

УДК 582. 572. 226 + 581. 16 + 578. 2

## ОСОБЕННОСТИ ЭМБРИОНАЛЬНОЙ СТАДИИ ОНТОГЕНЕЗА НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ *TULIPA L.* В УСЛОВИЯХ ТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССА

О.О. Тимина<sup>1</sup>, Л.Г. Ионова<sup>2</sup>, О.Ю. Тимин<sup>3</sup>

Изучены пути морфогенеза некоторых представителей *Tulipa kaufmanniana* Regel и *xTulipa gesneriana* L. в эмбриокультуре в условиях температурного стресса при культивировании на безгормональной среде Мурасиге и Скуга. Уточнены биоморфологические особенности семян и вычленяемых из них зародышей у контрастных генотипов по срокам цветения, определены типы морфогенеза и стадии автономности разновозрастных зиготических зародышей в эмбриокультуре. Уточнено наступление стадии автономности зародышей в зависимости от генотипа. Выявлена потенциальная поливариантность типов репродукции на безгормональной среде, зависящая от степени зрелости плодов, из которых вычленили зародыши, и состава морфофизиологических популяций зародышей в плодах. У предварительно стратифицированных незрелых зиготических зародышей, не достигших стадии автономности, подвергнутых температурному стрессу, обнаружена пролиферация соматических эмбриоидов. Проведен гистологический анализ пролиферирующей эмбриокультуры, уточнены место и характер инициации эмбриогенных клеток. Обнаружено, что стадия автономности эмбрионов тюльпана является маркером блокировки переключения путей морфогенеза эксплантов в стрессовых условиях.

**Ключевые слова:** эмбриокультура, пролиферация, эмбриоиды, стрессовые условия, *Tulipa kaufmanniana* Regel, *xTulipa gesneriana* L.

Тюльпаны – ценный и востребованный объект озеленения во многих странах. Они отличаются большим разнообразием размеров, форм и окраски цветка, наступлением и продолжительностью сроков цветения. Известно, что селекция тюльпана – длительный и трудоемкий процесс, для ускорения которого в настоящее время используются инновационные биотехнологические приемы *in vitro*, учитывающие генотип маточных растений, условия выращивания и тип эксплантов, состав питательных сред (Taeb, Alderson, 1990; Chanteloube et al., 1995; Custers et al., 1995; Коломиец, 1997; Podwyszycska, 2005; Ахметова, 2009; Benschop et al., 2010; Митрофанова, 2011; Popescu, 2012). Биотехнологические методы, и в частности эмбриокультура, могут быть также успешно использованы для уточнения особенностей онтогенеза тюльпана и выявления потенциальных путей морфогенеза конкретных генотипов. Ранние этапы эмбриогенеза и особенности размножения тюльпанов рассматривались подробно, как правило, в условиях *in vivo* (Карташова, 1987; Печеницын, 1989). Однако законо-

мерности реализации репродуктивной стратегии представителей этого эфемероида, уточнение возможностей сокращения продолжительности ювенильного периода и повышения низкого коэффициента размножения остаются актуальными задачами, которые следует изучать в строго контролируемых условиях. Одним из доказанных положений репродуктивной биологии является концепция путей морфогенеза, согласно которой в процессе эволюции для каждого таксона закрепился свой путь морфогенеза и свой способ репродукции, причем смена путей морфогенеза происходит обычно в стрессовой ситуации (Эмбриология цветковых... 2000). Известно, что для тюльпана главным стрессирующим фактором является температура (Печеницын, 1989), однако данные по выявлению потенциальных путей морфогенеза с использованием стрессирующих факторов малочисленны, они не систематизированы и нуждаются в уточнениях.

Цель наших исследований – уточнение эмбриональной стадии онтогенеза у некоторых контрастных генотипов тюльпана по наступле-

<sup>1</sup> Тимина Ольга Олеговна – профессор кафедры биологии Приднестровского государственного университета им. Т.Г. Шевченко, докт. биол. наук (otimina@mail.ru); <sup>2</sup> Ионова Людмила Григорьевна – ст. препод. кафедры биоэкологии Приднестровского государственного университета им. Т.Г. Шевченко (ludochkaionova@yandex.ru); <sup>3</sup> Тимин Олег Юрьевич – ст. науч. сотр. Республиканского НИИ экологии и растительных ресурсов, канд. с.-х. наук (otimin@mail.ru).

нию сроков цветения в условиях температурного стресса на безгормональной среде *in vitro*.

### Задачи исследования

1. Биоморфологический анализ семян и эмбрионов некоторых сортов *T. kaufmanniana* и *xT. gesneriana*, сформированных *in vivo*, в зависимости от степени зрелости плодов.

2. Определение путей морфогенеза и стадии автономности у эмбрионов на разных фазах развития при культивировании в эмбриокультуре.

3. Гистологический анализ пролиферирующей эмбриокультуры.

### Объекты и методы исследования

Объектом исследования послужили сорта *Tulipa* двух видов *xT. gesneriana* и *T. kaufmanniana*, представляющие несколько садовых классов голландской селекции: Триумф, Лилиецветные и Кауфмана. К классу Триумф относились среднецветущие сорта *Negrita* и *Valentine*, к классу лилиецветных – поздноцветущие сорта *Moon Shine* и *White Elegance*, класс Кауфмана был представлен раноцветущим сортом *Johann Strauss*. Растения выращивали в 2013–2014 гг. в открытом грунте на капельном орошении в центральной части Слободзейского р-на Приднестровья (Молдова) по общепринятой технологии. Откалиброванные луковички первого разбора замачивали в 0,2%-м растворе фундазола (2 г/л действующего вещества) в течение 30 мин и высаживали в ноябре для получения от свободного опыления в весенне-летнем обороте плодов и семян изучаемых сортов. Семена извлекали из плодов-коробочек в зависимости от степени их созревания на 53–55-й день от начала цветения и при полном созревании, когда коробочка сама раскрывалась. Морфологические особенности всех имеющихся в коробочке семян устанавливали путем измерения их максимальной длины и диаметра, используя миллиметровую бумагу, окуляр и объект-микрометры. Аналогичным образом измеряли показатели эндосперма семян и длину вычленяемых зародышей. Уточняли пути морфогенеза на безгормональной среде Мурасиге и Скуга (БМС) в зависимости от размера культивируемого зародыша. Поверхность плодов обрабатывали спиртом, вскрывали коробочки скальпелем, извлекали пинцетом семена и помещали в стерильные чашки Петри. Под микроскопом «МБС-10» при увеличении  $\times 15$  эмбрионы извлекали из семян препаративными иглами, соблюдая правила асептики, и помещали во флаконы на поверхность среды БМС. Флаконы

с зародышами размещали в холодильнике сроком на 20 дней для стратификации при низкой положительной температуре, затем их помещали в стрессовые условия (16-часовой фотопериод, освещенность 3000 лк и  $T = 26 \pm 2$  °С. Автономными считали те зародыши, развитие которых сопровождалось образованием семядоли или луковички.

Гистологические постоянные препараты готовили общепринятыми методами. Фиксацию эмбриокультуры проводили в 10%-м растворе формалина при комнатной температуре, окраску осуществляли гематоксилин-эозином (Паушева, 1980). Срезы заключали в полистирол. Микроскопировали препараты, используя универсальный исследовательский микроскоп «St-20», изготовитель «Carl Zeiss». Фотографии выполнены цифровой фотокамерой «Canon 5D» с насадочными кольцами марки NDPL-1(2x).

Математическую обработку проводили на основе элементарной статистики, подсчитывали среднее значение признака ( $x$ ), его ошибку ( $m$ ) и коэффициент вариации ( $V$ ). О значимости различий вариантов судили по критерию Стьюдента (Лакин, 1990).

### Результаты исследований и обсуждение

Сложившиеся погодные условия 2014 г. с третьей декады марта по май из-за повышенных температур в период цветения неблагоприятно сказались на опылении и завязывании семян тюльпанов всех классов. Не все изучаемые сорта сформировали плоды, осемененность которых колебалась в широких пределах (от 0 до 70 шт. в коробочке). Семена сортов изучаемых классов в зрелом раскрывшемся плоде плоские, коричневато-желтые, со скошенной эллипсоидной формой, ближе к треугольной. Все полноценные семена имели эндосперм, в центре которого, как правило, располагался прямой или слегка изогнутый линейный зародыш. Ширина семян из зрелой коробочки изменялась не значимо, а длина существенно уменьшалась за счет частичного обезвоживания, затвердения и сжатия эндосперма. При этом величина самого зародыша возрастала в пределах ошибки измерений. Семена варьировали по размеру. Эмбрионы, находящиеся в них, представляли собой морфофункциональную популяцию. Низкое или среднее варьирование параметров семян и эмбрионов было выявлено у сорта *Negrita* (табл. 1). Длина зародышей семян из не вызревших плодов (возраст 53–55 дней) дифференцировалась по длине от 0,5 до 4,0 мм с преобладанием группы размером 3 мм. У остальных сортов в возрасте

Т а б л и ц а 1

## Биоморфологические показатели семян сорта Negrita из зрелого и невызревшего плодов

Диаспора и ее компоненты	Коробочка							
	вызревшая раскрывшаяся				в возрасте 53–55 дней			
	параметры, мм							
	длина $X_1 \pm m$	$V_1$	ширина $X_2 \pm m$	$V_2$	длина $X_3 \pm m$	$V_3$	ширина $X_4 \pm m$	$V_4$
Семя	7,4±0,2	10	6,5±0,2	9	8,8*±0,1	3	6,4±0,1	8
Эндосперм	6,1±0,1	7	4,9±0,3	17	7,0*±0,2	7	4,7±0,2	14
Зародыш	3,1±0,2	21	–	–	3,0±0,4	38	–	–

П р и м е ч а н и е: \*значимые отличия от показателей вызревшей коробочки, «—» исследования не проводились.

Т а б л и ц а 2

## Биометрические показатели семян тюльпанов некоторых классов

Класс	Сорт	Размер объекта, мм							
		семя				эндосперм			
		длина $X_1 \pm m$	$V_1$	ширина $X_2 \pm m$	$V_2$	длина $X_3 \pm m$	$V_3$	ширина $X_4 \pm m$	$V_4$
Триумф	Valentine	8,8±0,1	5	5,7±0,2	8	7,4±0,2	6	4,4±0,2	13
	Negrita	8,8±0,1	3	6,4±0,1	8	7,0±0,15	7	4,7±0,2	14
Лилиецветные	Moon Shine	8,6±0,1	4	6,9*±0,2	8	7,6±0,2	8	5,6*±0,2	9
	White Elegance	8,9±0,1	4	6,8*±0,1	3	7,4±0,5	6	5,7*±0,1	7
Кауфмана	Johann Strauss	8,4±0,3	11	6,1±0,2	10	7,3±0,3	11	4,6±0,2	11

П р и м е ч а н и е: \*значимые отличия в сравнении с сортом Johann Strauss.

53–55 дней также выявлена дифференциация по длине, которая варьировала в слабой или средней степени (табл. 2, 3).

Анализ состава популяции зародышей перед введением их в эмбриокультуру (табл. 3) показал, что у сортов Valentine и Johann Strauss преобладали эмбрионы размером 0,5–1,5 мм (частота встречаемости 62–94%). В коробочках сортов Negrita, Moon Shine, White Elegance наиболее часто встречаются эмбрионы длиной от 2 до 4 мм (91–92%). Дальнейшее культивирование зародышей тюльпана в условиях температурного стресса выявило четыре пути морфогенеза предварительно стратифицированной эмбриокультуры: рост с последующей дегене-

рацией; развитие зародышей с формированием семядоли (без визуально оформленной почкы-луковички или с хорошо выраженной почкы-луковичкой), которая без периода покоя давала несколько новых проростков, образование эмбриоидов (табл. 4, рис. 1). Полученные данные свидетельствуют о том, что морфогенетический ответ эмбрионов тюльпанов определяется при прочих равных условиях степенью зрелости коробочки и морфофизиологическим состоянием эмбрионов (табл. 4). Если в коробочке встречаемость доминирующей группы эмбрионов длиной 0,5–1,5 мм была не ниже 62%, то в условиях *in vitro* под воздействием стрессирующей

Т а б л и ц а 3

Состав популяции эмбрионов по длине в эмбриокультуре в возрасте 53–55 дней у сортов, контрастных по срокам цветения

Класс (группа цветения)	Сорт	Число извлеченных эмбрионов	Встречаемость (%) в коробочке эмбрионов разного размера								Длина зародыша, мм		
			0,5 мм	1,0 мм	1,5 мм	2,0 мм	2,5 мм	3,0 мм	3,5 мм	4,0 мм	$X \pm m$	V	
Триумф (средне- цветущая)	Valentine	42	5	5	52	33	0	5	0	0	0	1,85*±0,15	25
	Negrta	25	0	0	8	20	12	48	0	12	0	3,05*±0,37	38
Лилиецветные (поздноцветущая)	Moon Shine	34	0	3	6	0	6	44	20	21	0	3,30*±0,18	16
	White Elegance	13	0	0	8	23	15	46	0	8	0	2,65*±0,27	27
Кауфмана (раноцветущая)	Johann Strauss	17	29	30	35	6	0	0	0	0	0	1,14±0,12	34

П р и м е ч а н и е: \*значимые отличия в сравнении с сортом Johann Strauss.

Т а б л и ц а 4

Пути морфогенеза стратифицированных зародышей тюльпана на среде бМС *in vitro* в зависимости от степени зрелости коробочки и дифференциации популяции эмбрионов по длине

Сорт	Число высаженных зародышей, шт.	Встречаемость (%) в коробочке эмбрионов разной длины		Тип морфогенеза, %			
		0,5–1,5 мм	2,0–4,0 мм	рост и последующая дегенерация зародышей	образование морфологических структур		
					семядоли	семядоли и луковичы	эмбриониды
Moon Shine	34	9	91	25,0	44,0	31,0	0,0
White Elegance	13	8	92	38,0	31,0	31,0	0,0
Valentine	42	62	38	47,5	17,5	17,5	17,5
Negrta	25	8	92	36,0	60,0	4,0	0,0
Johann Strauss	17	94	6	29,4	11,8	0,0	58,8



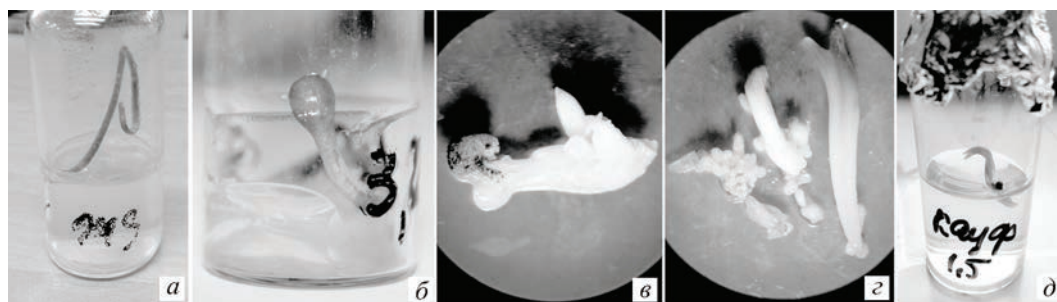


Рис. 1. Морфогенез стратифицированных незрелых зиготических зародышей сорта Johann Strauss в условиях температурного стресса: *a* – рост и формирование семядольного листа; *б* – образование почки-луковички; *в* – разбухание зиготического зародыша и прямое появление соматических эмбриоидов; *г* – массовое формирование эмбриоидов и их прорастание; *д* – отсаженный проросток на среде БМС

температуры на среде БМС наблюдалось перепрограммирование репродукции на прямое формирование эмбриоидов на зиготических зародышах, т.е. их пролиферация. Преобладание в коробочке фракции эмбрионов размером 2–4 мм ( $\geq 90\%$ ) индуцировало продолжение запрограммированного пути развития даже в условиях температурного стресса, в направлении формирования семядоли и луковички без образования дополнительных вегетативных диаспор. Такой признак как автономность зародышей у разных сортов проявлялся дифференцированно в зависимости от группы цветения и обуславливался, прежде всего, размером индивидуально выделяемого эмбриона. У раноцветущего класса автономными оказались зародыши размером 1,0–1,5 мм, у среднецветущего – размером 1,5–2,0 мм, а у поздноцветущего – размером 2,5–3,0 мм. Проллиферирующую эмбриокультуру сортов Valentine и Johann Strauss пассировали на 1/2 БМС, где образовавшиеся соматические эмбриоиды росли и постепенно формировались в проростки (рис. 1, 2). Проростки можно было дорастивать и высаживать в горшечную культуру (рис. 2). Следовательно, удалось получить полный цикл развития проростков тюльпана в условиях *in vitro* из соматических эмбриоидов, формирующихся прямым способом в пролиферирующей культуре.

Представляло несомненный интерес уточнение места и характера инициации соматических эмбриоидов в пролиферирующей культуре зиготических зародышей. При малом и большом увеличении общая картина строения поперечного среза зиготического зародыша, у которого начинался процесс пролиферации соматических эмбриоидов (рис. 1), выявляла эпидерму зародыша, заложение проводящих пучков, неэмбриогенные клетки меристемы и основную меристему осевого цилиндра. В коровой меристеме хорошо определя-

лись и обособляющиеся эмбриогенные клетки или клетки-инициали, способные продуцировать соматические эмбриоиды, а также двуклеточные проэмбрио (рис. 3). Формирование и дальнейшее развитие эмбриогенных клеток хотя и увеличивало объем зародышей (эксплантов), но без нарушения внешних покровов экспланта и без образования клеток каллуса (рис. 1), что соответствует модели прямого формирования соматических эмбриоидов. Развитие эмбриоидов сопровождалось связью с материнским эксплантом на ранних этапах и дальнейшим разделением структур на отдельные жизнеспособные проростки (рис. 2, 3), что указывает на образование именно эмбриоидов, а не почек. Полученные результаты позволяют обсудить более детально особенности эмбриональной стадии онтогенеза тюльпана в контролируемых стрессовых условиях *in vitro*.

Онтогенез тюльпана *in vivo* в целом хорошо изучен (Бочанцева, 1962; Печеницын, 1989; Карташова, 1987; Jaar et al., 2006). Известно, что оптимальной температурой для развития тюльпанов является ее диапазон в пределах 14–18 °С, и тогда развивающийся зародыш визуализируется на 42-й день после оплодотворения, представляя собой глобулу. Еще через 20 дней глобула трансформируется в веретеновидный зародыш, и к концу 12-й недели после оплодотворения зародыш заканчивает рост и вступает в фазу покоя, а семя становится зрелым.

В дополнение к полученным данным нами показана роль возникающей в условиях *in vivo* системы межорганных и межклеточных взаимодействий, определяющей возможный тип морфогенеза экспланта *in vitro*. В эту систему входят ткани плода и преобладающая группа эмбрионов определенной длины в сформированной морфофизиологической популяции. Полученные данные свидетельствуют о том, что по фазе развития

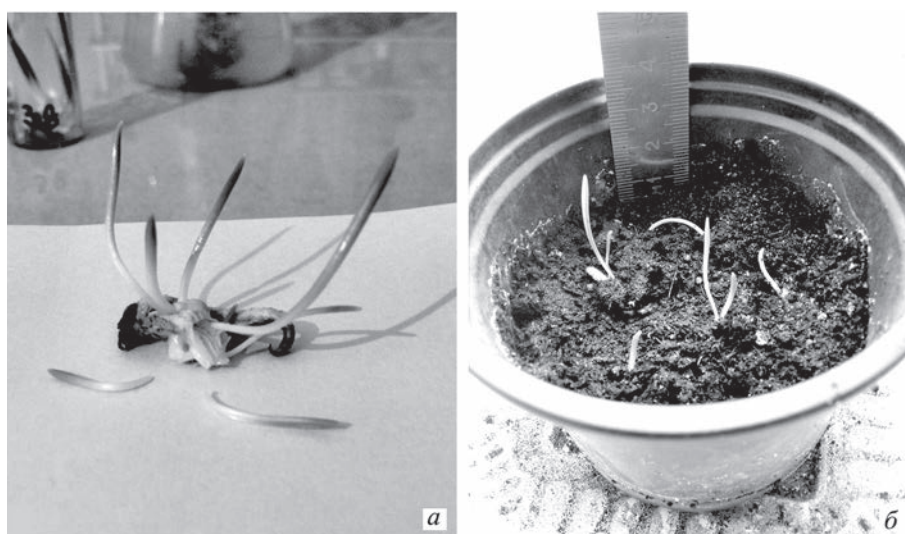


Рис. 2. Формирование молодых растений из соматических зародышей у сорта Valentine: а – растения перед высадкой; б – горшечная культура

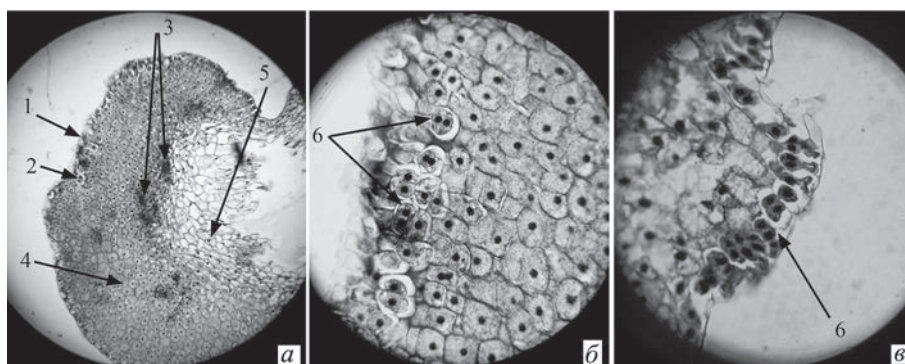


Рис. 3. Поперечные срезы (а–в) пролиферирующего зиготического зародыша (сорт Johann Strauss). 1 – эпидерма зиготического зародыша; 2 – эмбрионные клетки коровой паренхимы; 3 – заложение проводящих пучков; 4 – неэмбрионные клетки меристемы; 5 – основная меристема осевого цилиндра; 6 – двуклеточные проэмбрио. Масштабная линейка 0,001 мм

превалирующей группы эмбрионов в плоде можно прогнозировать смену пути морфогенеза в эмбриокультуре в условиях температурного стресса, который *in vitro* выступает в качестве триггера. Условия *in vitro* в целом – это селективный фон, на котором визуализируется адекватный выбор эксплантом пути морфогенеза.

Хорошо известно, что развитие зиготических зародышей проходит через критические стадии, такие как заложение первых перегородок, протодермы, дифференциация на органы, автономность (Эмбриология цветковых... 2000). В стрессовых условиях *in vitro* у эксплантов тюльпана определена автономная фаза, маркером которой является определенная длина эмбриона, коррелирующая с его возрастом. В наших экспериментах фаза автономности для разных групп спелости наступала дифференцированно и оказалась маркером бло-

кировки перепрограммирования или смены путей морфогенеза. Вероятно, критическими для смены путей морфогенеза являются более ранние стадии развития эмбрионов, например стадии дифференциации на органы. Поэтому в дальнейшем представит интерес не только уточненная периодизация развития эмбриона, но и одновременная оценка его как экспланта на поливариантность путей морфогенеза.

Пролиферация соматических эмбриоидов у отзывчивых генотипов на поверхности незрелых зиготических зародышей свидетельствует о направленной мультипликации, т.е. в конечном итоге об увеличении коэффициента размножения. Отметим, что рядом исследователей зафиксировано успешное, но не прямое образование соматических эмбриоидов у тюльпана. Для его индукции в культуре *in vitro* обычно требуется внесение в пита-

тельную среду цитокининов и ауксинов (Popescu, 2012). В условиях нашего эксперимента определилась гормональная самодостаточность стратифицированных эксплантов используемых сортов для прямого процесса эмбриогенеза, а стресс способствовал выявлению потенциальной поливариантности способов репродукции тюльпанов, изучение которой представляет интерес для выстраивания алгоритма репродуктивной стратегии этого эфемероида. Практическое значение такого подхода – возможность моделирования ответа конкретного генотипа для конкретных условий в направлении увеличения коэффициента размножения и возможного снижения продолжительности ювенильного периода.

Таким образом, выполненные исследования, показывающие особенности онтогенеза некоторых представителей *Tulipa* в стрессовых, но контролируемых условиях эмбриокультуры на БМС, позволяют сделать следующие выводы.

1. Наиболее надежным дифференцирующим биометрическим показателем семян изучаемых сортов тюльпанов, контрастных по срокам наступления цветения, является длина эмбриона.

2. В коробочках тюльпанов в возрасте 53–55 дней от начала цветения формируются разновозрастные популяции эмбрионов, варьирующие по длине.

3. Состав сформировавшейся морфофизиологической популяции эмбрионов *in vivo* является возможным прогностическим показателем поливариантности морфогенеза в эмбриокультуре.

4. В стрессовых условиях в эмбриокультуре на безгормональной среде Мурасиге и Скуга установлена потенциальная поливариантность морфогенеза, включающая пролиферацию соматических эмбриоидов.

Кроме того, уточнены место формирования и характер инициации эмбриогенных клеток, продуцирующих соматические эмбриоиды. Обнаружено дифференцированное наступление стадии автономности у эмбрионов контрастных генотипов тюльпана по срокам цветения в зависимости от размера эмбриона. Установлено, что стадия автономности эмбрионов тюльпана является маркером блокировки переключения путей морфогенеза эксплантов в стрессовых условиях.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

#### [REFERENCES]

- Ахметова А.Ш. Интродукция и размножение тюльпанов *in vivo* и *in vitro* в лесостепной зоне Башкирского Предуралья: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Оренбург, 2009. 18 с. [Akhmetova A.Sh. Introduktsiya i razmnozhenie tyul'panov in vivo i in vitro v lesostepnoi zone Bashkirskogo Predural'ya: Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk. Orenburg, 2009. 18 s.]
- Бочанцева З.П. Тюльпаны. Морфология, цитология и биология. Ташкент, 1962. 408 с. [Bochantseva Z.P. Tyul'pany. Morfologiya, tsitologiya i biologiya. Tashkent, 1962. 408 s.]
- Карташова Л.М. Интродукция дикорастущих видов тюльпанов в центрально-черноземной зоне СССР: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1987. 26 с. [Kartashova L.M. Introduktsiya dikorastushchikh vidov tyul'panov v tsentral'no-chernozemnoi zone SSSR: Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk. M., Glavnyi botanicheskii sad AN SSSR, 1987. 26 s.]
- Коломиец Т.М. Культура изолированных зародышей и создание новых селекционных форм тюльпанов: Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. Сочи, 1997. 24 с. [Kolomiets T.M. Kul'tura izolirovannykh zarodyshei i sozdanie novykh selektsionnykh form tyul'panov. Avtoref. dis. ... kand. s.-kh. nauk. Sochi, 1997. 24 s.]
- Лакин Г.Ф. Биометрия. М., 1990. 352 с. [Lakin G.F. Biometriya. M., 1990. 352 s.]
- Митрофанова И.В. Развитие биотехнологических исследований в Никитском Ботаническом саду // Бюл. Никитского ботанического сада. 2011. Вып. 100. С. 91–102 [Mitrofanova I.V. Razvitie biotekhnologicheskikh issledovaniy v Nikitskom Botanicheskom sadu // Byul. Nikitskogo botanicheskogo sada. 2011. Вып. 100. С. 91–102]
- Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. Метод. Пособие. М., 1980. 304 с. [Pausheva Z.P. Praktikum po tsitologii rastenii. Metod. Posobie. M., 1980. 304 s.]
- Печеницын В.П. Морфология и эмбриология видов *Tulipa*: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Л., 1989. 48 с. [Pechenitsyn V.P. Morfologiya i embriologiya vidov Tulipa: Avtoref. dis. ... dokt. biol. nauk. L., 1989. 48 s.]
- Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Т. 3. Системы репродукции / Под ред. Т.Б. Батыгиной. СПб., 2000. Т. 3. 645 с. [Embriologiya tsvetkovykh rastenii. Terminologiya i kontseptsii. T. 3. Sistemy reproduksii / Pod red. T.B. Batyginoi. SPb., 2000. T. 3. 645 s.]
- Benschop M., Kamenetsky R., Le Nard M., Okubo H., De Hertogh A. The Global Flower Bulb Industry: Production, Utilization, Research // Horticultural Reviews. 2010. Vol. 36. P. 1–116 / Ed. by J. Janick. Wiley-Blackwell, 2010.
- Chanteloube F., Courdouroux J.C., Tort M., Le Nard M. Micropropagation of *Tulipa gesneriana* L. regeneration of bulblets on growing floral stem segments cultured in vitro // Acta bot. Gallica. 1995. Vol. 142. N 4. P. 301–307.
- Custers J.B.M., Eikelboom W., Bergervoet J.H.W., van Eijk J.P. Embryo rescue in the genus *Tulipa* L.; successful direct transfer of *T. kaufmanniana* Regel germplasm into *T. gesneriana* L. // Euphytica. 1995. Vol. 82. N 3. P. 253–261.



Jaap M. van Tuyl, Marjan G.M. van Creij. Tulip. *Tulipa gesneriana* and *T. hybrids* // Flower Breeding and Genetics / Ed. N.O. Netherlands, 2006. P. 623–641.

Podwyszyska M. Somaclonal variation in micro propagated tulips based on phenotype observation // Journal

of Fruit and Ornamental Plant Research. 2005. Vol. 13. P. 109–122.

Popescu A. Biotechnology and molecular-based methods for genetic improvement of tulips // Current Trends in Natural Sciences (CTNS). 2012. Vol. 1. N 1. P. 147–160.

Поступила в редакцию / Received 01.06.2015

Принята к публикации / Accepted 16.12.2015

## ONTOGENESIS OF SOME REPRESENTATIVES OF *TULIPA* L. IN THE EMBRYOCULTURE UNDER THE CONDITIONS OF THE TEMPERATURE STRESS

*O.O. Timina*<sup>1</sup>, *L.G. Ionova*<sup>2</sup>, *O.Yu. Timin*<sup>3</sup>

*Tulipa kaufmanniana* Regel and *xTulipa gesneriana* L. potential ways of morphogenesis in the embryo culture under the stress condition on the Murashige and Skoog media without hormones were studied. The biomorphologic special features of seeds and embryos of contrasting genotypes on the character of early blossoming were refined and the types of morphogenesis of different age's zygotic embryos and their stages of *in vitro* independence were determined in embryo culture. The onset of the embryos independence stage was refined depending on the genotype. It is shown that the stress conditions for the embryo culture of tulip revealed the potential polyvariance of the methods of their reproduction, which depends on the degree of the fruit maturity and predominance of the prevailing group of embryos with the specific length in the formed population. The proliferation of the somatic embryoides was discovered in the preliminarily stratified unripe zygotic embryos, which did not reach the stage of independence, subjected to temperature stress. The histological analysis of the proliferating embryo culture was carried out, place and nature of the initiation of the embryogenetic cells was refined. It was discovered, that the stage of the tulip embryos independence was the marker of blocking the switching the ways of the morphogenesis of explants under the stress conditions.

**Key words:** ontogenesis; embryo culture; proliferation; the somatic embryos; the stress conditions; reprogramming; *Tulipa kaufmanniana* Regel; *xTulipa gesneriana* L.

<sup>1</sup> Timina Olga Olegovna, Taras Shevchenko Transdnestrrian State University (otimina@mail.ru); <sup>2</sup> Ionova Ludmila Grigorevna, Taras Shevchenko Transdnestrrian State University (ludochkaionova@yandex.ru); <sup>3</sup> Timin Oleg Yurevich, National Ecology and Natural Resources Scientific-Research Institute (otimin@mail.ru).