPRODUCTION.....	61
Grosheva E. V., Maslova M. V. EFFECT OF ENDOPHYTIC BACTERIAL TOXINS ON REPRODUCTIVE POTENTIAL OF <i>TULIPA</i> L.....	63
Gulya N. I., Maslova E. V., Petrosyan M. T. OBTAINING ISOLATED CULTURES OF SOME RARE AND ENDANGERED PLANT SPECIES OF FLORA IN THE BELGOROD REGION IN VITRO.....	65
Ivanov V. B. ROOT APICAL MERISTEM: STATE OF THE ART.....	85
Ivanova A. N. ELECTRON MICROSCOPY: FROM CELLS TO MOLECULES.....	87
Ivasenko Zh. V. DEVELOPMENT OF <i>DACTYLORHIZA MACULATA</i> S.L. (ORCHIDACEAE) IN CULTURE <i>IN VITRO</i> AND IN NATURAL CONDITIONS.....	89
Kadyrova L. R. POLLEN PRODUCTIVITY AND FERTILITY OF POLLEN IN THE GENUS <i>FAGOPYRUM</i> MILL.....	91

Karabitsina Yu. I., Anisimova., I. N., Voronova O. N., Alpatyeva N. V., Gavrilova V. A. THE PECULIARITIES OF INHERITANCE OF POLLEN FERTILITY CHARACTERISTICS IN AN INTERLINE SUNFLOWER HYBRID.....	95
Karasyova T. A. SELECTED ASPESTS OF <i>SALVIA AUSTRIACA</i> JACQ. ANTHOECOLOGY.....	97
Karpunina P. V., Nuraliev M. S., Oskolski A. A., Sokoloff D. D. FEATURES OF FLOWER DEVELOPMENT IN SOME MALAGASY SPECIES OF <i>POLYSCIAS</i> (ARALIACEAE: APIALES).....	99
Kashin A., Kritskaya T., Petrova N., Shilova I., Popova A., Parkhomenko A. POLYMORPHISM AND PECULIARITIES OF SEED REPRODUCTION IN <i>CHONDRILLA</i> POPULATIONS OF EUROPEAN RUSSIA.....	101
Kaybeleva E. I., Yudakova O. I. REPRODUCTION FEATURES OF WILD CEREALS OF THE SARATOV REGIONAL FLORA.....	93
Ketova M. V., Kuznetsova V. O., Danilova M. A. POLLEN AND EMBRYO SAC FERTILITY OF <i>VACCINIUM MYRTILLUS</i> L.....	103
Khomyakova O. V., Akinina V. N., Pominov A. V. THE OBTAINING OF TRITICALE HAPLOID PLANTS – A PRETREATMENT OF THE DONOR PLANTS BY COLD SHOK.....	177
Kliver S. F. MAIN PROBLEMS OF PLANT GENOME BIOINFORMATICS.....	105
Kovaleva L. V., Zakharova E. V., Voronkov A. S., Timofeeva G. V., Minkina Y. V. PHYTOHORMONES AND POLLEN TUBE POLAR GROWTH.....	107
Kovrizhnykh V. V., Pasternak T., Omelyanchuk N. A., Mironova V. V. AUXIN DOSE-DEPENDEND REGULATION OF PIN EXPRESSION AND THEIR POLAR LOCALISATION IN THE ROOT MERISTEME OF <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> L.....	109
Kravets E. A., Sidorchuk Yu. V., Mursalimov S. R., Deineko E. V., Yemets A. I., Blume Ya. B. CYTOMIXIS AS A FORM OF COLLECTIVE BEHAVIOR AND OF CELL SELF-ORGANIZATION IN ANGIOSPERMS MICROSPOROGENESIS.....	111
Kravtsova T. I. ON SIGNIFICANCE OF SEED COAT STRUCTURE FOR SYSTEMATICS OF ANGIOSPERMS.....	113
Kritskaya T. A., Kashin A. S. <i>IN VITRO</i> GENE BANK OF RARE AND ENDANGERED PLANTS OF SARATOV REGION.....	115
Kruglova N. N., Seldimirova O. A., Zaitsev D. Yu., Galin I. R., Zinatullina A. E. MICROSPORE AS A MODEL SYSTEM FOR THE INVESTIGATION OF SPOROPHYTE PATHWAYS OF PLANT MORPHOGENESIS <i>IN VITRO</i>	117
Kulikova A. I., Skaptsov M. V. ANALYSIS OF MUTATION ACTIVITY OF <i>LONICERA CAERULEA</i> (<i>CAPRIFOLIACEAE</i>) IN LOCAL SEISMOTECTONIC ACTIVE ZONE.....	123

Kuzmina T. N. CRITICAL STAGES IN SEED DEVELOPMENT OF GARDEN CANNA AND HYBRID DAYLILIES.....	121
Kuznetsova E. N. THE INITIAL STAGES IN DEVELOPMENT OF SOME RARE PLANTS OF UDMURTIA IN THE CONDITIONS <i>IN VITRO</i>	119
Lavrekha V. V., Pasternak T., Mironova V. V. 3D MAP OF PROLIFERATION ACTIVITY IN <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> ROOT TIPS: RADIAL, BILATERAL AND LONGITUDINAL SYMMETRIES.....	125
Maksimov N. M. REDOX-REGULATION OF PROGAMIC PHASE OF FERTILIZATION.....	127
Maslova M. V., Dubrowski M. L. ASSESS OF THE VIABILITY OF POLLEN IN CERASUS GENUS IN THE TOXIC METABOLITES OF BACTERIA PSEUDOMONAS.....	129
Medvedev S. S. PLANT SYSTEMS BIOLOGY.....	131
Notov A. A. MODULAR ORGANISMS AS INVESTIGATED OBJECTS OF REPRODUCTIVE BIOLOGY.....	135
Novoselova L. V., Vereschagina V. A., Kolyasnikova N. L. HISTORY OF STUDY OF REPRODUCTIVE BIOLOGY AND PLANT GENETIC RESOURCES IN PERM.....	133
Osadtchiy J. V. APOMIXIS IN GENUS <i>BOECHERA</i> Á. LÖVE & D. LÖVE (<i>BRASSICACEAE</i>) ACCORDING TO THE DATA FROM CLASSICAL AND MODERN RESEARCH TECHNIQUES.....	137
Park M. E., Ivanitskaya A. S., Lisetskaya I. A., Tretyakova I. N. ANALYSIS OF GENETIC STABILITY IN LONG-TERM PROLIFERATING EMBRYOGENIC CULTURES AND DERIVED PLANTLETS IN SIBERIAN LARCH USING MICROSATELLITE MARKERS.....	139
Pushkareva L. A. COMPARATIVE MORPHOLOGY AND ANATOMY OF MONO- AND DICOTYLEDONOUS EMBRYOS AND SEEDLINGS OF <i>PINGUICULA VULGARIS</i> L. (<i>LENTIBULARIACEAE</i>).....	141
Rodionov A. V. "...FROM THE ORIGINAL UNIFORMITY THROUGH THE HIGHEST POSSIBLE VARIETY TO THE FINAL UNIFORMITY": GENOMIC SHOCK AND SECONDARY DIPLOIDIZATION AS STAGES ON THE PATH TO BECOMING NEW SPECIES.....	143
Rodionova G. B. PHYLOGENETIC INTERACTIONS OF FAMILIES IN ORDER <i>CAPPARALES</i> ACCORDING TO DATA OF COMPARATIVE EMBRYOLOGY AND SEED ANATOMY.....	145
Romanova M. A., Evkaikina A. I., Klimova E. A., Tyutereva E. V., Dobryakova K. S., Ivanova A. N., Pawlowski K., Berke L., Wera E., Voitsekhovskaja O. V. SHOOT APICAL MERISTEM (SAM) AND THE MORPHOLOGICAL EVOLUTION: STRUCTURAL, FUNCTIONAL AND MOLECULAR FEATURES OF SAM IN REPRESENTATIVES OF DIFFERENT PLANT TAXA.....	149

Romanova V. O., Kravtsova T. I. STRUCTURE REGIONS OF SEED'S HILAR REGION IN MEMBERS OF THE TRIBE <i>SILENEAE</i> DC (<i>CARYOPHYLLACEAE</i> JUSS.).....	147
Rudskiy I. V. MATHEMATICAL DESCRIPTION OF PLANT MORPHOGENESIS.....	151
Samarina L. S. BIOTECHNOLOGYCAL APPROACHES TO PLANT GENETIC RESOURCES CONSERVATION.....	153
Shamrov I. I. DIVERSITY OF OVULES AND POSSIBLE TRENDS OF THEIR TRANSFORMATIONS.....	184
Shavarda A. L. METABOLOMICS, <i>OMNES ET SINGULAS</i>	182
Shevchenko S. V. CYTOLOGO-EMBRYOLOGICAL RESEARCHES IN NIKITA BOTANICAL GARDEN.....	186
Sinjushin A. A. FLORAL MERISM AND FACTORS AFFECTING IT.....	155
Smolikova G. N. PHOTOSYNTHESIS IN THE SEEDS OF CHLOROEMBRYOPHYTES.....	157
Sokoloff D. D., Karpunina P. V., Nuraliev M. S., Oskolski A. A., Remizowa M. V., Fomichev K. I. REDUCTION IN EVOLUTION OF ANGIOSPERM GYNOECIA: MONOMERY AND PSEUDOMONOMERY.....	161
Sokolov V. A., Panikhin P. A. APOMIXIS IN CORN-TRIPSACUM HYBRIDS.....	159
Titova G. E. PHENOMENON OF "SIAMESE EMBRYOS" IN PLANTS, A POSSIBLE ROLE IN EVOLUTION AND APPLIED SIGNIFICANCE.....	163
Torshilova A. A. PECULIARITIES OF DOUBLE FERTILIZATION IN <i>DIOSCOREA NIPPONICA</i> AND <i>D. CAUCASICA</i> (<i>DIOSCOREACEAE</i>).....	165
Tretyakova I. N. EMBRYOGENESIS OF SEXUAL AND SOMATIC CONIFER EMBRYOS <i>IN VIVO</i> AND <i>IN VITRO</i> , RESPECTIVELY.....	167
Trushcheleva O. S., Lobanova L. P., Kolesova A. U. DEPENDENCE OF MAIZE POLLEN STRUCTURE ON PLANTS PLOIDY.....	171
Trusov N.A. MORPHOLOGO-ANATOMICAL STRUCTURE OF SEEDS AND ARIL <i>EUPHORBIA SEGUERIANA</i>	169
Tsvetova M. I., Elkonin L. A., Italyanskaya Yu. V. IDENTIFICATION OF UNREDUCED APOMIXIS IN SORGHUM AND MAIZE INBRED LINES.....	179
Ugolnikova E. V., Kashin A. S., Popova A. O. APOMIXIC WAY OF REPRODUCTION OF <i>CHONDRILLA</i> L. IN THE SOUTH OF THE EUROPEAN PART OF RUSSIA.....	173
Vinogradova G. Yu. MORPHOGENETIC CORRELATIONS: ANALYSIS OF FEMALE GAMETOPHYTE DEVELOPMENTAL PROGRAMS IN ANGIOSPERMS.....	53

Vishnyakova M. A. EVOLUTION OF SEED REPRODUCTION IN THE PROCESS OF PLANTS DOMESTICATION (GRAIN LEGUMES AS AN EXAMPLE).....	55
Volkova O. A., Remizova M. V., Sokoloff D. D., Severova E. E. MICROSPOROGENESIS OF <i>SCHEUCHZERIA PALUSTRIS</i> L.: DIVERSITY OF TETRAD TYPES.....	57
Voronova O. N. APOMIXIS IN FLOWERING PLANTS	59
Yandovka L. F. PALYNOMORPHOLOGICAL AND EMBRYOLOGICAL DIVERSITY OF MALE GENERATIVE STRUCTURES IN REPRESENTATIVES OF THE <i>ROSACEAE</i> FAMILY.....	190
Yermakov I. P., Matveyeva N. P., Breygina M. A. THE HAPLOID GENERATION PHYSIOLOGY IN SEED PLANTS: THE MALE GAMETOPHYTE.....	73
Zhakova S. N., Novoselova L. V. REPRODUCTIVE BIOLOGY OF SPECIES AND CULTIVARS OF GENUS LILAC (<i>SYRINGA</i> L., OLEACEAE).....	79
Zhinkina N. A. COMPARATIVE EMBRYOLOGY OF <i>CAMPANULA</i> SPECIES (<i>CAMPANULACEAE</i>).....	81
Zhuzhhalova T. P., Vasilchenko E. N., Podvigina O. A. <i>IN VITRO</i> INDUCTION OF HAPLOID PARTHENOGENESIS.....	83
CONTENT	200

Подписано в печать 04.10.2016. Бумага офсетная.
Формат 60 x 90 1/8. Печать офсетная.
Усл. печ. л. 25,75. Тираж 200 экз.

Печать – «Издательство «Левша. Санкт-Петербург»
197376, Санкт-Петербург, Аптекарский пр., д. 6.
Тел. (812) 234-54-36, тел./факс (812) 234-13-00
E-mail: levsha@levshprint.ru
www.levshprint.ru

