

Лобанова Л.П., Еналеева Н.Х. Изменчивость цитологической структуры мега-гаметофита табака под действием фитогормонов // Бюл. Бот. сада СГУ. Саратов, 2006. Вып. 5. С. 323–327.

Lobanova L., Enaleeva N. The development of embryo sacs in in vitro ovaries of *Nicotiana tabacum* L. // Plant Science. 1998. Vol. 131. P. 191–202.

УДК 581.163 + 582

ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРО- И МЕГАГАМЕТОФИТА
У НЕКОТОРЫХ СОРТО- И ВИДООБРАЗЦОВ *Festuca Rubra* L.,
F. Pratensis Huds. и *F. Arunolinacea* Schreb.

А.Х. Миндубаева, Т.Н. Шакина, Н.М. Лисицкая, А.С. Кашин

Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского
410012, Саратов, Астраханская, 83

Явление апомиксиса давно пользуется повышенным вниманием исследователей. Известно, что размножающиеся апомиктично растения дают более однородное, относительно постоянное потомство, способное сохранять гетерозисный эффект во многих поколениях. С помощью апомиксиса закрепляется целый ряд ценных свойств, что невозможно реализовать при половом размножении вследствие расщепления гибридов. В связи с этим использование апомиксиса открывает большие возможности в решении ряда селекционных задач, повышении урожайности и улучшении многих хозяйственных признаков. Однако способность к такому размножению отсутствует у важнейших культурных растений, что делает вопрос об экспериментальном получении устойчивого апомиктичного размножения у таких растений очень актуальным (Петров, 1979; Kindiger et al., 1996; Grossniklaus et al., 2001; 3rd International..., 2007).

Исследование биологии злаков, в особенности способа их размножения, имеет большое теоретическое и практическое значение, поскольку к злакам относятся все основные хлебные и многие кормовые растения. Знание закономерностей проявления апомиксиса в этом семействе может оказаться полезным для поисков путей и способов использования различных форм апомиксиса в селекции и семеноводстве (Хохлов, 1967; Savidan, 1995, 2001; Vielle Calzada et al., 1996).

Объектом цитоэмбриологического исследования данной работы являются представители рода овсяниц – *Festuca rubra* L., *F. pratensis* Huds. и *F. arunolinacea* Schreb. Изучение овсяниц интересно как в прикладном, так

и в теоретическом аспектах. Некоторые виды рода овсяниц давно введены в культуру как кормовые и газонные растения. Другие виды могут быть использованы для закрепления подвижных субстратов (разбитых песков, придорожных насыпей) и восстановления на них растительного покрова. Немало видов являются эдификаторами степных, высокогорных и многих других растительных группировок, поэтому знание способа семенного размножения растений данного вида в популяциях необходимо для правильного планирования и ведения селекционно-генетических работ (Шишкинская, Юдакова, Тырнов, 2004).

По некоторым сведениям, для овсяницы характерна значительная внутривидовая вариабельность цитологических и эмбриологических показателей (Mariany et al., 2000; Шишкинская, Юдакова, 2001, 2003) и эмбриологические признаки апомиксиса, свидетельствующие о склонности растений данного вида к апомиктичному способу размножения (Шишкинская, Юдакова, Тырнов, 2004).

Целью настоящего исследования было выявление по состоянию мужской и женской генеративной сферы возможности апомиксиса у растений шестнадцати сортопопуляций и видообразцов *Festuca rubra*, а также популяций видов *F. pratensis* и *F. arunolinacea*.

Материал и методика

В качестве материала использовали растения популяций *F. pratensis*, *F. arunolinacea*, а также сортов и популяций *F. rubra*: 1) сортов *ssp. rubra* Areta, Выдубецкая славная, ГБС 202, Salaspils, Tamara, Frida, Свердловская, ГБС-202, Franklin, Jasper, Киевлянка, Vitori II, ГБС-116; 2) популяции *ssp. Arenaria*; 3) сорта *ssp. commutata* Bargreen; 4) популяции *ssp. rubra* из Татищевского р-на Саратовской области. Число исследованных растений каждой формы в выборке варьировало от 20 до 30. Соцветия фиксировали в период массового цветения ацетоалкоголем (1:3) перед выбрасыванием пыльников.

Для анализа пыльцы использовали методику приготовления временных глицерин-желатиновых препаратов, для изучения зародышевых мешков – методику ускоренного приготовления препаратов после мацерации (Куприянов, 1982) или просветления семязачатков (Негг, 1971). Для анализа брали пыльники нижних цветков из колосков, расположенных в центральной части соцветия. Пыльду окрашивали ацегокармином и заключали в глицерин-желатиновую смесь. Подсчет разных морфологических типов проводили в ходе анализа выборки из 300 пыльцевых зерен на микроскопе

МБИ-6. Структуру семязачатков и зародышевых мешков изучали под микроскопом Axiostar-plus (Karl Zeiss). В общей сложности было выделено и исследовано 1675 зародышевых мешков. Статистический анализ производили с использованием компьютерной программы Excel.

Результаты и их обсуждение

У растений исследованных сортов и популяций по степени дефектности пыльцу разделили на пять групп: 1) нормальные пыльцевые зерна (ПЗ), т.е. окрашенные, почти изометрической формы; 2) дефектные ПЗ, остановившиеся на ранних стадиях развития; 3) дефектные ПЗ с признаками плазмолиза; 4) дефектные ПЗ с дегенерирующим содержимым; 5) дефектные ПЗ полностью пустые.

Ранее (Куприянов, 1989) экспериментально установлено, что пороговым уровнем степени дефектности пыльцы (СДП), косвенно указывающим на возможность у образца апомиксиса, является СДП выше 11,7%. В пределах исследованных нами 18 сорто- и видообразцов *F. rubra*, *F. pratensis* и *F. arunolinacea* СДП варьировала в широких пределах (4,0–69,7%). При этом СДП, ниже пороговой величины 11,7%, отмечена у растений популяции *F. arunolinacea* и 6 сорто- и видообразцов *F. rubra*: сорта Salaspils, Выдубецкая славная, Areta, Jasper, Frida и видообразец *ssp. arenaria*. СДП, незначительно превышающая порог 11,7%, была обнаружена у 3 сортов: ГБС-116, ГБС-202 и Vitori II. Средний уровень СДП (23,5–39,2%) отмечен у растений *F. pratensis* и у 4 сортов *F. rubra*: Киевлянка, Tamara, Bargreen и Franklin. Наконец, высокая СДП (48,3–69,7%) обнаружена у растений сортов Ирбитская и Свердловская, а также видообразца, изъятая из популяции Татищевского района.

При этом среди дефектных в пыльниках растений фактически всех сорто- и видообразцов максимальную долю составляют дегенерирующие пыльцевые зёрна (табл. 1).

Максимальная доля растений с уровнем СДП выше 11,7% отмечена у растений *F. rubra*, а именно у сортообразцов Свердловская (96,7%), Ирбитская (84,6%), Bargreen (83,3%), а также в выборке растений из естественной популяции Татищевского района (92,3%). Высока доля таких растений была у видообразца *F. pratensis* (63,3%) и у *F. rubra* сортов Tamara, Franklin (61,5%), Киевлянка (59,2%) (табл. 2).

Таким образом, в результате проведенного исследования пыльцы *F. rubra*, *F. pratensis*, *F. arunolinacea* выявлено внутривидовое разнообразие растений в отношении СДП. Наличие растений с высоким уров-

Таблица 1. Качество пыльцы в сортопопуляциях и видообразцах *Festuca rubra*, *F. pratensis* и *F. arunolinacea*

№ п/п	Сортопопуляция или видообразец	Дефектные пыльцевые зерна, %				
		Всего	Остановившиеся в развитии	Плазмолитизированные	Дегенерирующие	Пустые
1	Salaspils	9,00 ± 0,96	2,38 ± 0,33	0,37 ± 0,07	4,35 ± 0,57	1,90 ± 0,30
2	Tamara	27,63 ± 2,74	3,58 ± 0,46	1,49 ± 0,25	20,60 ± 2,18	1,85 ± 0,21
3	ГБС-116	14,34 ± 1,85	1,9 ± 0,38	0,28 ± 0,09	10,97 ± 1,63	1,09 ± 0,21
4	ГБС-202	17,52 ± 2,52	2,18 ± 0,37	0,02 ± 0,02	14,69 ± 2,23	0,62 ± 0,10
5	Выдубецкая славная	4,19 ± 0,76	0,43 ± 0,10	0	3,38 ± 0,64	0,38 ± 0,08
6	Arcta	4,03 ± 0,45	0,91 ± 0,15	0,09 ± 0,04	2,06 ± 0,30	0,98 ± 0,17
7	Vitori II	13,81 ± 1,18	3,97 ± 0,42	1,61 ± 0,28	6,77 ± 0,68	1,44 ± 0,14
8	ssp. arenaria	7,35 ± 0,76	2,02 ± 0,20	0,37 ± 0,07	3,06 ± 0,33	1,96 ± 0,39
9	Свердловская	69,74 ± 2,65	14,90 ± 0,94	2,32 ± 0,28	51,62 ± 1,89	0,90 ± 0,12
10	Jasper	8,32 ± 0,67	1,80 ± 0,23	0,71 ± 0,11	4,85 ± 0,41	0,95 ± 0,37
11	ssp. rubra	65,93 ± 3,07	11,33 ± 0,90	1,00 ± 0,19	53,25 ± 2,49	0,37 ± 0,08
12	Bargreen	33,60 ± 2,65	4,61 ± 0,34	0,74 ± 0,13	27,87 ± 2,37	0,96 ± 0,16
13	Franklin	39,21 ± 3,69	5,24 ± 0,62	1,30 ± 0,23	31,85 ± 3,16	1,34 ± 0,22
14	Киевлянка	23,48 ± 2,97	4,17 ± 0,67	0,74 ± 0,16	16,25 ± 2,36	2,30 ± 0,45
15	Ирбитская	48,34 ± 4,34	7,91 ± 0,94	2,03 ± 0,37	37,24 ± 3,63	1,17 ± 0,17
16	Frida	11,45 ± 1,24	2,58 ± 0,25	1,92 ± 0,37	6,98 ± 0,84	0,00 ± 0,00
17	<i>F. pratensis</i>	21,94 ± 2,00	1,57 ± 0,32	0,92 ± 0,14	8,65 ± 1,05	10,78 ± 2,08
18	<i>F. arunolinacea</i>	4,42 ± 0,31	0,24 ± 0,07	0,07 ± 0,02	3,56 ± 0,29	0,53 ± 0,11

нем дефектности, то есть растений с частотой аномалий выше 11,7%, отмечено практически у всех сорто- и видообразцов. Самыми «высокодефектными» оказались сорт Свердловская и выборка из естественной популяции Татишевского района *F. rubra*. Усредненные показатели дефектности пыльцы для каждого сорта и вида, представленные в табл. 1, могут служить их популяционными характеристиками.

Для исследования состояния женской генеративной сферы были выбраны растения популяций *F. pratensis*, *F. arunolinacea* и шести сорто- и видообразцов *F. rubra*, контрастных по признаку качества пыльцы. Из 1675 выделенных и исследованных зародышевых мешков около половины (836 ЗМ) оказались зрелыми, дифференцированными. Но лишь около одной трети из них (270 ЗМ) имели типичное строение, соответствующее *Polygonum*-типу.

Таблица 2. Доля растений с высокой степенью дефектности пыльцы в исследованных сорто- и видообразцах *Festuca rubra*, *F. pratensis* и *F. arunolinacea*

№	Сортопопуляция или видообразец	Исследовано растений, шт.	Из них с СДП более 11,7%	
			шт.	%
1	Salaspils	20	4	20,0
2	Tamara	26	16	61,5
3	ГБС-116	30	9	30,0
4	ГБС-202	29	9	31,0
5	Выдубецкая славная	30	1	3,3
6	Areta	29	9	31,0
7	Vitory II	30	11	36,7
8	ssp. arenaria	30	5	16,7
9	Свердловская	30	29	96,7
10	Jasper	30	5	16,7
11	ssp. rubra	26	24	92,3
12	Bargreen	30	25	83,3
13	Franklin	26	16	61,5
14	Киевлянка	27	16	59,2
15	Ирбитская	26	22	84,6
16	Frida	30	10	33,3
17	<i>F. pratensis</i>	30	19	63,3
18	<i>F. arunolinacea</i>	30	0	0

Небольшой процент у четырех сортообразцов *F. rubra* (Tamara – 1,6, Salaspils – 0,8; Ирбитская – 6,5; Свердловская – 8,4%), а также у *F. arunolinacea* (4,0%) и *F. pratensis* (7,4%) составляли зародышевые мешки с признаками дегенерации или полностью дегенерирующие. Несколько выше доля дегенерирующих зародышевых мешков отмечена у образца *F. rubra* сорта Areta (18,0%) и у видообразца *ssp. rubra* из естественной популяции Татищевского района (11,4%) (см. табл. 3).

Существенную долю у растений *F. rubra* двух сортов (Ирбитская – 26,9, Свердловская – 23,8%) и у видообразца *ssp. rubra* из Татищевского района (19,5%) составили зародышевые мешки с признаками, которые косвенно указывают на возможность апомиксиса. Более низкий процент подобных зародышевых мешков выявлен у растений видообразца *F. pratensis* (9,2%). В мегагаметофите таких растений отмечались различные отклонения от типичного строения: наличие двух яйцеклеток, двуйдерной яйцеклетки, яйцеклетки с двумя и более ядрышками в ядре или нарушение поляризации зародышевого мешка на ранних стадиях развития.

Таблица 3. Состояние мегагаметофита у растений исследованных сорто- и видообразцов *Festuca rubra*, *F. pratensis* и *F. arunolinacea*

Состояние ЗМ		Доля у сорто- или видообразца, %							
		<i>F. rubra</i>						<i>F. pratensis</i>	<i>F. arunolinacea</i>
		Тамара	Salaspils	Areta	<i>ssp. rubra</i>	Ирбитская	Свердловская		
Зрелые		51,3	66,4	89,0	65,3	59,0	72,5	28,1	4,0
Типичного строения		16,3	13,6	4,0	28,8	21,1	38,1	10,2	-
Дегенерирующие		1,6	0,8	18,0	11,4	6,5	8,4	7,4	4,0
Нетипичного строения	Яйцеклетка с двумя и более ядрами	-	-	-	4,2	9,2	9,5	2,8	-
	Яйцеклетка с двумя и более ядрышками	13,9	27,2	32,7	13,5	13,4	13,2	6,5	-
	Яйцеклетка зиготоподобная	9,0	12,0	30,3	1,6	3,1	1,1	-	-
	С двумя яйцеклетками	-	-	-	1,6	-	-	-	-
	С тремя и более полярными ядрами	2,4	2,4	0,8	1,6	2,3	-	0,3	-
С развитием	Прозембрио	4,9	8,8	2,4	-	-	-	0,3	-
	Эндосперма	-	1,6	-	-	-	-	-	-
	Обеих структур	3,2	-	0,8	-	-	-	0,6	-
Аспорические	Два ЗМ в 1 семязачатке	-	-	-	0,4	3,8	1,1	-	-
	Инициаль + зрелый ЗМ	-	-	-	3,8	1,9	1,1	0,3	-
	Инициаль + мегаспора	-	-	-	-	8,1	1,1	2,1	0,3
	Инициаль + мегаспоры	-	-	-	-	-	-	0,6	0,3

У растений трёх сортов *F. rubra* были отмечены мегагаметофиты с развитием проэмбрио (Тамара – 4,9; Salaspils – 8,8; Areta – 2,4%), эндосперма (Salaspils – 1,6%) или обеих структур (Тамара – 3,2; Areta – 0,8%) без оплодотворения (см. табл. 3).

Семязачатки с развитием аспорических инициалей отмечены у растений *F. rubra* сортов Ирбитская (13,8%) и Свердловская (3,1%), у видообразца *ssp. rubra* из естественной популяции Татишевского района (4,2%), а также у *F. pratensis* (3,1%) и *F. arunolinacea* (1,3%). При этом наблюдали: а) одновременное развитие двух зародышевых мешков, один из которых имел зуспорическую, а второй – аспорическую природу; б) на-

личие апоспорической инициальной клетки в присутствии материнской клетки мегаспор, тетрады мегаспор, одно-, дву- или четырёхядерного зародышевого мешка эуспорической природы; в) наличие апоспорических инициальных клеток в присутствии зрелых, дифференцированных зародышевых мешков.

Таким образом, из 8 исследованных в отношении состояния женской генеративной сферы сорто- и видообразцов трёх видов *Festuca* наибольшую склонность к гаметофитному апомиксису проявляют растения *F. rubra* сортов Ирбитская, Salaspils и Tamara, более слабую – растения *F. rubra* сортов Свердловская, Salaspils, Areta, популяции *F. rubra ssp. rubra* из Татищевского района, *F. pratensis* и *F. arunolinacea*. В целом у исследованных сорто- и видообразцов наблюдается корреляция между степенью дефектности пыльцы и склонностью к гаметофитному апомиксису.

Библиографический список

- Курриянов П.Г. Способ приготовления препаратов зародышевых мешков // Бюл. изобр. 1982. А.с. №919636. С. 7–14.
- Курриянов П.Г. Диагностика систем семенного размножения в популяциях цветковых растений. Саратов, 1989. 160 с.
- Петров Д.Ф. Генетические основы апомиксиса. Новосибирск, 1979. 280 с.
- Хохлов С.С. Апомиксис: Классификация и распространение у покрытосеменных растений // Успехи современной генетики. М., 1967. Вып. 1. С. 43–105.
- Шишкинская Н.А., Юдакова О.И. Репродуктивная биология дикорастущих злаков // Изв. Сарат. ун-та. Сер. Биол. 2001. С. 166–176.
- Шишкинская Н.А., Юдакова О.И. Новый подход к использованию анормологического метода для диагностики апомиксиса у злаков // Бюл. Бот. сада. Саратов, 2003. Вып. 2. С. 221–228.
- Шишкинская Н.А., Юдакова О.И., Тьрнов В.С. Популяционная эмбриология и апомиксис у злаков. Саратов, 2004. 148 с.
- Grossniklaus U., Nogler G.A., van Dijk P.J. How to Avoid Sex: The genetic control of gametophytic apomixis // Plant Cell. 2001. Vol. 13. P. 1491–1498.
- Herr J.M. A new clearing-squash technique for the study of ovule development in angiosperms // Amer. J. Bot. 1971. Vol. 58. P. 785–790.
- Kindiger B., Dewald C.L. A system for genetic change in apomictic eastern grass // Crop Sci. 1996. Vol. 36. P. 250–255.
- Mariani A., Roscini C., Basili F. et al. Cytogenetic study of forage grasses and legumes // Legumes for Mediterranean forage crops, pastures and alternative uses = Legumineuses pour cultures fourragères, paturages et autres usages en region mediterraneenne. Zaragoza: CIHEAM-IAMZ, 2000. P. 79–83.
- Savidan Y.H. Les promesses de l'apomixis // ORSTOM Actual. 1995. № 47. P. 2–7.

Savidan Y.H. Transfer of apomixes through wide crosses // The Flowering of Apomixis: From Mechanisms to Genetic Engineering. Mexico, 2001. P. 153–167.

3rd Int. Apomixis Conf. Abstr. Wernigerode, Germany, 22 June – 1 July, 2007. Wernigerode, 2007. 132 p.

Vielle Calzada J.-Ph., Crane Ch.F., Stelly D.M. Apomixis: the asexual revolution // Science. 1996. Vol. 274, № 5291. P. 1322–1323.

УДК 576.316.7

ИССЛЕДОВАНИЕ КАРИОТИПА *Iris Pumila* L.

Э.А. Муратова, Н.А. Калашник

Ботанический сад-институт Уфимского научного центра РАН
450080, Уфа, Полярная, 8
e-mail: elvira-murka@yandex.ru

Iris pumila L. (Ирис низкий) – короткокорневищный вегетативно малоподвижный травянистый многолетник. В Ботанический сад-институт УНЦ РАН был перенесен из дикой природы Республики Башкортостан и Оренбургской области.

Целью данной работы является проведение кариологических исследований *Iris pumila*.

Кариологическое исследование этого вида указывает на наличие разнохромосомного диплоидного набора. По некоторым литературным данным, соматическое число хромосом *I. pumila* равно 36 (Simonet, 1934; Чеботарь и др., 1977). Согласно другому источнику (Числа хромосом..., 1990) у данного вида насчитывается 30 хромосом.

Считается, что основой эволюции дикорастущих видов ириса была аллополиплоидия наряду с анеуполиплоидией и хромосомными перестройками (Матвеева, 1980). Так, например, в результате гибридизации диплоидного вида *I. attica* ($2n=16$) с диплоидным же *I. pseudopumila* ($2n=16$) возник тетраплоидный вид *I. pumila* ($2n=32$), являющийся амфидиплоидом (Randolph, Mitra, 1959). Такое же число хромосом у исследуемого вида ($2n=32$) выявлено Kohlein (Kohlein, 1981). Также на результатах цитогенетического анализа *I. pumila* ($2n=30, 31+f, 32, 36$) хорошо показана роль анеуплоидии и хромосомных перестроек в эволюции различных таксонов *Iris* (Randolph, Mitra, 1959).