

Аналіз ізопероксидаз допоміг нам розрізнити зразки рослин близьких видів *S. sargentiana* Rehd., *S. henryi* Hemsl. та установити їх належність до того чи іншого виду.

За С. К. Черепановим [9] *S. salicifolia* L., *S. humilis* Pojark., *S. salicifolia* var. *humilis* (Pojark.) Hara – синоніми *S. salicifolia* L. За нашими дослідженнями всі три таксо-ни мають різні ізопероксидазні спектри. *S. salicifolia* в колекції Саду числилася ще у 1884 р. Рослини зростають у вигляді зарості, здичавілі, щороку цвітуть, насіння зав'язують у незначній кількості, активно розростаються кореневою поростою. Ендемік Якутії *S. humilis* (занесена у Червону книгу Якутії) отримана із Новосибірська у 1978 р., а *S. salicifolia* var. *humilis* отримали із Барнаула під назвою *S. salicifolia* у 1976 р. За морфологічними ознаками *S. salicifolia* var. *humilis* ближча до *S. salicifolia*, а за феноритмами співпадає зі *S. humilis*. Обидва види *S. salicifolia* і *S. humilis* цвітуть у різний час. Цвітіння у останньої настає з третьої декади травня, а *S. salicifolia* – літнього періоду цвітіння; *S. salicifolia* var. *humilis* цвіте одночасно зі *S. humilis*. Отже, *S. salicifolia* var. *humilis* (Pojark.) Hara як і *S. humilis* Pojark., мають право на самостійне існування.

Висновки. Поліморфізм видів роду *Spiraea* свідчить про те, що в сучасній систематиці для ідентифікації таксонів необхідно застосовувати допоміжні методи діагностики. Одержані дані вказують на ефективність використання множинних молекулярних форм пероксидази в хемосистематиці роду *Spiraea*. Всі досліджені види роду *Spiraea* характеризуються певним компонентним складом пероксидаз, що дає змогу відрізнити їх за

електрофоретичними спектрами. Використання для ізопероксидазного аналізу квіток як найбільш стабільної ознаки дає можливість порівнювати різні за віком та походженням рослини. Аналіз множинних молекулярних форм пероксидази можна розглядати як допоміжний спосіб при вирішенні таксономічних питань такого поліморфного роду як *Spiraea* L.

1. Бузун Г. А., Джемухадзе К. М. и др. Применение полиамида при выделении белков и ферментов из растений, богатых фенольными соединениями // Методы современной биохимии. – М., 1975. 2. Бонюк З. Г., Кучеренко В. П. Минливості деяких морфологічних ознак інтродукованих видів таволги та їх ідентифікація методом хемотаксономії: Матер. міжнар. наук. конф., Львів, 1998. 3. Бонюк З. Нові перспективні форми та культивари роду таволга (*Spiraea* L.) для декоративного садівництва // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Інтродукція та збереження рослинної біорізноманіття. – Вип. 29 – К., 2011. 4. Мамаев С. А. О проблемах и методах внутривидовой систематики растений. II. Амплитуда изменчивости // Закономерности формообразования и дифференциации вида у древесных растений. Тр. ин-та экологии раст. АН СССР. Уральск. фил. Свердловск, 1969. 5. Мамаев С. А. Формы внутривидовой изменчивости древесных растений. М., 1972. 6. Русанов Ф. Н. Метод родовых комплексов в интродукции растений и его дальнейшее развитие // Бюл. ГБС АН СССР. – М., 1971. – Вып. 81. 7. Сафонова В. И., Сафонова М. П. Анализ белков растений методом вертикального микроэлектрофореза в полиакриламидном геле // Физиология растений. – 1969. – Т. 16, №2. – С. 350–357. 8. Скворцов А. К. Внутривидовая изменчивость и новые подходы к интродукции растений // Бюл. ГБС – М., 1986. Вып. – 140. – С. 196–303. 9. Черепанов С. К. Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР). Русское издание. СПб, 1995. 10. Alvares M. R., King D. O. Peroxidase localization activity and isozyme patterns in the developing seedling of *Vanda* (Orchidaceae) // Amer. Journ. Bot. – 1969. – Vol. 56, №2. – P. 180–186.

Надійшла до редколегії 14.10.11

УДК 58.018:581.32:581.33:582.943

А. Ліханов, канд. біол. наук, С. Машковська, канд. біол. наук
А. Ключащенко, канд. біол. наук, Л. Павленко, асп.

МОРФОГЕНЕЗ ГЕНЕРАТИВНИХ ОРГАНІВ *COBAEA SCANDENS* CAV. В УМОВАХ ІНТРОДУКЦІЇ В НАЦІОНАЛЬНОМУ БОТАНІЧНОМУ САДУ ІМ. М. М. ГРИШКА

Досліджено структурно-анатомічні й гістохімічні особливості генеративних органів *Cobaea scandens* Cav. в умовах Національного ботанічного саду ім. М. М. Гришка НАН України. З'ясовано, що структурні елементи насінних зачатків в умовах інтродукції нормально розвинені. Встановлено, що для *Cobaea scandens* характерним є зниження коефіцієнту співвідношення – пилок/насінний зачаток, що може ускладнювати реалізацію рослинами репродуктивної функції.

The paper the investigation of the structural-and-anatomic and histochemical features of *Cobaea scandens* Cav. generative organs in the conditions of the M. M. Gryshko National botanical garden of NAS of Ukraine. It is examined that the seedbud structural elements in the introduction conditions are normally developed. It is also established that the decrease of the coefficient of pollen/seedbud correlation which may complicate the implementation of the plant reproductive function is typical of *Cobaea scandens*.

Кобея лазяча (*Cobaea scandens* Cav.) – декоративна тропічна ліана родини *Polemoniaceae*, перспективна для використання у вертикальному озелененні. Однак, обмежене використання *C. scandens* в Україні пов'язане з тим, що вона не утворює повноцінного насіння, а вегетативно розмножується складно. Причина репродуктивної стерильності даного виду в умовах інтродукції невідома. У зв'язку з цим, мета наших досліджень полягала у вивченні особливостей будови й розвитку генеративних органів *C. scandens* та з'ясуванні можливих причин, що перешкоджають успішній реалізації репродуктивної функції інтродуцента в умовах відкритого ґрунту в Національному ботанічному саду ім. М. М. Гришка НАН України (НБС).

Матеріали та методи. Структурно-анатомічні дослідження генеративних органів рослин *C. scandens* на різних стадіях їх розвитку проводили методом світлого поля на виготовлених нами постійних мікротомних препаратах. Свіжозрізаний матеріал обробляли фіксатором Чемберлена. Рослинні тканини фарбували залізним гематоксиліном за Гейденгайном [3], ацетофуксином, сафраніном - водним синім [6]. Виявлення крохм-

лю, загальних білків і кальози проводили за стандартними прописами гістохімічних реакцій [1]. Для фотодокументації матеріалів і цифрової обробки даних використовували програму AxioVision 40V.

Результати та їх обговорення. *C. scandens* в умовах свого природного ареалу (Центральна Америка, Мексика) – це багаторічна ліана, квіткої якої заплілюються летючими мишами [2]. Плід – септицидна коробочка [5]. В умовах відкритого ґрунту в НБС даний вид вирощується як однорічна культура розсадним способом. Висіваючи насіння на розсаду у лютому, а у відкритий ґрунт висаджуючи наприкінці травня, рослина розвиває пагони висотою до 5 м, однак починає зацвітати наприкінці жовтня – напочатку листопада. Тобто, в умовах інтродукції для даного виду характерним є тривалий період від проростання насіння до цвітіння, що може бути причиною відсутності повноцінного насіння власної репродукції.

Квітки у *C. scandens* актиноморфні, двостатеві, протандричні, з п'яти- іноді шестичленною оцвітинуою. Віночок дзвіночкоподібний зрослопелюстковий яскраво фіолетового (f. *violacea*) або білого (f. *alba*) забарвлення. На стадії бутонів чашолистки зростаються між собою рих-

лою паренхімою, яка в результаті швидкого росту тканин легко розривається у апікальній зоні та звільняє простір для подальшого розвитку внутрішніх елементів квітки.

Гінецей складається з трьох (іноді чотирьох) плодolistиків. Зав'язь верхня, синкарпна; стовпчик довгий циліндричний, приймочка трироздільна. Насінних зачатків багато (рис. 1, а). Послідовність їх розвитку базипетальна: спочатку вони розвиваються у верхній частині зав'язі, потім - у нижній (рис. 1 е). За морфоанатомічною будовою насінні зачатки гемітропні, унітегмальні, медіануцелятні, майже сидячі (*f. alba*) (рис. 1, б) або з коротким фунікулузом (*f. violacea*) (рис. 1, г). Фунікулярного обтуратора, характерного для рослин родини *Polemoniaceae* [4], нами не виявлено. Халазальна частина насінного зачатка масивна, сильно видовжена. Зародковий мішок розвинутий (рис. 1, в). Синергіди витягнуті. Яйцеклітина та центральна клітина цілком сформовані. Антиподи ефемерні й дезінтегруються ще до початку запліднення. Інтегумент багатоклітинний, у медіанній площині сильно видовжений (рис. 1, а, б), у трансверсальній – куполоподібний (рис. 1, г). У структурі інтегумента гістохімічно виявляється багата на білок (підтверджено реакцією на бром-

феноловий синій) внутрішня зона (10–12 рядів клітин), яка безпосередньо оточує нуцелус (рис. 1, б, г) та зовнішня (латеральна) зона з сильно вакуолізованими клітинами, незначним вмістом білків і крохмалю. Внутрішній епідерміс інтегументу створює інтегументальний тапетум, який добре розвинутий, представлений одним рядом густоплазмених, щільно зімкнутих клітин з сильно витягнутими антиклинальними стінками.

Мікропіле довге, обернене донизу, дещо зігнуте в апікальній частині інтегумента. В клітинах мікропіле нами виявлена значна кількість білків, функція яких, можливо, полягає в механізмах імунного контролю пилкової трубки, а також в забезпеченні оптимальних умов щодо її проходження через тканини інтегумента до яйцеклітини.

Нуцелус *C. scandens*, відповідно до класифікації І. І. Шамрова [7], медіануцелятного типу синдермальної варіації. На початку розвитку насінного зачатка в нуцелусі топографічно виявляється латеральна і базальна зони, паріетальна тканина не утворюється (рис. 1, д). Мегаспороцит і зародковий мішок закладається безпосередньо під епідермою. В процесі розвитку клітини середньої зони нуцелусу руйнуються.

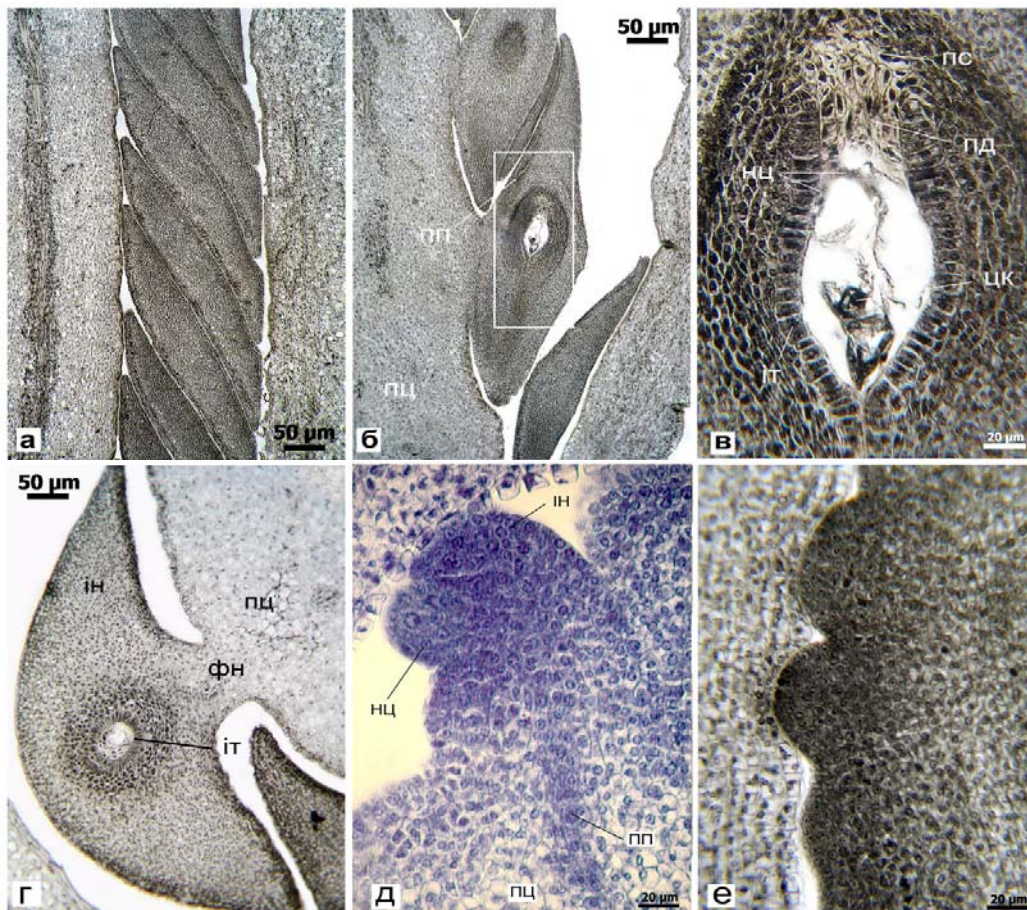


Рис. 1. Структурно-анатомічні особливості будови та розвитку насінного зачатка *Cobaea scandens*:

а – просторове положення насінних зачатків у гнізді зав'язі; б – повздовжній розріз майже сидячого гемітропного насінного зачатка *C. scandens f. alba*; в – структура зародкового мішка; г – поперечний зріз насінного зачатка з коротким фунікулузом *C. scandens f. violacea*; д – початкові стадії формування насінного зачатка; е – просторове положення та напрямком розвитку насінних зачатків; іт – інтегументальний тапетум; пп – провідний пучок; пц – плацента; нц – нуцелус; ін – інтегумент; пд – клітини подіуму; пс – клітини постаменту; фн – фунікулус; цк – ядро центральної клітини зародкового мішка.

Клітини халазальної частини нуцелусу трансформуються в постаменто-подіум (рис. 1, в). Така колончата структура характеризується тим, що її верхні клітини морфологічно більш видовжені, нижні – дисковидні з незначною лігніфікацією клітинних стінок. Під ними ви-

значається чашеподібна структура – гіпстаза, яка створена трьома рядками дисковидні клітин з густою цитоплазмою. Функції постаменто-подіума й гіпстази полягають у синтезі та транспорті поживних речовин, необхідних для нормального розвитку зародка.

В досліджених нами зразках у більшості випадків основні структурні елементи насінних зачатків нормально розвинуті, однак, при цьому запліднення яйцеклітин та формування зародків нам виявити не вдалось. Це може бути пов'язано з антекологічними факторами, якістю та кількістю пилку, відсутністю запилювачів, генетико-ценотичними характеристиками рослин, особливостями формування андроцею тощо.

Проведений нами аналіз показав, що андроцею у *S. scandens* пента- або рідше гексамерний. Тичинки вільні, в колах чергуються з елементами оцвіттини. Тичинкові нитки циліндричні, короткі, з голою поверхнею, у основі дещо вигнуті, з невеликими шиловидними придатками. Тичинки з сильно видовженими масивними тетраспорангіатними пиляками, які розкриваються по-вздовжніми щілинами. Теки мікроспорофілів з'єднані

між собою добре розвиненим в'язальцем (рис. 2, а). В'язальце довге масивне, нерухомо проросле до центральної частини тичинкової нитки. Клітини епідерміса в'язальця крупні ізодіаметричні, сильно вакуолізовані, покриті зовні й зсередини товстою кутикулою (рис. 2, в, г). В обкладці провідного пучка, в основній паренхімі та у зонах зростання з мікроспорангіями виявляється велика кількість амілопластів.

Стінка мікроспорангію формується відцентрово та складається з епідермісу, ендотецію, середнього шару й тапетуму (2, б, г). Клітини епідермісу куполоподібні з добре розвинутою гребінчастою кутикулою. Середній шар формується за рахунок неупорядкованих периклінальних поділів паріетальних клітин, внаслідок яких утворюється два або три ряди клітин.

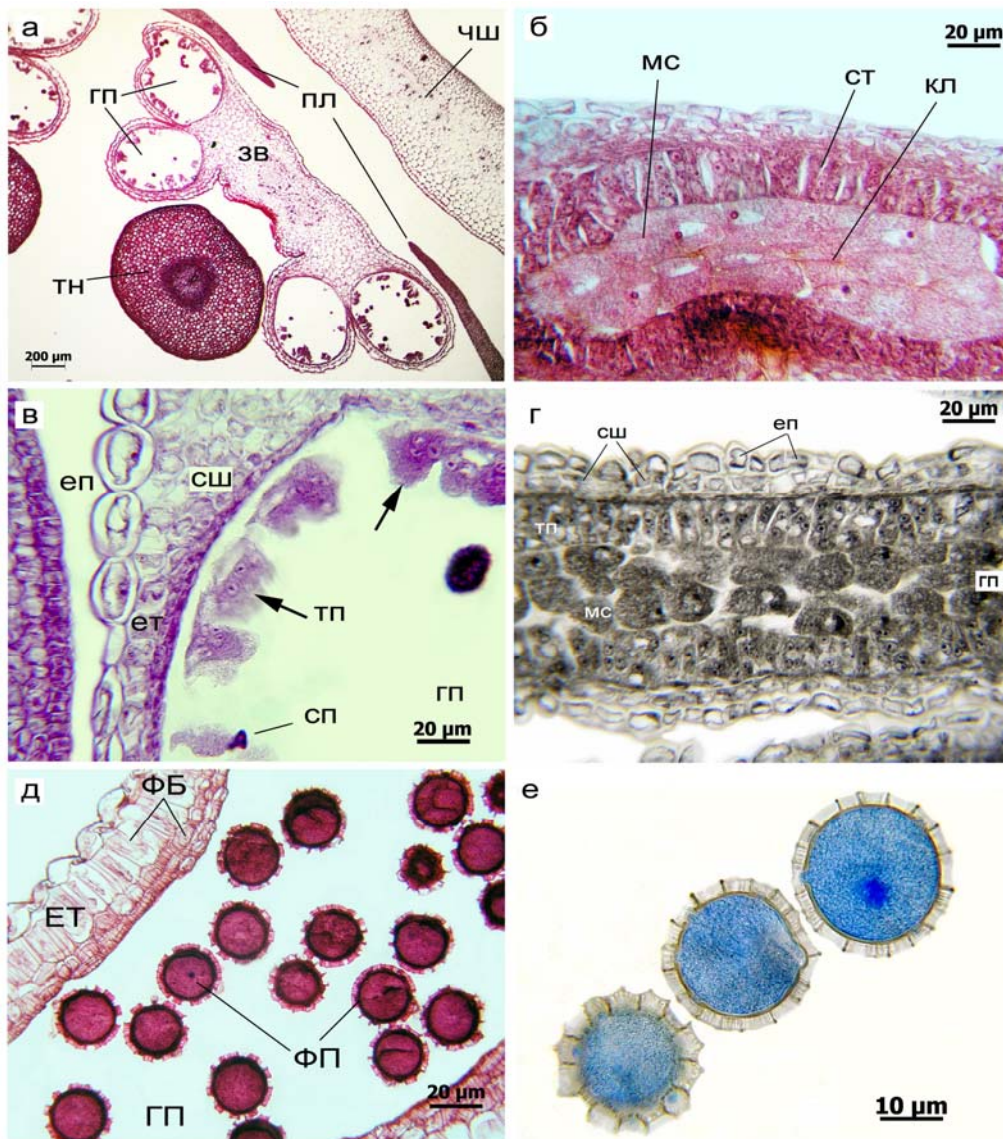


Рис. 2. Особливості структури і розвитку мікроспорангіїв та мікроспор *Cobaea scandens*:

- а – поперечний розріз мікроспорофіла; б – премейотичний період формування мікроспорангію; в – трансформація секреторного тапетума в несправжній периплазмодій в мікроспорангії; г – процес утворення багатоядерних клітин в секреторному тапетумі мікроспорангію; д – утворення фіброзних поясків в клітинах ендотецію та в клітинах середнього шару; е – структурні особливості та локалізація білка в цитоплазмі мікроспор; чш – чашолисток; пл – пелюстки; зв – в'язальце; тн – тичинкова нитка; ст – секреторний тапетум; мс – материнські клітини спор; кл – відкладення кальози; гп – гніздо мікроспорангія; сп – стерильний пилок; фп – фертильний пилок; фб – фіброзні потовщення клітин; ет – ендотецій; тп – тапетум; сш – середній шар клітин мікроспорангію; еп – епідерміс.

У пре- та мейотичний періоди в цитоплазмі клітин середнього шару та ендотецію гістохімічно виявляється крохмаль та білок. У постмейотичний період внутрішній ряд клітин середнього шару, що примикає до тапетума, руйнується. У клітин, що залишилися, під час дозрівання мікроспор утворюються фіброзні потовщення (рис. 2, д). За конфігурацією вони схожі на фіброзні по-яски ендотецію, які при дегідратації клітин викликають додаткове механічне напруження, що полегшує розкриття масивних пиляків *C. scandens*. Отримані нами дані вказують на те, що середній шар мікроспорангіїв виконує запасну (депо крохмалю та білку), транспортну та механічну функції. Тапетум мікроспорангіїв *C. scandens* за структурною організацією відноситься до секреторного типу. Його клітини тангентально витягнуті ($16,7 \pm 0,93$ мкм) з густою цитоплазмою, однією або двома крупними вакуолями, одно- частіше двоядерні. На початку постмейотичного періоду тапетум реорганізується (рис. 2, в). Структурно-функціональна перебудова тапетума призводить до формування синцитію (несправжнього периплазмодію), який характеризується тим, що після лізису клітинних оболонок протопласти вільно заповнюють внутрішній простір мікроспорангіїв. Утворення тетрад мікроспор у *C. scandens* симультанного типу. Зрілі мікроспори багатопорові двоклітинні. Генеративна клітина веретеноподібної форми.

В мікроспорангіїх багатьох досліджуваних нами рослин загальна кількість пилку була досить незначною, а частина аберантного та стерильного пилку складала 25–35%. Такі показники мікроспорогенезу передбачають зменшення коефіцієнта співвідношення кількості пилку до кількості насінних зачатків та відпо-

відно призводять до зниження ймовірності запилення рослини і утворення повноцінного насіння.

Висновки. Таким чином, найбільш критичним етапом в онтогенезі рослин *Cobaea scandens*, в аспекті реалізації їх репродуктивної функції в умовах НБС, є процес запилення. Ми пропонуємо два взаємодоповнюючих шляхів вирішення існуючої проблеми: 1) розробити технологію розмноження *C. scandens* як культури дворічного циклу вирощування в умовах відкритого ґрунту; 2) збільшити загальну чисельність особин у мікропопуляції. Для облігатних алогамів з яскраво вираженою самонесумісністю, до яких відноситься багато видів тропічних ліан [8], це може стати стабілізуючим чинником, здатним покращити антекологічні умови, сформувати нові симбіотичні зв'язки з природними запилювачами, синхронізувати цвітіння, сприяти успішному запиленню та формуванню повноцінного насіння. Окрім того, враховуючи можливі прояви репродуктивної несумісності, при інтродукції тропічних ліан бажано не використовувати насінневий матеріал, який було отримано з однієї материнської рослини.

1. Дженсен У. Ботаническая гистохимия. – М., 1965. 2. Жизнь растений / Под ред. Тахтаджяна А. Л. – Т.5., Ч.2. – М., 1981. 3. Паушева З. П. Практикум по цитологии растений. – 4-е изд. перераб. и доп. – М., 1988. 4. Поддубная-Арнольди В. А. Характеристика семейств покрытосеменных растений по цитозембриологическим признакам. – М., 1982. 5. Тахтаджян А. Л. Систематика и филогения цветковых растений. М.-Л., 1966. 6. Фурст Г. Г. Методы анатомо-гистохимического исследования растительных тканей. – М., 1979. 7. Шамров И. И. Семезачаток цветковых растений: строение, функция, происхождение / Под ред. Батыгиной Т.Б. – М., 2008. 8. Bernardello L., Galetto L., Rodriguez I. G. Reproductive biology, variability of nectar features and pollination of *Combretum fruticosum* (Combretaceae) in Argentina // Bot. J. Linn. Soc. – 1994. – V. 114. № 3. – P. 293–308.

Надійшла до редколегії 14.10.11

УДК 581.132.581.522.4.577.158.5 (477.20)

Н. Матвєєва, канд. біол. наук, В. Кучеренко, канд. біол. наук, О. Кваско, пров. інж.

ПЕРОКСИДАЗНА АКТИВНІСТЬ ТРАНСГЕННИХ РОСЛИН *CICHORIUM INTYBUS* L. VAR *FOLIOSUM* HEGI З ГЕНАМИ ТУБЕРКУЛЬОЗНОГО АНТИГЕНУ *ESAT6* АБО ІНТЕРФЕРОНУ *A2B* ЛЮДИНИ

Проведено порівняння загальної пероксидазної активності екстрактів трансгенних рослин *Cichorium intybus* L. з генами *esxA* або інтерферону-*a2b* та контрольних рослин. Активність трансгенних рослин з геном *esxA* у 1,6–5,0 разів була вища, ніж у контрольних рослин, а у рослин з геном *ifn-a2b* – на рівні контролю або у 1,7 рази менше. Такі результати можуть свідчити про відмінності впливу різних генів, що перенесені до рослинного геному.

The general peroxidase activity (GPA) analysis of the extracts of transgenic Cichorium intybus L. plants with esx or ifn-a 2b genes and control plants was carried out. GPA of the extracts of transgenic plants with esxA gene was higher in 1,6–5,0 times, than at control plants, and GPA of plants with ifn-a2b gene – as in control or over 1,7 times less. Such results can denotes the different influence of transgenes on transgenic plants GPA.

Генетична трансформація за допомогою бактерій роду *Agrobacterium*, вірогідно, є стресом для рослин. Це обумовлено тим, що в процесі трансформації на рослинний організм діють такі стресові чинники, як поранення рослин, процес інфікування, проникнення бактерій та вбудовування бактеріальної ДНК в геном рослинної клітини. Стресовими факторами також можуть являтися власне культивування *in vitro* на синтетичних живильних середовищах, а також процес мікронального розмноження.

Реакція рослин на стрес має виражатися в активізації адаптивних механізмів, зокрема, у зміні функціонування активності антиоксидантної системи, в тому числі активності ферментів.

У стійкості рослин до естремальних умов середовища особлива роль належить ферменту клітинного метаболізму – пероксидазі. Пероксидазу можна визначити як антитілоподібний фермент, що реагує на

будь-які зміни навколишнього середовища та стресові ситуації. Підвищена увага до ферменту пероксидази обумовлена тим, що досі залишається нез'ясованою функція великого набору ізоферментів (від 3 до 42) у багатьох рослинних пероксидаз.

Пероксидази надається особливе значення в стійкості рослин до несприятливих факторів, дія яких призводить до "окислювального стресу", накопичення H_2O_2 в клітині [8].

Як вважає В.А. Андрєєва [1], суттєві впливи на рослину супроводжуються зміною активності або ізоферментного спектру пероксидази. Стресові умови підвищують активність пероксидази, що забезпечує нормальні метаболічні процеси в рослині [3; 6].

Отже, вивчення пероксидазної активності дає можливість виявити деякі реакції відповіді рослинного організму на агробактеріальну трансформацію як біотичний стресовий фактор.