

УДК 581.331.2 + 582.542.1

ИССЛЕДОВАНИЯ КАЧЕСТВА ПЫЛЬЦЫ У *FESTUCA RUBRA* L.,
F. PRATENSIS HUDS., *F. ARUNDINACEA* SCHREB., *F. POLESICA* ZAPAL.,
F. VALESII GAUND И *F. RUPICOLA* HEUFF.

А.Х. Миндубаева, А.М. Меренов, А.С. Кашин

Саратовский государственный университет им. Н. Г. Чернышевского,
410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83; e-mail: kashinas@sgu.ru

Явление апомиксиса – образования семян у растений без оплодотворения – давно пользуется повышенным вниманием исследователей. Несмотря на более чем 100-летнюю историю изучения апомиксиса, вопросы о широте и степени распространения этого явления у покрытосеменных растений и о перспективе создания стабильно апомиктичных форм важнейших культурных растений остаются открытыми. Размножающиеся апомиктично растения обнаружены у представителей многих семейств и, прежде всего, у наиболее эволюционно продвинутых Poaceae и Asteraceae. Известно, что такие растения дают более однородное 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; Asker, 1979; Kindiger et al., 1996; Grossniklaus et al., 2001; 3rd International..., 2007).

Исследование биологии злаков, в частности, особенностей их семенного 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).

Целью настоящего исследования было выявление по состоянию мужской генеративной сферы вероятности апомиксиса у растений ряда видов овсяниц (*Festuca* L.) семейства Poaceae. Изучение видов этого рода интересно как в прикладном, так и теоретическом аспектах. Некоторые виды

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 в популяциях этих видов необходимо для правильного планирования и ведения селекционно-генетических работ (Шишкинская и др., 2004).

По некоторым сведениям для овсяниц 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 рода к апомиктичному способу размножения (Шишкинская, Бородько, 1987; Шишкинская и др., 2004; Кашин и др., 2008). В списке С.С. Хохлова с соавт. (1978) в качестве апомиктичных указано три вида рода, а именно *F. arundinacea*, *F. pratensis* и *F. rubra*. Для них указана нерегулярная форма апомиксиса – споровая апозиготия.

Материал и методика

В качестве материала использовали растения естественных популяций *F. pratensis* Huds. (325)² и *F. valesiaca* Gaud. (408) из Краснокутского района (Крк) Саратовской области, *F. pratensis* из Аткарского района (Атк) Саратовской области и из Ростовской области (426 РСт), *F. arundinacea* Schreb. (327) и *F. rubra* L. (330) из Озинского района (Оз) Саратовской области, *F. polesica* Zapal. из Волгоградской области (427 ВЛг), *F. valesiaca* (413) из Воскресенского района (ВСк), *F. valesiaca* (457) и *F. rupicola* Neuff. (458) из Ал.-Гайского района (АлГ), *F. rupicola* (474) и *F. rubra ssp. rubra* из Татищевского района (Тат) Саратовской области, а также сортов и популяций *F. rubra*, выращенных на территории Ботанического сада СГУ: 1) сортов *ssp. rubra* Areta, Выдубецкая славная, ГБС 202, Salaspils, Tamara, Frida, Свердловская, ГБС-202, Franklin, Jasper, Киевлянка, Vitori II, ГБС-116, 2) сортопопуляции *ssp. arenaria*, 3) сорта *ssp. commutata* Bargreen. Выбор объектов исследования производили случайным образом. Число исследованных растений каждой формы в выборке варьировало от 15 до 30. Соцветия фиксировали ацетоалкоголем (1 : 3) в период массового цветения на стадии перед выбрасыванием пыльников. Часть сорто- и видопопуляций исследовали в течение 2-х лет.

¹ Здесь и далее при упоминании популяций в скобках даны их условные номера по полевому журналу и сокращение названия района или региона.

Для анализа пыльцы использовали методику приготовления временных глицерин-желатиновых препаратов. Брели 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 на микроскопе Axiostar-plus (Karl Zeiss). 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 (Крайнов и др., 2005).

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 30 сорто- и видообразцов *F. rubra*, *F. pratensis*, *F. arundinacea*, *F. polesica*, *F. valesiaca* и *F. rupicola* СДП в 2006–2007 гг. варьировала в широких пределах (3,7–69,7%). При этом СДП, ниже пороговой величины 11,7%, отмечена у растений популяции *F. rubra* (330 Оз), *F. arundinacea* (327 Оз), *F. pratensis* (Атк), *F. rupicola* (458 АлГ) 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 *F. rubra*: ГБС 116, ГБС 202 и Vitorgi II; и 4 видов: *F. pratensis* (426 РСт), *F. polesica* (427 ВЛг), *F. valesiaca* (457 АлГ) и *F. rupicola* (474 Тат). Средний уровень СДП (21,9–39,2%) отмечен у растений *F. pratensis* (325 КрК), *F. valesiaca* (413 ВСк) и у 4 сортов *F. rubra*: Киевлянка, Tamara, Bargreen и Franklin. Наконец, высокая СДП (48,3–69,7%) обнаружена у растений *F. rubra* сортов Ирбитская и Свердловская, а также у видообразца, изъятая из популяции Татищевского района (табл. 1).

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

При сравнительном исследовании СДП в одних и тех же популяциях в течение двух лет выявлено отсутствие достоверных различий в популяциях *F. valesiaca* (413 ВСк) (около 40%) и *F. pratensis* (426 РСт) (около

Таблица 1. Качество пыльцы в сортопопуляциях и видеобразцах *Festuca L.* в 2006–2007 гг.

№ п/п	Сортопопуляция или видеобразец	Дефектные пыльцевые зерна, %				
		всего	остановившиеся в развитии	плазмолизированные	дегенерирующие	пустые
2006 г.						
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	1,90 ± 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	Areta	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
330	<i>rubra</i> (Оз)	3,71 ± 0,41	0,33 ± 0,12	0,14 ± 0,04	2,40 ± 0,31	0,83 ± 0,11
	<i>pratensis</i> (Атк)	9,86 ± 0,75	0,97 ± 0,17	3,64 ± 0,61	4,92 ± 0,53	0,32 ± 0,07
325	<i>pratensis</i> (Крк)	21,94 ± 2,00	1,57 ± 0,32	0,92 ± 0,14	8,65 ± 1,05	10,78 ± 2,08
327	<i>Arundinacea</i> (Оз)	4,42 ± 0,31	0,24 ± 0,07	0,07 ± 0,02	3,56 ± 0,29	0,53 ± 0,11
2007 г.						
413	<i>valesiaca</i> (ВСК)	38,84 ± 3,00	1,15 ± 0,25	0,34 ± 0,09	34,32 ± 2,94	3,03 ± 1,25
426	<i>pratensis</i> (РСТ)	14,17 ± 2,18	1,49 ± 0,47	0,18 ± 0,05	3,29 ± 0,50	9,25 ± 2,29
427	<i>polesica</i> (ВЛГ)	13,30 ± 1,29	0,68 ± 0,16	4,43 ± 0,47	8,07 ± 1,06	0,17 ± 0,05
457	<i>valesiaca</i> (АлГ)	14,45 ± 1,97	3,31 ± 0,68	1,01 ± 0,20	7,92 ± 0,99	2,18 ± 0,45
458	<i>rupicola</i> (АлГ)	6,33 ± 0,43	1,88 ± 0,23	0,40 ± 0,08	2,98 ± 0,27	1,09 ± 0,12
474	<i>rupicola</i> (Тат)	14,83 ± 1,47	1,14 ± 0,19	0,42 ± 0,09	8,64 ± 0,97	4,58 ± 0,83

13%). В то же время в другой популяции *F. valesiaca* (457) из Ал.-Гайского района СДП в 2008 г. была достоверно ниже, чем в 2007 г. (7,51 ± 0,67 и 14,45 ± 1,97%, соответственно), а в популяции *F. polesica* (427 ВЛг), непро-

тив, в 2008 г. СДП была выше в пять раз по сравнению с 2007 г. ($67,21 \pm 1,90$ и $13,30 \pm 1,29\%$ соответственно). При этом среди дефектных в пыльниках растений всех 4 видообразцов максимальную долю также составили дегенерирующие пыльцевые зёрна (табл. 2). Таким образом, одни популяции, причём как с высоким уровнем СДП (*F. valesiaca* (413 ВСк)), так и с уровнем СДП, близким к пограничной величине (*F. pratensis* (426 РСт)) демонстрировали стабильный уровень дефектности пыльцы, а другие – значительную динамику этого показателя по годам.

Таблица 2. Качество пыльцы у растений *F. valesiaca*, *F. pratensis* и *F. Polesica* в 2008 г.

№ популяции	Сортопопуляция или видообразец	Дефектные пыльцевые зёрна, %				
		всего	остановившиеся в развитии	плазмолитизированные	дегенерирующие	пустые
413	<i>valesiaca</i> (ВСк)	$39,70 \pm 1,64$	$1,83 \pm 0,26$	$2,14 \pm 0,21$	$29,80 \pm 1,30$	$6,33 \pm 0,38$
426	<i>pratensis</i> (РСт)	$12,82 \pm 2,35$	$1,73 \pm 0,44$	$1,47 \pm 0,34$	$6,44 \pm 1,94$	$3,33 \pm 0,44$
427	<i>polesica</i> (ВЛГ)	$67,21 \pm 1,90$	$1,44 \pm 0,35$	$0,18 \pm 0,03$	$61,73 \pm 2,01$	$3,76 \pm 0,84$
457	<i>valesiaca</i> (АлГ)	$7,51 \pm 0,67$	$0,88 \pm 0,12$	$0,15 \pm 0,07$	$6,06 \pm 0,55$	$0,37 \pm 0,09$

Максимальная доля растений с уровнем СДП выше 11,7% в 2006–2007 гг. отмечена у растений *F. valesiaca* (413) из Воскресенского района (100%), *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* (325 КрК) (63,3%), *F. pratensis* (426 РСт) (46,6%), *F. polesica* (427 ВЛг) (50,0%), *F. valesiaca* (457 АлГ) (53,3%), *F. rupicola* (474 Тат) (63,3%) и у *F. rubra* сортов Tamara, Franklin (61,5%), Киевлянка (59,2%) (табл. 3).

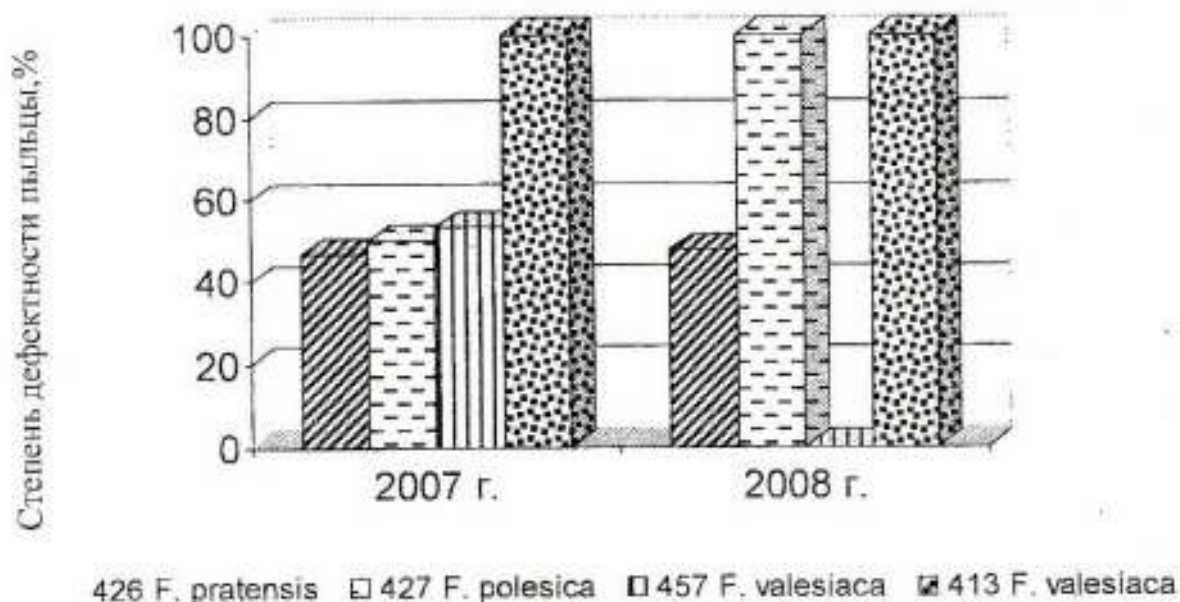
В 2008 г. среди исследованных в течение двух лет 4 видов доля растений с уровнем СДП выше 11,7% оставалась практически неизменной у видообразца *F. pratensis* (426 РСт) – 47,61%, а также у *F. valesiaca* (413 ВСк) – 100%. В то время как у *F. polesica* (427 ВЛг) этот показатель в 2008 г. увеличился в 2 раза (с 50,0% до 100%), а у *F. valesiaca* (457 АлГ) растения с уровнем СДП выше 11,7% вообще не обнаружены, в то время как в 2007 г. доля таких растений составила 53,3% (рисунок).

Таким образом, в результате проведенного исследования *F. rubra*, *F. pratensis*, *F. arundinacea*, *F. polesica*, *F. valesiaca* и *F. rupicola* выявлена значительная внутривидовая и межвидовая изменчивость по СДП. Наличие растений с высоким уровнем дефектности, то есть растений с частотой аномалий выше 11,7%, отмечено практически у всех сорто- и видо-

Таблица 3. Доля растений с высокой степенью дефектности пыльцы в исследованных сорто- и видообразцах *Festuca L.* в 2006–2007 гг.

№	Сортопопуляция или видообразец	Исследовано растений, шт.	Из них с СДП более 11,7%	
			шт.	%
2006 г.				
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	<i>ssp. arenaria</i>	30	5	16,7
9	Свердловская	30	29	96,7
10	Jasper	30	5	16,7
11	<i>ssp. rubra</i>	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
330	<i>F. rubra</i> (Оз)	30	1	0,33
	<i>F. pratensis</i> (Атк)	30	9	30,0
325	<i>F. pratensis</i> (Крк)	30	19	63,3
327	<i>F. arundinacea</i> (Оз)	30	0	0
2007 г.				
413	<i>F. valesiaca</i> (ВСК)	30	30	100
426	<i>F. pratensis</i> (РСт)	30	14	46,6
427	<i>F. polesica</i> (ВЛГ)	28	14	50,0
457	<i>F. valesiaca</i> (АлГ)	30	16	53,3
458	<i>F. rupicola</i> (АлГ)	30	1	3,33
474	<i>F. rupicola</i> (Тат)	30	19	63,3

образцов, за исключением *F. arundinacea* (327 Оз) и *F. valesiaca* (457 АлГ). Самыми «высокодефектными» по пыльце оказались видообразцы *F. valesiaca* (413 ВСК), *F. polesica* (427 ВЛГ), *F. rubra* (Тат) и *F. pratensis* (325 Крк). Минимальная дефектность пыльцы отмечена у *F. rubra* (330 Оз), *F. arundinacea* (327 Оз), *F. rupicola* (458 АлГ). Среди сортов *F. rubra* «высокодефектными» по пыльце оказались сорта *ssp. rubra* Свердловская, Ирбитская и *ssp. commutata* Bargreen, высока была доля таких растений и у сортов Та-



Изменчивость доли растений с высокой степенью дефектности пыльцы в популяциях некоторых видов *Festuca* L. по годам

para, Franklin и Ирбитская, а наименее дефектными по пыльце оказались сорта *ssp. rubra* Ageta и Выдубецкая славная. Усредненные показатели дефектности пыльцы для каждого сорта и вида, представленные в табл. 1, могут служить их популяционными характеристиками.

Полученные нами данные в значительной степени совпадают с известными в литературе сведениями о внутривидовой изменчивости генеративных признаков *F. rubra* L. и указывают на склонность растений данного и других видов рода *Festuca* к апомиктичному размножению. Особый интерес представляет обнаружение в исследованных растениях образцов с контрастным проявлением признака «СДП», открывающее перспективы дальнейшего комплексного исследования этих форм в связи с проблемой апомиксиса и его генетических предпосылок.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 08-00-00319).

Список литературы

Кашин А.С., Миндубаева А.Х., Шакина Т.Н. Исследования микро- и мегагаметофита у некоторых сорто- и видообразцов *Festuca rubra* L., *F. pratensis* Huds. и *F. arundinaceae* Schreb. // Современные проблемы морфологии и репродуктивной биологии семенных растений. Ульяновск, 2008. С.44–49.

Крайнов К.Е., Миндубаева А.Х., Еналеева Н.Х. Исследование качества пыльцы у некоторых сортов овсяницы красной в условиях г. Саратова // Бюл. Бот. сада Сарат. гос. ун-та. 2005. Вып.4. С.221–228.

- Куприянов П.Г.* Способ приготовления препаратов зародышевых мешков // Бюл. изобр. 1982. №14 (А.с. № 919636). С.7.
- Куприянов 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. 1967. Вып.1. С.43–105.
- Хохлов С.С., Зайцева М.И., Куприянов П.Г.* Выявление апомиктичных растений во флоре цветковых растений СССР. Саратов, 1978. 224 с.
- Шишкинская Н.А., Бородько А.В.* Об апомиксисе у овсяницы горной (*Festuca drymeja* Mert. et Koch) // Докл. высш. школы. Биол. науки. 1987. №1. С.84–89.
- Шишкинская Н.А., Юдакова О.И.* Репродуктивная биология дикорастущих злаков // Изв. Сарат. ун-та. Сер. Биол. Саратов, 2001. С.166–176.
- Шишкинская Н.А., Юдакова О.И.* Новый подход к использованию антоморфологического метода для диагностики апомиксиса у злаков // Бюл. Бот. сада Сарат. гос. ун-та. 2003. Вып.2. С.180–187.
- Шишкинская Н.А., Юдакова О.И., Тырнов В.С.* Популяционная эмбриология и апомиксис у злаков. Саратов, 2004. 148 с.
- Asker S.* Progress in apomixes research // Hereditas. 1979. Bd.91, №2. P.231–240.
- Grossniklaus U., Nogler G.A., Dijk P.J. van.* 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 gamagrass // 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 = Légumineuses pour cultures fourragères, pâturages et autres usages en région méditerranéenne. 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: CIMMYT, IRS, Eur. Comm. 2001. P.153–167.
- 3rd Intern. 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.