

УДК 581.16 + 582.998

ЦИТОЭМБРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЧАСТОТЫ АПОМИКСИСА В
ПОПУЛЯЦИЯХ *CHONDRILLA JUNCEA* L. И *CH. GRAMINEA* VIEB.

Н.В. Добрыничева, И.С. Кочанова, А.С. Каплин

Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского

Виды рода *Chondrilla* редко попадают в поле зрения исследователей, занимающихся проблемами апомиксиса или систем размножения у растений. Между тем известные литературные данные по вопросам семенного размножения видов страдают противоречивостью. Так, одни авторы считают, что род представлен исключительно апомиктичными видами (Ильин, 1930), другие все диплоидные виды рода относят к размножающимся половым путём, а все полиплоидные — к апомиктичным (Bergman, 1952; Поддубная-Арнольди, 1976). Однако из примерно тридцати видов рода таких диплоидных видов выявлено два: *C. ambigua* Fisch. и *C. chondrilloides* Fisch. (Poddubnaja-Arnoldy, 1933; Bergman, 1952), 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 с соавт., 1978).

В связи с этим исследование системы семенного размножения видов родового агамного комплекса *Chondrilla* представляет интерес, по крайней мере, по двум причинам.

Во-первых, это связано с изучением путей эволюции агамных комплексов у цветковых, которую обычно представляют в виде последовательной смены ряда стадий развития от юности к старости. Считается, что на стадии юности комплексе содержит морфологические вариации, группирующиеся в относительно малое число таксономических видов, обитающих в ограниченной географической провинции, при обязательном наличии половых предковых видов с большим ареалом распространения. Зрелый агамный комплекс содержит сотни или тысячи агамоспермных микровидов, распространенных по обширной географической области. Зрелые комплексы подразделяют на комплексы ранней стадии зрелости, у которых сохранились многие или большая часть диплоидных предковых видов, и комплексы поздней стадии зрелости, у которых многие или большинство диплоидных и полиплоидных половых предковых видов вымерло, но агамоспермная структура достигает полного развития. Считается, что старый агамный комплекс обеднен не только половыми диплоидами и половыми полиплоидами, но и числом агамоспермных микровидов. В таксономическом аспекте он представляется изолированным агамоспермным видом, не имеющим известных половых родичей (Графт, 1984).

Исходя из вышеизложенных принципиально важно определить имеются ли в пределах рода *Chondrilla* половые виды или нет. Ибо, если таковые отсутствуют, то определить стадию развития агамного комплекса *Chondrilla* не

представляется возможным. Род имеет достаточно сложную таксономическую структуру, насчитывая в своём составе около тридцати видов, объединяемых в два подрода с четырьмя секциями. Географически он широко распространён, - по крайней мере, во всех степных и пустынных районах Евразии и Северной Африки. Большая часть видов рода имеет обширные ареалы (Леонова, 1964; 1989). Следовательно, агамный комплекс *Chondrilla* нельзя считать находящимся на ранней стадии развития уже из-за обширности ареалов апомиктических видов. Если в нём действительно нет половых видов, то его нельзя считать и находящимся на стадии ранней зрелости. Для отнесения к стадии поздней зрелости агамный комплекс явно недостаточно сложен в таксономическом отношении. Отнесению к стадии стареющего, вымирающего агамного комплекса мешает обширное географическое распространение, да и для стареющего комплекса он слишком таксономически сложен. Проблему ещё более усложняет то, что ряд авторов вообще включают виды *Chondrilla* в состав сложного агамного комплекса *Taraxacum* (Nijssen, Sterk, 1980; Nogler, 1984) или считают общим происхождение диплоспории в этих родах как результата либо происхождения этих родов от общего предка, либо гибридизации между видами двух родов (Dijk van, 2003). Филогенетически эти два рода действительно находятся в тесном родстве (Bremer, 1994), хотя имеют разное основное число хромосом (в роде *Taraxacum* $n = 8$, а в роде *Chondrilla* $n = 5$), а случаев гибридизации между растениями двух родов не отмечено (Dijk van, 2003). К тому же морфотипы растений того и другого рода сильно различны.

Вторая причина, по которой изучение системы семенного размножения видов рода *Chondrilla* привлекает внимание, связана с неоднозначностью понимания таксономической структуры рода разными авторами. Так, например, в отношении таксономического ранга *C. juncea* L., *C. graminea* Bieb. и *C. canescens* Kat. et Kir. нет единодушного мнения. Одни авторы рассматривают их как самостоятельные виды (Маевский, 1940; Леонова, 1964; 1989; Определитель..., 1984; Губанов и др., 1992), другие объединяют в один вид *C. juncea* L. (Ильин, 1930; Еленевский и др., 2001). Наши наблюдения показывают, что, по крайней мере, на территории Саратовской и Волгоградской областей все три вида или формы *C. juncea* L., *C. graminea* Bieb. и *C. canescens* Kat. et Kir. сосуществуют в виде смешанных популяций. Правда, *C. graminea* обнаруживается фактически в местах обитания любой популяции *C. juncea*, в то время как растения *C. canescens* встречаются в местах обитания популяций *C. juncea* только в южных районах Саратовского Заволжья и в Волгоградской области. Однако, это может быть связано исключительно с тем, что ареал *C. canescens* ограничен с севера именно этими районами. Не исключено, что подобного рода картина свойственна и для других видов рода. Эмбриологическое изучение может дать дополнительные сведения о степени таксономического родства форм рода *Chondrilla*, а в совокупности с изучением характера семенной продуктивности при различных режимах цветения пролить свет на причины столь трудной в интерпретации таксономической структуры. Но системы семенного размножения видов рода в целом исследованы явно

недостаточно. Довольно фрагментарные сведения по эмбриологии в литературе приведены, например, лишь по 11 видам *Chondrilla* (Сравнительная..., 1987). Поэтому любые дополнительные исследования системы семенного размножения видов рода заслуживают внимания.

Целью нашего исследования являлось сравнительное изучение частоты апомиксиса в популяциях *S. juncea* и *S. graminea* по признакам развития мегagamетофита без оплодотворения. Часть данных нами уже была опубликована ранее (Добрыничева и др., 2003).

Материал и методика

Цитозембриологическое изучение частоты апомиксиса осуществляли в 3-х популяциях *S. juncea*, одна из которых произрастает в черте г. Саратова (гора Лысая), вторая - в окрестностях с. Дьяковка, Краснокутского района, третья - в окрестностях с. Алексеевка, Базарно-Карабулакского района Саратовской области, и в 2-х популяциях *S. graminea*, занимающих те же места обитания в окрестностях с. Дьяковка и в черте г. Саратова. Каждая из популяций вне г. Саратова находится на расстоянии более 100 км в северо-восточном (Базарно-Карабулакский р-н) или юго-восточном (Краснокутский р-н) направлениях. (рис. 1). По каждой популяции исследовано в среднем по 30 растений, отобранных случайным образом в полевые сезоны 1999, 2003 и 2004 гг на расстоянии 15-25 м друг от друга. Видовая принадлежность растений по гербарным образцам определена профессором кафедры ботаники и экологии Саратовского госуниверситета им. Н.Г. Чернышевского (СГУ), д.б.н. М.А. Березуцким.

Соцветия для цитозембриологического анализа за 1-3 суток до цветения (раскрытия бутона) краевых цветков фиксировали в фиксаторе Кларка (3 части 96%-ного этанола: 1 часть ледяной уксусной кислоты). Препараты зародышевых мешков готовили с использованием микропрепаровательных игл после мацерации цитазой (Куприянов, 1982). Материал предварительно окрашивали 2%-ным ацетокармином в течение 4-6 часов. Частоту апомиксиса определяли по частоте встречаемости зародышевых мешков с признаками развития зародыша и (или) эндосперма без оплодотворения. В среднем по каждой популяции исследовано по 120 зародышевых мешков.

Результаты и их обсуждение

В популяциях *S. juncea* частота встречаемости зародышевых мешков с признаками апомиктического развития не опускалась ниже $17,45 \pm 5,18$ % и по большинству лет наблюдения достоверно не различалась. Исключением являются только популяция, обитающая в черте г. Саратова, где в 2004 г. она была в 2 раза выше ($51,78 \pm 12,02$ %). При этом, в большинстве популяций на момент исследования чаще всего наблюдалась преждевременная эмбриония без индукции к развитию центральной клетки зародышевого мешка (в 60 - 86% от общего числа зародышевых мешков с признаками апомиктического развития). Исключением является всё та же популяция, обитающая в черте г. Саратова, в которой в 2004 году преждевременная эмбриония без признаков развития

центральной клетки отмечена лишь у 1/3 от общего числа зародышевых мешков с признаками апомиктического развития (табл. 1).

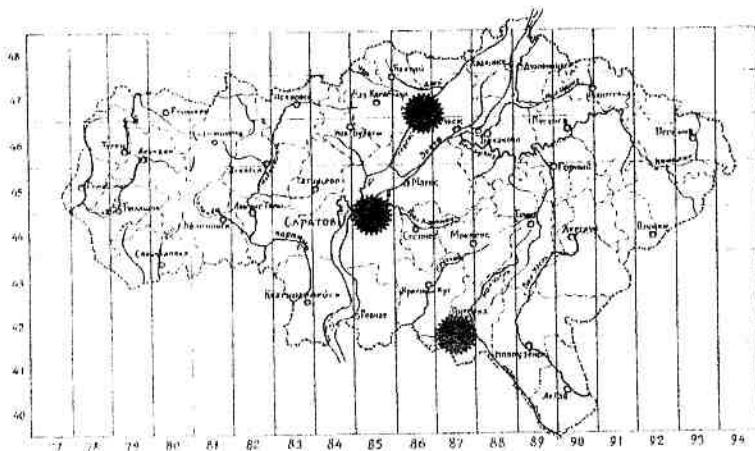


Рис. 1. Местонахождение исследованных популяций *C. juncea* и *C. graminea*: 1 – Б.-Карабулакский (БКар); 2 – Краснокутский (КрК) районы Саратовской области, 3 – черта г. Саратова (Сар)

В последней популяции в 2004 г эндоспермогенез без партеногенетического развития яйцеклетки отмечен более, чем в половине зародышевых мешков с признаками апомиктического развития. В остальных популяциях доля зародышевых мешков с развитием центральной клетки было значительно ниже, и варьировала в интервале 0 – 21,9% от числа зародышевых мешков с признаками апомиктического развития.

Развитие обоих элементов зародышевого мешка (яйцеклетки и центральной клетки) одновременно в популяциях *C. juncea* отмечено в 0 – 26,2 % от общего числа зародышевых мешков с признаками апомиктического развития в каждой популяции. При этом чаще всего около 20% таких мешков имели развивающимися оба элемента. Только в популяции черты г. Саратова в 2003 году их доля была равна 0.

Прозембрио чаще всего состоял из 2-16 ядер или клеток. Эндосперм также был ядерным или клеточным.

Доля дегенерирующих зародышевых мешков во всех популяциях этого вида независимо от года наблюдения достоверно не различалась и варьировала в интервале $21,1 \pm 5,3 - 29,3 \pm 8,8\%$ (табл. 1)

Состояние мегагаметофита у растений *Chondrilla* на момент исследования

Вид, № популяции и место обитания	Год исследования	Зародышевые мешки, %				
		дегенерирующие	из них с развитием			
			всего	в том числе		
				проэмбрио	эндо-сперм	обе структуры
<i>C. juncea</i> 85 (Саратов)	1999	24,07±6,48	27,04±6,17	21,98	0	5,06
	2003	21,06±5,30	19,39±6,10	16,67	2,70	0
	2004	24,44±8,74	51,78±12,02	31,11	11,33	9,30
<i>C. juncea</i> 67 (Дьяковка)	1999	24,80±6,44	21,08±5,28	16,27	0,49	4,26
	2004	29,26±8,79	27,83±8,33	21,17	1,67	5,00
<i>C. juncea</i> 94 (Алексеевка)	2004	25,06±6,36	17,46±5,18	5,50	9,46	2,55
<i>C. graminea</i> 67 ^а (Дьяковка)	1999	68,46±8,26	0	0	0	0
<i>C. graminea</i> 85 ^а (Саратов)	2003	25,14±6,57	12,66±5,90	9,94	2,72	0
	2004	78,15±5,4	1,39±1,39	1,39	0	0

Примечательно, что в отличие от популяций *C. juncea*, в популяции *C. graminea* из окрестностей с. Дьяковка не обнаружено ни одного зародышевого мешка с признаками апомиктического развития, а в популяции в черте г. Саратова в оба года наблюдения их доля она была на уровне 1,4 – 12,7% (табл. 1). Этот факт тем более интересен, что обе популяции *C. graminea* занимают те же места обитания, что и две исследованные популяции *C. juncea*. Одно из мест обитания – склон г. Лысая в черте г. Саратова, второе – опушка нагорной дубравы в окрестностях с. Дьяковка Краснокутского района. Они значительно (более чем на 100 км) удалены друг от друга и контрастны по условиям обитания. Так для одного из них характерны аридные условия степного Заволжья на обеднённых песчаных почвах, в то время как для второго – в лесостепной зоне Правобережья почти двукратное превышение среднегодовой нормы осадков, более низкая среднегодовая температура, меньшая амплитуда их колебания и т.п. (табл. 2) (Энциклопедия..., 2002).

Кроме того, обращает на себя внимание почти в три раза более высокая частота встречаемости дегенерирующих зародышевых мешков у растений популяции *C. graminea* в сравнении с популяциями *C. juncea* (68,46±8,26 и 78,15±5,40% против 21,08 – 29,26%). Только в 2003 году в популяции из черты г. Саратова доля таких зародышевых мешков в популяции *C. graminea* приближалась к таковой по популяции *C. juncea* (25,14±6,57%).

У растений *C. graminea*, по сравнению с растениями *C. juncea*, несколько отличались также форма и структура зародышевых мешков. Поверхность зародышевых мешков *C. graminea* была складчатой («гофрированной»), цитоплазма интенсивно окрашивалась ацетокармином и была слабо или почти не вакуолизована, ядра зачастую были очень крупные, «рыхлые» и содержали по несколько ядрышек. У растений *C. juncea* поверхность зародышевого мешка

была гладкой, цитоплазма менее интенсивно прокрашивалась ацетокармином и была сильно вакуолизирована, ядра были мельче и плотнее, в каждом ядре, как правило, содержалось одно ядрышко (Добрыничева и др., 2003).

Таблица 2.
Сравнительная характеристика природно-климатических условий в районах произрастания исследованных популяций

Районы	Географическое положение	Тип климата	Среднегодовая температура воздуха	Среднегодовое количество осадков	Почва
Б.-Карабулакский	Северная часть Правобережья на Приволжской возвышенности	Умеренно-континентальный	4,2 °С	500-550 мм	Дерновая лесная на песках
Краснокутский	Южная часть Саратовского Заволжья в юго-западной части Сыртовой равнины	Континентальный	5,4 °С	274 мм	Дерновая лесная на песках
Саратов	Средняя часть Правобережья на Приволжской возвышенности	Умеренно-континентальный	5,3 °С	451 мм	Чернозём щепнистый на известняках

Интересно, что в годы с высокой долей дегенерирующих зародышевых мешков в популяциях *S. graminea*, фактически не отмечено зародышевых мешков с признаками апомиктического развития, в то время как в популяции с низкой долей дегенерирующих зародышевых мешков доля таковых была относительно высокой (12,66±5,90%). Подавляющий процент таких зародышевых мешков характеризовался преждевременной эмбрионией.

Таким образом, между растениями *S. juncea*, с одной стороны, и *S. graminea*, - с другой, имеют место различия в морфологии мегагаметофита. При этом из того, что у растений *S. graminea* наблюдается высокий процент дегенерирующих зародышевых мешков, следует, что нормальное развитие мегагаметофита у растений данного вида затруднено. Такого рода нарушения мегагаметофитогенеза у цветковых, как правило, бывает связано: а) с неблагоприятными условиями обитания, б) с отдалённой гибридизацией, в) с полиплоидией нечётного или некратного основному числу уровня плоидности, с апомиксисом (Куприянов, 1989). Однако, объяснить различия между популяциями *S. juncea* и *S. graminea* по уровню дегенерирующих зародышевых мешков условиями произрастания невозможно, так как популяции *S. graminea* обитают в тех же условиях, что и соответствующие популяции *S. juncea*. Тем не менее, последние имеют втрое более низкий уровень дегенерирующих мешков и характеризуются довольно высокой частотой встречаемости

зародышевых мешков с признаками апомиктического развития. Это указывает на то, что и апомиксис сам по себе не может являться причиной дегенерации зародышевых мешков у *C. graminea*. К тому же видам рода свойственна диплоспория (Герёхин, 1996), при которой в принципе не может быть конкурентных отношений между апомейотическими и мейотическими мешками в силу того, что в семязачатке может быть только либо тот, либо другой по определению. Скорее, эти факты позволяют предполагать, что причиной высокого уровня дегенерации зародышевых мешков являются как раз низкая (или нулевая) склонность популяции *C. graminea* к апомиктическому размножению при сложностях в развитии мегагаметофита, связанных либо с гибридогенным происхождением, либо с нечётным или некрратным основному числу хромосом уровнем ploидности растений. В пользу данного предположения говорит и высокий процент растений нечётного уровня ploидности в данной популяции (Кашин и др., 2003). Некоторые отличия в структуре зародышевых мешков у *C. graminea*, - если они, правда, не связаны с дегенерационными процессами или различиями в уровне ploидности растений, - указывает на то, что между растениями *C. graminea* и *C. juncea* существуют не только различия по морфологическим, но и цитозембриологическим признакам.

Исследование выполнено при поддержке РФФИ (проект № 05-04-49001).

Литература

- Грант В. Видообразование у растений. М: Мир, 1984. 528 с.
- Губанов И.А., Кисилёва К.В., Новиков В.С., Тихомиров В.Н. Определитель сосудистых растений. М.: Изд-во МГУ, 1992. 400 с.
- Добрыничева Н.В., Кочанова И.С., Кашин А.С. Сравнительное изучение некоторых параметров системы семенного размножения популяций *Chondrilla juncea* L. и *C. graminea* Bieb. // Вопросы биологии, экологии, химии и методики обучения: Сб. науч. трудов. Вып. 6. Саратов: Научная книга, 2003. С. 35-42.
- Еленевский А.Г., Радыгина В.И., Буланый Ю.И. Определитель сосудистых растений Саратовской области (Правобережье Волги). М.: Изд-во МПГУ, 2001. 278 с.
- Ильин М.М. *Chondrilla* L. // Бюлл. отд. каучукон. 1930. № 3. С. 1-61.
- Кашин А.С., Демочко Ю.А., Мартынова В.С. Кариотипическая изменчивость в популяциях апомиктических и половых видов агамных комплексов Asteraceae // Бот. журн. 2003. Т. 88, № 9. С. 35-54.
- Куприянов П.Г. Способ приготовления препаратов зародышевых мешков. А.С. № 919636 // Бюлл. изобр. 1982. С. 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, 1964. С. 560-586.
- Леонова Т.Г. Хондрилла – *Chondrilla* L. // Флора Европейской части СССР. Л.: Наука, 1989. Т. 8. С. 57 – 61.

Маевский П.Ф. Флора средней полосы Европейской части СССР. М. Л.: Сельхозгиз, 1940. 824 с.

Определитель растений Среднего Поволжья. Л.: Наука, 1984. 392 с.

Поддубная-Арнольди В.А. Общая эмбриология покрытосеменных растений. М.: Наука, 1964. 482 с.

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

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

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

Терёхин Э.С. Семя и семенное размножение. СПб.: Мир и семья-95, 1996. 377 с.

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

Энциклопедия Саратовского края. Саратов: Приволжское кн. изд-во, 2002. 688 с.

Bergman B. *Chondrilla chondrilloides*, a new sexual *Chondrilla* species // *Hereditas*. 1952. Vol. 38, N 3. P. 367-369.

Bremer K. *Asteraceae cladistics and classification*. Portland: Timber Press, 1994. 180 p.

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.

Nijs J.C.M. den, Sterk A.A. Cytogeographical studies of *Taraxacum* sect. *Taraxacum* (= sect. *Vulgaris*) in Central Europe // *Bot Jahrb. Syst*. 1980. Vol 101. P. 527-554.

Nogler G.A. Gametophytic apomixis // *Embryology of Angiosperms*. Berlin e.a., 1984. P. 475—518.