

ГЕНЕТИКА, ЦИТОЛОГИЯ И РЕПРОДУКТИВНАЯ БИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 581.163 + 582.623.2

ИССЛЕДОВАНИЕ СПОСОБНОСТИ К АПОМИКТИЧНОМУ
СПОСОБУ РЕПРОДУКЦИИ У *TROLLIUS EUROPAEUS* L., *ADONIS*
WOLGENSIS STEV. EX DC И *ANEMONOIDES RANUNCULOIDES*
HOLUB. (RANUNCULACEAE)

Н. Н. Булыгина, А. С. Кашин

Саратовский государственный университет им. Н. Г. Чернышевского
410012, Саратов, ул. Астраханская, 83
E-mail: dike08@mail.ru

В ходе цитоэмбриологического исследования растений *Trollius europaeus* L., *Adonis wolgensis* Stev. ex DC и *Anemoides ranunculoides* Holub (*Ranunculaceae*) у них впервые обнаружены признаки гаметофитного апомиксиса. Доля семязачатков с цитоэмбриологическими признаками гаметофитного апомиксиса составила в популяции *Trollius europaeus* 16.32 ± 6.12 , в популяции *Adonis wolgensis* – 5.82 ± 1.82 , а в популяции *Anemoides ranunculoides* – $3.22 \pm 1.13\%$.

Ключевые слова: гаметофитный апомиксис, цитоэмбриология, *Trollius europaeus*, *Adonis wolgensis*, *Anemoides ranunculoides*.

THE RESEARCH OF THE APOMICTIC REPRODUCTION ABILITY
TROLLIUS EUROPAEUS L., *ADONIS WOLGENSIS* STEV. EX DC
AND *ANEMONOIDES RANUNCULOIDES* HOLUB. (RANUNCULACEAE)

N. N. Buligina, A. S. Kashin

During cytoembryological investigation of *Toillius europaeus* L., *Adonis wolgensis* Stev. and *Anemoides ranunculoides* (Ranunculaceae) the features of gametophyte apomixis was found for the first time. The proportion of ovules with the features of gametophyte apomixis was made 16,32±6.12 in *Trollius europaeus* population, 5.82 ±1.82 in *Adonis wolgensis* population, 3.22 ±1.13% in *Anemoides ranunculoides* population.

Key words: gametophytic apomixis, cytoembriology, *Trollius europaeus*, *Adonis wolgensis*, *Anemoides ranunculoides*.

Явление апомиксиса привлекает пристальное внимание ученых со второй половины XIX в. Первые цитозэмбриологические доказательства апомиксиса у растений были получены на рубеже XIX–XX вв. (Juel, 1898, 1900; Murberck, 1897, 1904), а широкие возможности в разработке новых методов селекции не вызывали сомнения уже в середине прошлого века (Хохлов, 1950; Петров, 1964; Дубинин, 1969). Однако единого мнения о генетических предпосылках апомиксиса и закономерностях его распространения в связи с эколого-географическими условиями до сих пор нет. Нет также и целостной картины представлений о степени распространения апомиктичного способа репродукции у растений.

В связи с этим всё более актуальной становится задача изучения распространения апомиктичного способа размножения у как можно большего числа семейств, родов и видов цветковых растений и выяснения закономерностей распространения данного способа репродукции.

Основным методом изучения распространения апомиксиса у растений по-прежнему остаётся цитозэмбриологический метод. В семействе Ranunculaceae цитозэмбриологически исследовано 76 видов 19 родов (Сравнительная..., 1981). По данным С. С. Хохлова с соавт. (1978), апомиксис отмечен у 21 вида 10 родов семейства. В списке J. Carman (1995, 1997) указан только 1 род (*Ranunculus*) семейства, у представителей которого обнаружен апомиксис. Столь противоречивые сведения о распространении апомиксиса в семействе Ranunculaceae указывают на не-

обходимость пристального изучения представителей этого семейства в отношении анализа способности их к апомиктической репродукции.

В Саратовской области произрастают около 40 видов 15 родов семейства (Еленевский и др., 2008). В данной работе представлены результаты цитоэмбриологического изучения способности к гаметофитному апомиксису у трёх видов (*Trollius europaeus*, *Adonis wolgensis* и *Anemoides ranunculoides*) семейства. Два из них (*T. europaeus*, *A. wolgensis*) относятся к числу редких и исчезающих видов Саратовской области. Занесены в Красную книгу региона (Красная..., 2006).

Материал и методика

Материал для цитоэмбриологического исследования собран в 2012 г. В силу того что *Trollius europaeus* встречается в области чрезвычайно редко и не образует популяций, достаточных для проведения цитоэмбриологических исследований популяционного уровня без нанесения ущерба численности особей в них, цветки растений этого вида собраны в Республике Коми (окрестности с. Ловля, Ловлинского района). Материал для цитоэмбриологического изучения *Adonis wolgensis* собран в Саратовской области (окрестности с. Некрасово, Красноармейского района). Материал *Anemoides ranunculoides* собран в окрестностях г. Саратова.

Для предотвращения возможности опыления цветки с 30 растений случайной выборки фиксировали на стадии зрелых бутонов в фиксаторе Кларка (3 части 95%-ного этанола : 1 часть ледяной уксусной кислоты). В условиях лаборатории материал промывали в проточной воде в течение суток, затем окрашивали 2%-ным ацетокармином в течение 6 часов, после чего снова промывали.

Структуру зародышевых мешков и прилегающего района семязачатка исследовали на микроскопических препаратах, приготовленных с использованием метода просветления семязачатков (Негт, 1971), модифицированного нами под особенности объектов. После частичной мацерации семязачатков цитазой при помощи микропрепаровальных игл под стереомикроскопом МСП-1 вычленили область семязачатка в районе зародышевого мешка с минимальным количеством слоёв соматических клеток. Оставшуюся центральную часть семязачатка с женским мегагаметофитом помещали на предметное стекло в каплю просветляющей жидкости и исследовали методом фазово-контрастной микроскопии под микроскопом AxioLab (Karl Zeiss) при увеличении $\times 400$.

О частоте апомиксиса судили по частоте встречаемости в семязачатках клеток, морфологически подобных апоспорическим инициалам, и зародышевых мешков с признаками развития зародыша и (или) эндосперма без оплодотворения.

Было проанализировано 108 семязачатков *T. europaeus*, 120 семязачатков *Adonis wolgensis* и 178 семязачатков *Anemoides ranunculoides*.

Результаты и их обсуждение

Результаты цитоэмбриологического изучения структуры мегагаметофита и прилегающих областей семязачатка у растений исследованных видов представлены в таблице.

Большинство зародышевых мешков (ЗМ) в исследованных семязачатках (у *T. europaeus* и *Adonis wolgensis* – две трети от числа исследованных, а у *Anemoides ranunculoides* – более 95%) имели нормальное строение, морфологически соответствующее Polygonum-типу: 2 синергиды, яйцеклетка, вторичное ядро либо полярные ядра центральной клетки, антиподы (рис. 1,1; 2,1).

Доля дегенерировавших зародышевых мешков (рис. 1,2) составила у растений *T. europaeus* 15.88%, а у растений *Adonis wolgensis* – 22.18%. У растений вида *Anemoides ranunculoides* зародышевых мешков с признаками дегенерации не обнаружено.

В части исследованных семязачатков обнаружены цитоэмбриологические признаки гаметофитного апомиксиса. Доля семязачатков с такими признаками была максимальной у растений *T. europaeus* (16.32%), средней – у растений *Adonis wolgensis* (5.82%) и минимальной – у растений *Anemoides ranunculoides* (3.22%). Чаще всего встречались семязачатки, в которых рядом с эуспорическим (в части случаев с дегенерирующим) зародышевым мешком (рис. 1,3; 2,2) или тетрадой мегаспор (рис. 2,4) присутствовали клетки, морфологически подобные апоспорическим инициалам. Только у растений *T. europaeus* в 3.06% исследованных семязачатков была отмечена преждевременная эмбриония (рис. 1,4). При этом проэмбрио был представлен 2–5 клетками.

Выводы

Результаты цитоэмбриологических исследований растений из популяций *T. europaeus*, *Adonis wolgensis* и *Anemoides ranunculoides* выявили их потенциальную способность к гаметофитному апомиксису. Доля семя-

Особенности структуры женских гаметофитов и прилегающих районов семязачатка у исследованных видов
Ranunculaceae

Название вида	Зародышевые мешки, % нормального строения, %	Дегенерировавшие ЗМ, %	Семязачатки с признаками апомиксиса, %			
			Промбрио	Клетки, подобные апоспориеским нинициалам, в присутствии дегенерирующих зуспорических ЗМ	Клетки, подобные апоспориеским нинициалам, в присутствии тетрады метаспор	Всего
<i>Trollius europaeus</i>	67.81 ± 3.00	15.88 ± 3.46	3.06 ± 1.59	1.92 ± 1.29	11.34 ± 3.24	16.32 ± 6.12
<i>Adonis wolgensis</i>	69.66 ± 1.38	22.18 ± 2.37	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	5.82 ± 1.82	5.82 ± 1.82
<i>Anemoides ranunculoides</i>	95.67 ± 1.29	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	3.22 ± 1.13	3.22 ± 1.13

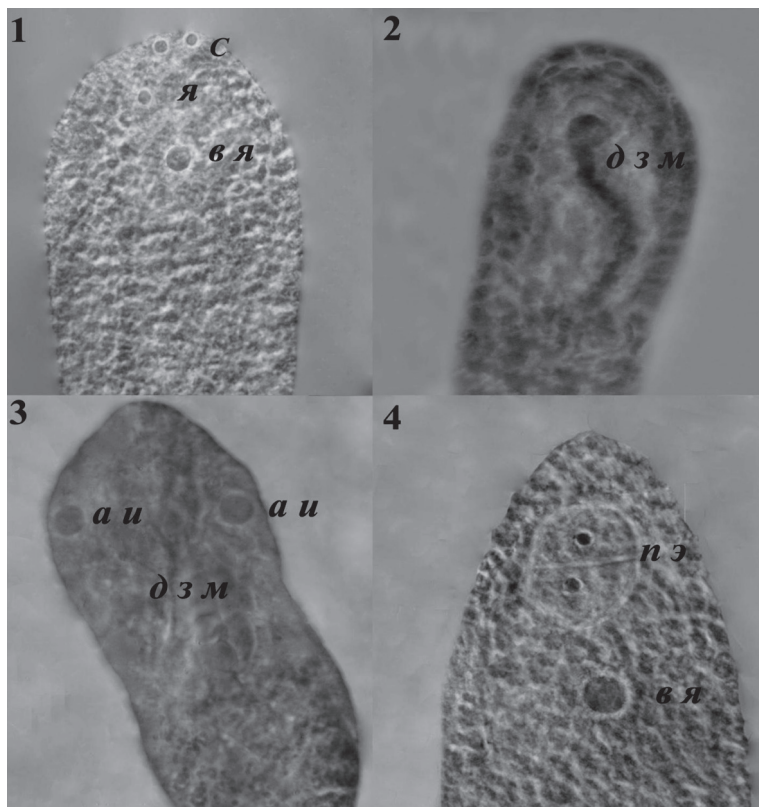


Рис. 1. Структура семязачатков *Trollius europaeus* L.: 1 – зрелый зародышевый мешок нормального строения; 2 – дегенерирующий зародышевый мешок; 3 – дегенерирующий эуспорический зародышевый мешок и две развивающиеся апоспоровые инициали; 4 – преждевременная эмбриония; *дзм* – дегенерировавший эуспорический зародышевый мешок, *с* – синергиды, *я* – яйцеклетка, *вя* – вторичное ядро центральной клетки, *аи* – апоспорическая инициаль, *пэ* – проэмбрио

зачатков с цитоэмбриологическими признаками гаметофитного апомиксиса в популяции *T. europaeus* составила $16.32 \pm 6.12\%$. Доля семязачатков с цитоэмбриологическими признаками гаметофитного апомиксиса в популяции *Adonis wolgensis* составила 5.82 ± 1.82 , а в популяции *Anemoides ranunculoides* – $3.22 \pm 1.13\%$.

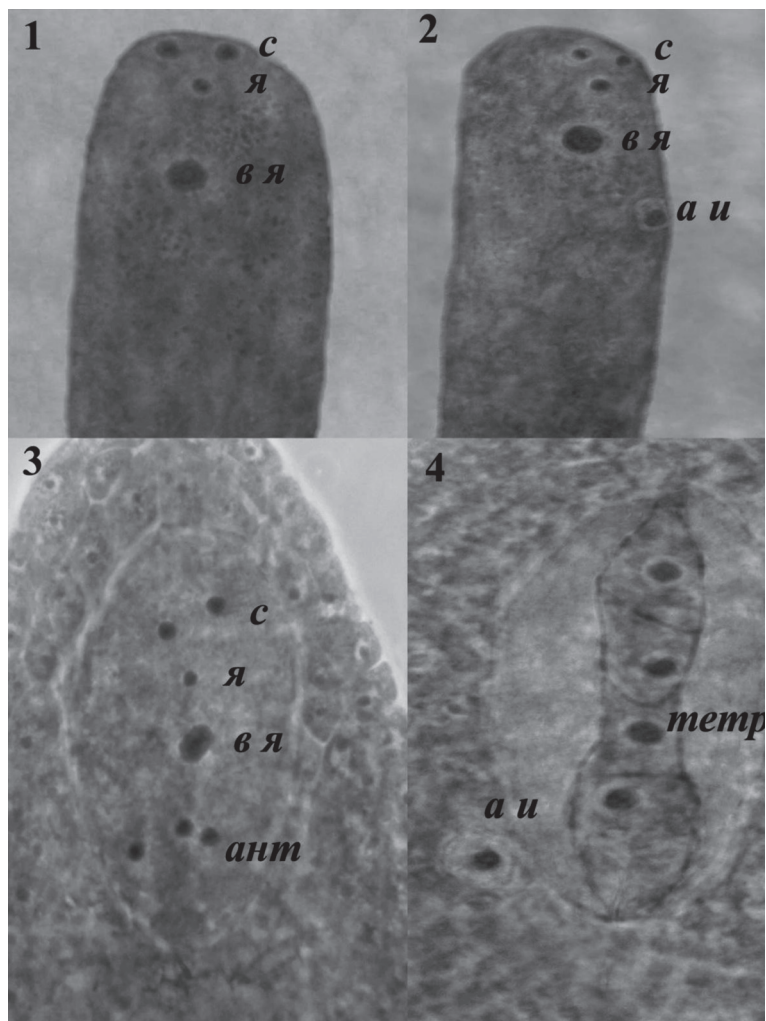


Рис. 2. Структура семязачатков *Adonis wolgensis* (1, 2) и *Anemoides ranunculoides* Holub. (3, 4): 1, 3 – зрелый зародышевый мешок нормального строения; 2 – зрелый зародышевый мешок и апоспорическая инициаль; 4 – тетрада мегаспор и апоспорическая инициаль; зм – эуспорический зародышевый мешок, с – синергиды, я – яйцеклетка, в я – вторичное ядро центральной клетки, ант – антиподы, а и – апоспорическая инициаль

Список литературы

- Дубинин Н. П. Эволюция популяций и радиация. М., 1966. 743 с.
- Еленевский А. Г., Буланый Ю. И., Радыгина В. И. Конспект флоры Саратовской области. Саратов, 2008. 232 с.
- Красная книга Саратовской области : Грибы. Лишайники. Растения. Животные. Саратов, 2006. 528 с.
- Петров Д. Ф. Генетически регулируемый апомиксис. Новосибирск, 1964. 187 с.
- Сравнительная эмбриология цветковых растений. Brunelliaceae–Tremandraceae / под ред. М. С. Яковлева. Л., 1985. 286 с.
- Хохлов С. С. Перспективы эволюции высших растений // Учен. зап. Саратов. ин-та. 1950. Т. 11. С. 3–197.
- Хохлов С. С., Зайцева М. И., Курьянов П. Г. Выявление апомиктических растений во флоре цветковых растений СССР. Саратов, 1978. 224 с.
- Carman J. G. Gametophytic angiosperm apomicts and the occurrence of polypspory and polyembryony among their relatives // Apomixis Newsletter. 1995. № 8. P. 39–53.
- Carman J. G. Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispory, tetraspory, and polyembryony // Biol. J. Linn. Soc. 1997. Vol. 61. P. 51–94.
- Herr Jm. J. M. A new clearing-squash technique for study of ovule, development in angiosperms // Amer. J. Bot. 1971. Vol. 20, № 8. P. 785–790.
- Juel O. Parthenogenesis bei *Antennaria alpina* (Z.) Br. // Bot. Centralbl. 1898. Bd. 74, H. 13. S. 369–372.
- Juel O. Vergleichende Untersuchungen über typische und parthenogenetische Fortpflanzung bei der Gattung *Antennaria* // Kgl. sven. vetenskapskad. handl. 1900. Bd. 33, H. 5. S. 1–59.
- Murbeck S. Om vegetative embryobildning hos tertialet *Alchemilla* och den forklaring ofver formbestandigheten inom Hagtet, som densamma innebar // Bot. Notis. 1897. S. 273–277.
- Murbeck S. Parthenogenese bei den Gattungen *Taraxacum* und *Hieracium* // Bot. Notis. 1904. S. 285–296.