

Куприянов П. Г. Диагностика систем семенного размножения в популяциях цветковых растений. Саратов, 1989. 160 с.

Тырнов В. С., Еналеева Н. Х. Автономное развитие зародыша и эндосперма у кукурузы // Докл. АН СССР. 1983. Т. 272, № 3. С. 254–259.

Юдакова О. И., Гуторова О. В., Беляченко Ю. А. Методы исследования репродуктивных структур и органов растений : учеб.-метод. пособие для студентов биол. фак. Саратов, 2012. 44 с.

Enaleeva N. Ch., Tyrnov V. S. Cytological investigation of apomixis in AT-1 plants of corn // Maize Genetics Cooperation. Newsletter. 1997. № 71. P. 74–75.

Cooper J. L., Birchler J. A. Developmental impact on trans-acting dosage effects in maize aneuploids // Genesis. 2001. Vol. 31, № 2. P. 64–71.

Lee E. A., Coe E. H., Darrah L. L. Genetic variation in dosage effects in maize aneuploids // Genome. 1996. Vol. 39, № 4. P. 711–721.

УДК 581.16 + 582.998

КАЧЕСТВО ПЫЛЬЦЫ И ЦИТОЭМБРИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ
ГАМЕТОФИТНОГО АПОМИКСИСА В ПОПУЛЯЦИЯХ ВИДОВ
CHONDRILLA L. НИЖНЕГО ПОВОЛЖЬЯ

Ю. А. Полякова, Е. В. Угольникова, А. С. Кашин, А. О. Попова

*Саратовский государственный университет им. Н. Г. Чернышевского,
Учебно-научный центр «Ботанический сад»
410010, Саратов, ул. Академика Навашина
E-mail: kashinas2@yandex.ru*

Показано, что растения пяти исследованных видов (*C. juncea*, *C. graminea*, *C. canescens*, *C. brevirostris* и *C. latifolia*) характеризуются высокой степенью дефектности пыльцы (60–80%) и наличием цитозембриологических маркерных признаков гаметофитного апомиксиса. Это указывает на высокую вероятность их способности к семенному воспроизводству путём апомиксиса. Установлено, что частота обнаружения таких признаков существенно варьирует по годам и на межпопуляционном уровне. Выявлено, что *C. ambigua* является, скорее всего, половым видом, так как характеризуется фактически отсутствием дефектной пыльцы и мегагаметофитов с признаками апомиксиса развития элементов.

Ключевые слова: гаметофитный апомиксис, цитозембриологические маркерные признаки, дефектность пыльцы, *Chondrilla*, Asteraceae.

THE QUALITY OF POLLEN AND CYTOEMBRYOLOGICAL SIGNS
OF GAMETOPHYTIC APOMIXIS IN THE POPULATIONS
OF *CHONDRILLA* L. SPECIES THE LOWER VOLGA REGION

Yu. A. Polyakova, E. V. Ugolnikova, A. S. Kashin, A. O. Popova

It is shown that the plants of the five investigated species (*C. juncea*, *C. graminea*, *C. ca-nescens*, *C. brevisrostris*, *C. latifolia*) are characterized by a high degree of defectiveness of pollen (60–80%) and the presence of cytoembryological marker signs gametophytic apomixis. This indicates a high probability of their ability to seed reproduction by apomixis. It is established that the frequency of detection of these signs varies significantly among years and between-population level. It is revealed that *C. ambigua* is probably, after sex, because actually characterized by the absence of defective pollen and megagametophytes with signs apomictical development elements.

Key words: gametophytic apomixis, cytoembryological marker when signs, deflections pollen, *Chondrilla*, Asteraceae.

Заключения о степени распространения апомиксиса в пределах рода *Chondrilla* L. (Asteraceae) остаются довольно противоречивыми. Фрагментарные сведения по эмбриологии видов этого рода в литературе приведены лишь по 11 видам (Сравнительная..., 1987). Поэтому представления о том, что диплоидные виды рода с числом хромосом $2n = 10$ размножаются половым путём, а все полиплоидные виды с числом хромосом равным 15, 20 размножаются апомиктично (Bergman, 1952; Поддубная-Арнольди, 1976; van Dijk, 2003), во многом являются умозрительными, сформировавшимися по аналогии с общими представлениями о структуре агамных комплексов у цветковых (Кашин, 1999, 2000). Имеется целый ряд противоречий в отнесении того или иного вида рода к половым или апомиктичным. Так, чаще всего указывается, что из примерно тридцати видов рода диплоидных половых вида два: *C. ambigua* Fisch. и *C. chondrilloides* Fisch. (Poddubnaja-Arnoldy, 1933; Bergman, 1952; Хромосомные..., 1969; Числа..., 1990), причём один из них (*C. ambigua* Fisch.) некоторые авторы считают не самостоятельным видом, а лишь разновидностью *C. juncea* var. *ambigua* Fisch. (Талиев, 1928). Сам же вид *C. juncea* является факультативно апомиктичным. Второй из перечисленных видов (*C. chondrilloides*) у ряда авторов указан как апомиктичный диплоспоровый вид (Поддубная-Арнольди, 1964; Хохлов и др., 1978). Кроме того, в качестве диплоидного полового вида у ряда авторов указан *C. pauciflora*

(van Dijk, 2003), хотя, судя по другим данным, этот вид триплоиден (Хромосомные..., 1969; Числа хромосом..., 1990; Хохлов и др., 1978) и апомиктичен (Хохлов и др., 1978; Carman, 1995). По мнению ряда авторов, все виды рода считаются апомиктичными (Ильин, 1930; Леонова, 1964, 1989).

В связи с этим исследование особенностей системы семенного размножения видов и цитогенетической структуры популяций родового агамного комплекса *Chondrilla* представляется весьма актуальным. Эмбриологическое изучение может дать дополнительные сведения о степени таксономического родства форм рода *Chondrilla* и пролить свет на причины трудной в интерпретации таксономической структуры и особенностей системы семенного размножения у видов рода.

Всё вышеуказанное делает настоятельно необходимым проведение исследования особенностей системы семенного размножения в пределах агамного комплекса *Chondrilla*.

Целью исследования было сравнительное изучение цитозембриологических признаков апомиксиса и степени дефектности пыльцы как косвенного признака, указывающего на высокую вероятность апомиксиса у той или иной таксономической формы (Хохлов и др., 1978; Куприянов, 1989) в популяциях видов рода *Chondrilla* Нижнего Поволжья. При этом нам видится очень важным уточнение и подтверждение ранее полученных данных (Добрыничева и др., 2005, 2006; Кашин и др., 2006), а также многолетний мониторинг параметров системы семенного размножения в одних и тех же популяциях исследуемых видов.

Материал и методика

Исследования проводили в 2013–2014 гг. В среднем в каждый год наблюдения исследовано по 30 растений из популяций *C. juncea* L. и *C. graminea* Vieb., произрастающих в Аткарском, Базарно-Карабулакском, Краснокутском и Хвалынском р-нах, популяции *C. canescens* Kat. Et Kir., произрастающей в Хвалынском р-не Саратовской обл., а также популяции *C. ambigua* Fisch. и *C. brevirostris* Fisch. et Mey. из Астраханской и *C. latifolia* Vieb. из Волгоградской областей.

Соцветия для цитозембриологического анализа за 1–3 суток до цветения краевых цветков фиксировали в фиксаторе Кларка (96%-ный этиловый спирт и ледяная уксусная кислота в соотношении 3 : 1). Препараты зародышевых мешков готовили с использованием микропрепаровальных

игл после мацерации цитазой (Куприянов, 1982). Материал предварительно окрашивали 2%-ным ацетокармином. В качестве признаков апомиктического развития зародышевых мешков считали преждевременную эмбрионию и (или) развитие эндосперма без оплодотворения. В среднем по каждой популяции исследовано около 150 зародышевых мешков.

Анализ качества пыльцы у растений проводили в 2014 г. Использовали методику приготовления давленных препаратов пыльников, окрашенных ацетокармином (Юдакова и др., 2012). Для анализа брали пыльники нижних цветков из колосков, расположенных в центральной части соцветия. Пыльцу окрашивали ацетокармином и заключали в глицерин-желатиновую смесь. Подсчет разных морфологических типов проводили в ходе анализа выборки из 300 пыльцевых зерен, представляющих собой смесь из пыльников 3–5 цветков соцветия. Определяли степень дефектности пыльцы (СДП) как процентное отношение дефектных пыльцевых зёрен к общему числу проанализированных пыльцевых зёрен.

Приготовление препаратов осуществляли под стереомикроскопом Stemi-2000 (Karl Zeiss). Структуру зародышевых мешков и пыльцы изучали под микроскопом AxioLab (Karl Zeiss).

Результаты и их обсуждение

У большинства исследованных видов рода СДП была высокой и варьировала в диапазоне от 60 до 90%. Основная масса дефектных пыльцевых зёрен представляла собой лишённые цитоплазмы, деформированные пыльцевые зёрна или сильно плазмолизированные пыльцевые зёрна с дегенерирующим содержимым. Исключение составила только популяция *C. ambigua*, растения которой характеризовались дефектностью пыльцы около 0% (табл. 1). Полученные по качеству пыльцы результаты говорят в пользу того, что *C. ambigua*, скорее всего, является половым видом, а остальные пять исследованных видов (*C. juncea*, *C. graminea*, *C. canescens*, *C. brevisrostris* и *C. latifolia*) могут иметь склонность к семенному воспроизводству путём апомиксиса.

Это заключение подтверждают и полученные при исследовании состояния женского гаметофита результаты (табл. 2).

Во всех исследованных местообитаниях растения *C. juncea* и *C. graminea* произрастали в смешанных популяциях, при этом по таксономически значимым морфологическим признакам образовывали непрерывный спектр переходов от одной крайней форме к другой, так что

Таблица 1

Качество пыльцы у растений видов *Chondrilla* Нижнего Поволжья

Название вида и место произрастания популяции	Пыльцевые зёрна, %							
	выполненные				дефектные			
	нормально-го размера	крупные	мелкие	пустые	плазмодии-зированные	СДП, %		
<i>Chondrilla juncea</i> + <i>graminea</i> . Окрестности с. Дьяковка	27.11±2.92	0.60±0.17	0.31±0.11	47.90±5.41	24.07±2.74	72.29±2.96		
<i>Chondrilla juncea</i> + <i>graminea</i> . Аткарский район, окр. с. Приречное	39.58±1.87	0.00	0.00	32.66±1.72	27.75±1.01	60.42±1.88		
<i>Chondrilla juncea</i> + <i>graminea</i> . Б.-Карабулакский район, с. Алексеевка	29.87±2.23	0.00	2.78±1.23	31.08±1.40	36.26±1.85	70.13±2.23		
<i>Chondrilla latifolia</i> . Волгоградская обл., г. Камышин	10.75±0.84	6.76±0.66	15.95±1.37	16.56±5.07	49.97±3.14	82.49±1.20		
<i>Chondrilla brevirostris</i> . Астраханская обл., с. Кочковатка	21.76±3.27	0.00	3.69±1.80	47.45±7.29	27.09±3.99	78.24±3.28		
<i>Chondrilla ambigua</i> . Астраханская обл., с. Досанг	97.69±0.54	0.00	0.44±0.17	0.00	1.85±0.48	2.21±0.51		
№ 113, 115 <i>C. juncea</i> + <i>graminea</i> , Хвалынский район, окр. г. Хвалынский	9.56±1.45	0.95±0.38	0.64±0.37	11.89±1.94	76.96±2.73	89.49±5.04		

Таблица 2
 Частота апомиксиса в популяциях видов *Shonvillea*, выявленная по цитозбриологическим признакам

№	Название вида	Год исследования		Исследовано, шт		ЗМ нормального строения, %	Дегенерированное ЗМ, %	Признаки гаметофитного апомиксиса, %				
		растений	зародышевых мешков	преждевременная эмбриония	эндосперм без оплодотворения			развитие обоех струп без оплодотворения	всего			
1	<i>S. jilpsea</i> + <i>graminea</i> . с. Дьяковка	25	250	2014	64.00±8.85	0.00	10.0	3.33	22.80	36.13±8.07		
2	<i>S. jilpsea</i> + <i>graminea</i> . Аткарский р-н, с. Приречное	28	280	2014	87.14±5.08	3.21±1.45	5.35	0.37	3.92	12.85±3.72		
3	<i>S. jilpsea</i> + <i>graminea</i> . Базарно-Карбулакский р-н, с. Алексеевка	11	103	2013	70.91±5.13	0.00	4.55	14.55	10.0	29.01±3.90		
		26	260	2014	77.3±7.43	0.00	8.46	0.00	14.23	22.69±6.61		
4	<i>S. ambigua</i> . Астраханская обл., с. Досанг	19	185	2013	100.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
		30	125	2014	100.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
5	<i>S. brevirostris</i> . Астраханская обл., с. Кочковатка	14	140	2013	100.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
		29	275	2014	74.90±6.81	0.00	7.24	7.24	10.22	24.70±4.10		
6	<i>S. satsepens</i> . Хвалынский р-н, г. Бельнская	20	200	2013	92.50±3.15	0.00	0.50	4.00	3.00	7.50±0.50		
7	<i>S. jilpsea</i> . Хвалынский, гора Бельнская	9	90	2013	96.25±2.63	0.00	0.00	2.50	1.25	3.75±0.25		
8	<i>S. graminea</i> . Хвалынский, гора Бельнская	13	123	2013	92.09±4.52	0.00	4.49	3.42	0.00	7.91±0.42		
9	<i>S. jilpsea</i> + <i>graminea</i> . Хвалынский р-н, г. Бельнская	17	168	2014	81.17±4.52	13.52±3.52	0.00	1.17	4.11	5.28±0.80		
10	<i>S. latifolia</i> . Волгоградская обл. окр. г. Камышин	5	50	2013	70.00±8.36	0.00	6.00	24.00	0.00	30.00±5.09		
		25	250	2014	50.80±8.28	1.60±0.94	4.40	13.20	30.00	47.60±7.32		

выделять «чистые» морфы растений того или другого вида с перекрывающимися признаками было весьма проблематичным. По этой причине в 2014 г. во всех трёх местообитаниях из различных районов Саратовской области, а в 2013 г. – в одном из местообитаний (из Б.-Карабулакского р-на) исследовали смешанную случайную выборку растений этих двух видов, не подразделяя их по видовым признакам. При этом в 2014 г. выборки растений *C. juncea* + *C. graminea* из Краснокутского и Б.-Карабулакского р-нов по частоте встречаемости мегagamетофитов с признаками гаметофитного апомиксиса достоверно не различались между собой (36.13 ± 8.07 и $29.01 \pm 3.90\%$ соответственно). Достоверно более низкая частота встречаемости таких мегagamетофитов отмечена в выборке растений двух исследуемых видов из Аткарского р-на ($12.85 \pm 3.72\%$). Ещё более низкая частота цитозэмбриологических признаков апомиксиса обнаружена в популяциях из Хвалынского р-на. Исследование выборок растений, близких по комплексу морфологических признаков к тому или иному виду, показало, что частота цитозэмбриологических признаков гаметофитного апомиксиса в выборке растений, по морфотипу близких к *C. graminea*, более чем в 2 раза выше, чем в выборке растений, по морфотипу близких к *C. juncea* (7.91 ± 0.42 и $3.75 \pm 0.25\%$ соответственно) (см. табл. 2). Интересно, что при исследовании в 1999–2004 гг. выборок таких растений из популяций, произрастающих в других районах Саратовской обл. (Саратовский, Б.-Карабулакский, Краснокутский р-ны), напротив, растения, по морфотипу близкие к *C. juncea*, вели себя как факультативно апомиктичные, а растения, по морфотипу близкие к *C. graminea*, – как облигатно амфимиктичные (Кашин и др., 2006). При этом сходные результаты получены как при цитозэмбриологическом исследовании, так и при исследовании реальной семенной продуктивности в условиях беспыльцевого режима цветения.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что различные популяции этих двух видов в отношении параметров системы семенного размножения ведут себя по-разному, одни – как амфимиктичные популяции, другие – как факультативно апомиктичные. При этом частота обнаружения признаков гаметофитного апомиксиса в одной и той же популяции может существенно варьировать по годам, как это наблюдалось в смешанной популяции растений этих двух видов из Б.-Карабулакского р-на (в 2013 г. частота признаков апомиксиса была в 1.3 раза выше, чем в 2014 г.). В популяциях встречались все возможные варианты развития

элементов мегагаметофита без оплодотворения, т. е. преждевременная эмбриония, развитие эндосперма без оплодотворения, развитие в одном мегагаметофите зародыша и эндосперма без оплодотворения.

В популяции *C. canescens* частота встречаемости мегагаметофитов с признаками апомиктического развития в 2013 г. составила $7.5 \pm 0.5\%$. Чаще всего обнаруживалось развитие проэмбрио и/или эндосперма без оплодотворения, реже – развитие только проэмбрио. В 2005 г. частота обнаружения цитоэмбриологических признаков апомиксиса была почти в 6 раз выше, чем в 2013 г. При этом имели место два варианта развития элементов мегагамето-фита без оплодотворения: эндосперма и/или зародыша (Кашин и др., 2006).

В популяции *C. latifolia* в 2014 г. частота встречаемости цитоэмбриологических признаков гаметофитного апомиксиса была достоверно выше ($47.6 \pm 7.32\%$), чем в 2013 г. ($30.0 \pm 5.1\%$) (см. табл. 2). При этом в 2013 г. почти у трети, а в 2014 г. – у около половины исследованных мегагаметофитов были обнаружены цитоэмбриологические признаки апомиксиса. Как и в популяции *C. Canescens*, чаще всего обнаруживалось развитие проэмбрио и/или эндосперма без оплодотворения, реже – развитие только проэмбрио. В 2005 г. частота обнаружения признаков гаметофитного апомиксиса в той же популяции данного вида была существенно ниже (в 2–3 раза), чем в 2013–2014 гг. (Кашин и др., 2006).

В популяции *C. brevirostris* в 2013 г. признаков гаметофитного апомиксиса не было обнаружено, в то время как в 2014 г. частота обнаружения таких признаков достигала почти 25% (см. табл. 2). При этом наблюдали с примерно одной частотой преждевременную эмбрионию и развитие проэмбрио и/или эндосперма без оплодотворения. В 2005 г. в популяции этого вида признаки гаметофитного апомиксиса обнаружены лишь примерно в 2.5% мегагаметофитов (Кашин и др., 2006), что в 10 раз ниже, чем в 2014 г.

В популяции *C. ambigua* в оба года наблюдения все мегагаметофиты имели нормальное строение без признаков апомиктического развития (см. табл. 2). Подобная же картина наблюдалась и в 2005 г. (Кашин и др., 2006), т. е. популяция стабильно вела себя как облигатно амфимиктичная.

Таким образом, высокая степень дефектности пыльцы (60–80%) у растений пяти исследованных видов (*C. juncea*, *C. graminea*, *C. canescens*, *C. brevirostris* и *C. latifolia*) указывает на высокую вероятность их способности к семенному воспроизводству путём апомиксиса. Обнаруженные у

них при цитоэмбриологическом изучении женской генеративной сферы признаки апомиктического развития элементов мегагаметофита подтверждают это заключение. Частота обнаружения таких признаков существенно варьирует по годам и на межпопуляционном уровне. При этом чаще всего в одних и тех же популяциях (*C. brevirostris* и *C. latifolia*) в 2014 г. частота обнаружения таких признаков была существенно выше, чем в 2013 г. Только в смешанной популяции *C. juncea* + *C. graminea* не было достоверности различий между частотами обнаружения цитоэмбриологических признаков апомиксиса в 2013 и 2014 гг. *C. ambigua* является, скорее всего, половым видом, так как характеризуется фактически отсутствием дефектной пыльцы и мегагаметофитов с признаками апомиктического развития элементов.

Исследование выполнено при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 15-04-04087).

Список литературы

Добрыничева Н. В., Кочанова И. С., Кашин А. С. Цитоэмбриологическое изучение частоты апомиксиса в популяциях *Chondrilla juncea* L. и *C. graminea* Vieb. // Бюл. Бот. сада Саратов. гос. ун-та. 2005. Вып. 4. С. 240–247.

Добрыничева Н. В., Кочанова И. С., Кашин А. С. Сравнительное изучение некоторых параметров системы семенного размножения в популяциях рода *Chondrilla* L. // Бюл. Бот. сада Саратов. гос. ун-та. 2006. Вып. 5. С. 307–312.

Ильин М. М. *Chondrilla* L. // Бюл. отдел. каучукон. 1930. № 3. С. 1–61.

Кашин А. С. Структура агамокомплексов и проблема сальтационного видообразования у покрытосеменных // Бот. журн. 1999. Т. 84, № 1. С. 15–29.

Кашин А. С. Геномная изменчивость, гибридогенез и возможности хромосомного видообразования при гаметофитном апомиксисе // Успехи современной биологии. 2000. Т. 120, № 5. С. 501–511.

Кашин А. С., Добрыничева Н. В., Кочанова И. С., Демочки Ю. А. Особенности семенного размножения в популяциях *Chondrilla juncea* и *Chondrilla graminea* (Asteraceae) // Бот. журн. 2006. Т. 91, № 5. С. 729–744.

Куприянов П. Г. Способ приготовления препаратов зародышевых мешков. А. с. № 919636 // Бюл. изобр. 1982. № 14. С. 7.

Куприянов П. Г. Диагностика систем семенного размножения в популяциях цветковых растений. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 1989. 160 с.

Леонова Т. Г. Род Хондрилла – *Chondrilla* L. // Флора СССР. М. ; Л. : Наука, Ленингр. отд-ние. 1964. С. 560–586.

Леонова Т. Г. Хондрилла – *Chondrilla* L. // Флора Европейской части СССР. Т. 8. Л. : Наука, 1989. С. 57–61.

Поддубная-Арнольди В. А. Цитозембриология покрытосеменных растений. М. : Наука, 1976. 507 с.

Сравнительная эмбриология цветковых растений. *Davidiaceae* – *Asteraceae*. Л. : Наука, Ленингр. отд-ние. 1987. 392 с.

Талиев В. И. Определитель высших растений Европейской части СССР. М. ; Л. : Госиздат, 1928. 630 с.

Хохлов С. С., Зайцева М. И., Куприянов П. Г. Выявление апомиктичных растений во флоре цветковых растений СССР. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 1978. 224 с.

Хромосомные числа цветковых растений. Л. : Наука, Ленингр. отд-ние. 1969. 926 с.

Числа хромосом цветковых растений флоры СССР. Семейства *Aceraceae* – *Menyanthaceae*. Л. : Наука, Ленингр. отд-ние. 1990. 509 с.

Юдакова О. И., Гуторова О. В., Беляченко Ю. А. Методы исследования репродуктивных структур и органов растений : учеб.-метод. пособие для студентов биол. фак. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2012. 44 с.

Bergman B. *Chondrilla chondrilloides*, a new sexual *Chondrilla* species // *Hereditas*. 1952. Vol. 38, № 3. P. 367–369.

Carman J. G. Gametophytic angiosperm apomicts and the occurrence of polyspory and polyembryony among their relatives // *Apomixis Newsletter*. 1995. № 8. P. 39–53.

Dijk van P. J. Ecological and evolutionary opportunities of apomixis : insights from *Taraxacum* and *Chondrilla* // *Phil. R. Soc. Lond. B*. 2003. Vol. 358. P. 1113–1121.

Poddubnaja-Arnoldy W. A. Geschlechtliche und ungeschlechtliche Fortpflanzung bei einigen *Chondrilla*-Arten // *Planta*. 1933. B. 19, H. 1. S. 46–86.