

УДК 581.16 + 582.998

ЦИТОЭМБРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЧАСТОТЫ АПОМИКСИСА У ВИДОВ РОДА *CHONDRILLA* ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ

Е. В. Угольникова, А. С. Кашин, А. О. Кондратьева

Саратовский государственный университет им. Н. Г. Чернышевского
Россия, 410010, Саратов, ул. Навашина
E-mail: cat.ugolnikova@yandex.ru, kashinas2@yandex.ru

Поступила в редакцию: 14.08.2016 г.

Цитоэмбриологическое исследование частоты апомиксиса у видов рода *Chondrilla* Европейской части России. – Угольникова Е. В., Кашин А. С., Кондратьева А. О. – В результате цитоэмбриологического анализа мегagamетофитов *Chondrilla* выявлено, что растения шести исследованных видов (*C. juncea*, *C. graminea*, *C. canescens*, *C. brevirostris*, *C. latifolia* и *C. acantholepis*) характеризуются способностью к семенному воспроизводству путем апомиксиса. Выявлено, что частота обнаружения цитоэмбриологических признаков апомиксиса существенно варьирует по годам и на межпопуляционном уровне. Установлено, что *C. ambigua* является облигатно амфимиктичным видом, т.к. характеризуется отсутствием мегagamетофитов с маркерными признаками апомиксиса.

Ключевые слова: гаметофитный апомиксис, *Chondrilla*, цитоэмбриология.

The Cytoembryological Research of Apomixis Frequency of *Chondrilla* species of European Part of Russia. – Ugolnikova E. V., Kashin A. S., Kondratieva A. O. – As a result of cytoembryological analysis of megagametophytes of *Chondrilla* it was found out, that the plants of six species examined (*C. juncea*, *C. graminea*, *C. canescens*, *C. brevirostris*, *C. latifolia* and *C. acantholepis*) are characterised by the ability for seed reproduction by apomixis. It was discovered that the frequency of disclosure of cytoembryological signs of apomixis considerably varies year by year and on the interpopulation level. *C. ambigua* is found to be a gamic species because it is characterised by the lack of megagametophytes with marker signs of apomixis.

Key words: gametophyte apomixis, *Chondrilla*, cytoembryology.

Данные о распространении гаметофитного апомиксиса среди видов рода *Chondrilla* (Asteraceae) на сегодняшний день весьма отрывочны (Ильин, 1930; Леонова, 1964, 1989; Поддубная-Арнольди, 1976; Сравнительная..., 1987; Bergman, 1952; Dijk, 2003; Noyes, 2007).

ЦИТОЭМБРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЧАСТОТЫ

Исследования системы семенного размножения видов рода *Chondrilla* представляются весьма актуальными, так как могут дать дополнительные сведения о степени таксономического родства форм данного рода, а также объяснить причины противоречивости представлений о его таксономической структуре.

Некоторые результаты выявления способности к воспроизводству семян путём гаметофитного апомиксиса у ряда видов *Chondrilla* нами ранее были опубликованы (Добрыничева и др., 2006; Кашин и др., 2006, 2015; Полякова и др., 2015). В данной работе более полно представлены результаты цитоэмбриологического анализа структуры мегагаметофита видов рода, произрастающих на европейской части России.

Материалы и методы

Цитоэмбриологический анализ видов рода *Chondrilla* проводили в 1999, 2003 – 2006, 2013 – 2015 гг. Исследованы популяции растений *C. juncea*, *C. graminea*, *C. juncea/graminea*, *C. canescens*, *C. ambigua*, *C. brevirostris*, *C. latifolia*, *C. acantholepis*, произрастающие в Саратовской (Аткарский, Базарно-Карабулакский, Балаковский, Калининский, Красноармейский, Краснокутский, Марковский, Озинский, Саратовский и Хвалынский районы), Астраханской (Ахтубинский, Красноярский и Харабалинский районы), Волгоградской (Калачевский и Камышинский районы), Ростовской (Тацинский район) областях, Республике Крым (Судакский район, окр-ти г. Феодосия), Краснодарском крае (Ейский район).

Соцветия для цитоэмбриологического анализа за 1 – 3 суток до раскрытия бутона краевых цветков фиксировали в фиксаторе Кларка (96%-ный этиловый спирт – 3 части; ледяная уксусная кислота – 1 часть) и сохраняли до периода изучения. Препараты зародышевых мешков готовили по ускоренной методике П. Г. Куприянова (1989) с использованием мацерирующего агента (цитазы) и микропрепаровальных игл. Материал предварительно окрашивали 2%-ным ацетокармином. Приготовление препаратов осуществляли под стереомикроскопом Stemi-2000 (Karl Zeiss). Структуру зародышевых мешков изучали под микроскопом AxioLab (Karl Zeiss).

Частоту гаметофитного апомиксиса определяли по частоте встречаемости зародышевых мешков с маркерными признаками апомиксиса: развитие зародыша и (или) эндосперма без оплодотворения. В среднем по каждой популяции исследовано по 150 зародышевых меш-

ков. В таблице приводятся условные номера популяций по полемому журналу.

Результаты и их обсуждение

Итоги мониторинга женской репродуктивной системы видов рода *Chondrilla* представлены в таблице.

Состояние мегагаметофита у растений видов *Chondrilla* на момент исследования

Вид, условный № популяции и место обитания	Год исследования	Зародышевые мешки, %					
		дегенерирующие	из них с развитием				
			всего	в т.ч.			
1	2	3		4	5	6	7
				про-эмбрио	эндо-сперм	обе структуры	
<i>juncea</i> 85 (Сар)	1999	23.88 ± 6.15	19.52 ± 0.53	17.78	0.00	1.74	
	2003	32.53 ± 0.75	23.71 ± 0.41	15.47	5.57	2.67	
	2004	24.44 ± 0.87	51.78 ± 1.20	31.11	11.33	9.30	
	2005	4.63 ± 0.26	8.22 ± 0.26	8.22	0.00	0.00	
	2006	2.43 ± 0.14	31.26 ± 0.71	7.85	0.00	23.41	
<i>juncea</i> 67 (КрК)	1999	44.52 ± 7.81	19.81 ± 0.52	14.65	0.00	0.00	
	2006	35.13 ± 0.79	5.82 ± 0.24	4.37	0.00	1.45	
<i>juncea</i> 113 (ХвЛ)	2005	9.55 ± 0.37	1.74 ± 0.12	1.74	0.00	0.00	
	2006	6.46 ± 0.29	6.88 ± 0.20	3.32	3.56	0.00	
	2013	0.00	3.75 ± 0.25	0.00	2.50	1.25	
<i>juncea</i> 1041 (ХвЛ)	2015	0.66 ± 0.01	37.33 ± 0.12	1.33	26.00	10.00	
<i>juncea</i> 1044 (БКар)	2015	6.67 ± 1.77	23.33 ± 0.21	12.67	9.33	1.33	
<i>juncea</i> 1022 (ФД)	2015	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
<i>juncea</i> 1026 (КМш)	2015	0.00	58.66 ± 1.13	5.33	7.33	46.00	
<i>juncea</i> 1019 (Ейск)	2015	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
<i>graminea</i> 67 ^а (КрК)	1999	77.21 ± 7.57	0.00	0.00	0.00	0.00	
	2006	17.70 ± 0.58	16.81 ± 0.49	7.10	1.01	8.70	
<i>graminea</i> 85 ^а (Сар)	2003	38.31 ± 8.34	12.40 ± 0.67	10.32	2.08	0.00	
	2004	85.97 ± 4.05	1.39 ± 0.14	1.39	0.00	0.00	
	2005	20.00 ± 1.33	21.67 ± 1.01	10.00	11.67	0.00	
	2006	12.40 ± 0.44	19.26 ± 0.40	14.07	0.00	5.19	
<i>graminea</i> 115 (ХвЛ)	2005	9.16 ± 3.60	26.19 ± 4.84	4.76	7.14	14.29	
	2006	2.72 ± 0.16	5.07 ± 0.36	1.45	3.62	0.00	
	2013	0.00	7.91 ± 0.42	4.49	3.42	0.00	
<i>graminea</i> 1042(ХвЛ)	2015	0.00	22.66 ± 0.11	3.33	17.33	2.00	
<i>graminea</i> 1045(БКар)	2015	0.00	41.66 ± 2.45	0.00	23.33	18.33	
<i>juncea</i> / <i>graminea</i> 67 (КрК)	2004	17.42 ± 0.79	27.08 ± 0.80	24.44	1.32	1.32	
	2005	14.00 ± 0.34	26.66 ± 0.45	10.52	1.25	14.89	
	2014	0.00	36.13 ± 0.81	10.00	3.33	22.80	
	2015	10.00 ± 1.42	5.33 ± 0.90	0.00	0.00	5.33	

ЦИТОЭМБРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЧАСТОТЫ

Продолжение таблицы

1	2	3	4	5	6	7
<i>juncea / graminea</i> (Атк)	2014	3.21 ± 0.14	12.85 ± 0.37	5.35	0.37	3.92
	2015	0.00	11.25 ± 0.05	10.00	0.00	1.25
<i>juncea / graminea</i> 94 (БКар)	2004	24.83 ± 0.63	14.90 ± 0.30	5.01	5.60	4.29
	2005	13.24 ± 0.81	0.00	0.00	0.00	0.00
	2013	0.00	29.01 ± 3.90	4.55	14.55	10.0
	2014	0.00	22.69 ± 0.66	8.46	0.00	14.23
<i>juncea / graminea</i> (Хвл)	2014	13.52 ± 3.52	5.28 ± 0.80	0.00	1.17	4.11
<i>juncea / graminea</i> 270 (Оз.)	2005	17.05 ± 0.65	19.80 ± 0.50	12.98	0.00	6.82
	2006	0.00	12.82 ± 0.59	12.82	0.00	0.00
<i>juncea / graminea</i> 1035 (Клн)	2015	0.00	4.00 ± 0.38	2.00	2.00	0.00
<i>juncea / graminea</i> 1036 (КрА)	2015	10.00 ± 2.47	15.33 ± 0.93	3.33	1.33	10.67
<i>juncea / graminea</i> 1037 (Срт)	2015	0.00	1.00 ± 0.02	1.00	0.00	0.00
<i>juncea / graminea</i> 1038 (МР)	2015	0.00	16.00 ± 0.85	2.67	0.00	13.33
<i>juncea / graminea</i> 1039 (БЛк)	2015	14.07 ± 2.79	46.66 ± 1.63	9.63	4.44	32.59
<i>canescens</i> 293 (Хвл)	2005	0	44.45 ± 6.19	27.40	0.00	17.05
	2006	3.01 ± 0.14	54.04 ± 6.24	33.15	0.00	20.89
	2013	0.00	7.50 ± 0.50	0.50	4.00	3.00
	2015	1.66 ± 1.66	60.83 ± 2.50	8.33	0.00	52.5
<i>canescens</i> 1028 (КрК)	2015	0.00	21.76 ± 1.07	16.50	5.26	0.00
<i>ambigua</i> 305 (ХРБ)	2005	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
<i>ambigua</i> 306 (ХРБ)	2005	11.00 ± 0.51	0.00	0.00	0.00	0.00
	2006	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
<i>ambigua</i> 403 (БЛх)	2006	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
<i>ambigua</i> 306 (ДСН)	2013	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	2014	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	2015	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
<i>ambigua</i> 1031 (ХЛг)	2015	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
<i>breviostriis</i> 298 (БЛх)	2005	29.54 ± 0.81	1.07 ± 0.07	1.07	0.00	0.00
	2006	24.59 ± 0.62	30.81 ± 0.58	23.45	0.00	7.36
	2013	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	2014	0.00	24.70 ± 4.10	7.24	7.24	10.22
<i>breviostriis</i> 1046 (ХРБ)	2015	3.33 ± 1.05	57.34 ± 2.00	16.67	6.67	34.00
<i>latifolia</i> 300 (КМш)	2005	5.19 ± 0.38	17.26 ± 0.48	17.26	0.00	0.00
	2006	11.59 ± 0.65	19.54 ± 0.38	6.96	4.97	7.61
	2013	0.00	30.00 ± 5.09	6.00	24.00	0.00
	2014	1.60 ± 0.94	47.60 ± 7.32	4.40	13.20	30.00
	2015	0.00	34.00 ± 2.15	0.00	24.00	10.00
<i>latifolia</i> 1032 (КнД)	2015	1.18 ± 0.07	61.77 ± 2.01	9.41	28.24	24.12
<i>latifolia</i> 1024 (РСТ)	2015	2.67 ± 1.02	51.67 ± 3.02	12.33	10.67	28.67
<i>acantolepis</i> 1020 (Ейск)	2015	5.00 ± 2.01	11.35 ± 1.02	6.53	2.04	2.78

Окончание таблицы

1	2	3	4	5	6	7
<i>acantolepis</i> 1021 (СДк)	2015	12.30 ± 2.80	23.62 ± 2.50	13.02	0.00	10.60
<i>acantolepis</i> 1023 (ФД)	2015	0.00	3.33 ± 0.25	3.33	0.00	0.00
<i>acantolepis</i> 1025 (КнД)	2015	0.00	53.34 ± 1.29	0.00	7.78	45.56

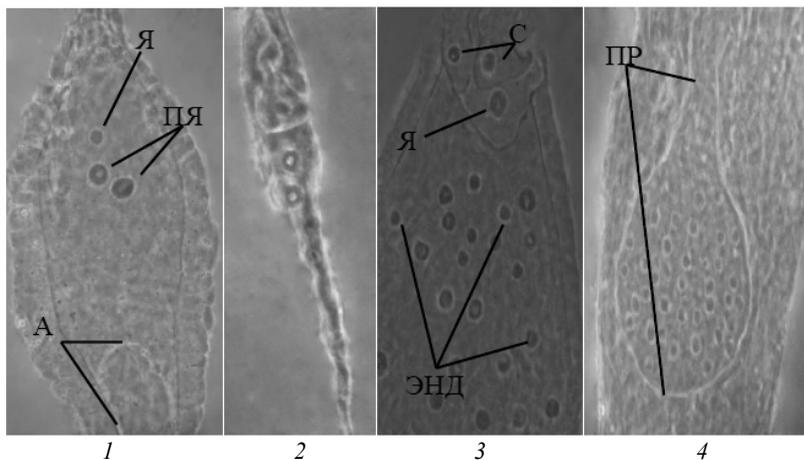
Примечания: Сар – Саратовская обл., Саратовский р-н; Оз – Саратовская обл., Озинский р-н, окр. п. Озинки; ХРБ – Астраханская обл., Харабалинский р-н, Кордон «Харабалинский»; СДк – Республика Крым, Судакский р-н, окр. с. Веселое; ФД – Республика Крым, окр. г. Феодосия, пляж на выезде со стороны г. Керчь; КрК – Саратовская обл., Краснокутский р-н, окр. с. Дьяковка; Атк – Саратовская обл., Аткарский р-н, окр. с. Приречное; БКар – Саратовская обл., Б.-Карабулакский р-н, окр. с. Алексеевка; КМш – Волгоградская обл., окр. г. Камышин; КнД – Волгоградская обл., окр. с. Калачна-Дону; БЛх – Астраханская обл., Ахтубинский р-н, окр. с. Болхуны; ДСН – Астраханская обл., Красноярский р-н, окр. с. Досанг; ХвЛ – Саратовская обл., окр. г. Хвалынский; Клн – Саратовская обл., Калининский р-н, окр. г. Калининск; Кра – Саратовская обл., Красноармейский р-н, окр. с. Садовое; Срт – Саратовская обл., Саратовский р-н, окр. с. Поповка; МР – Саратовская обл., Марковский р-н, окр. с. Волково; БЛк – Саратовская обл., Балаковский р-н, окр. с. Кормежки; Ейск – Краснодарский край, Ейский р-н, окр. с. Должанское; РСТ – Ростовская обл., Тагинский р-н, окр. х. Верхнекольцов.

В целом частота встречаемости цитоэмбриологических признаков апомиксиса в популяциях видов рода *Chondrilla* была достаточно высокой и варьировала в диапазоне 0 – 62%. В процессе исследования были выделены следующие типы строения зародышевых мешков: нормальный зародышевый мешок Polygonum-типа (рисунок, 1); дегенерирующий зародышевый мешок (рисунок, 2); зародышевый мешок с автономным развитием эндосперма (рисунок, 3); зародышевый мешок с партеногенетическим развитием яйцеклетки (рисунок, 4); зародышевый мешок с одновременным развитием яйцеклетки и эндосперма без оплодотворения.

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 формы к другой. Так что выделять «чистые» морфы растений того или другого вида с непрекрывающимися признаками было весьма проблематично. По этой причине по целому ряду лет наблюдений в популяциях исследовали смешанную случайную выборку растений этих двух видов, не подразделяя их по видовым признакам (см. таблицу, *C. juncea* / *graminea*). Речь идёт о популяциях: из Краснокутского района по 2004, 2005, 2014 и 2015 гг. наблюдения, из Аткарского района по 2014 и 2015 гг. на-

ЦИТОЭМБРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЧАСТОТЫ

блюдения, из Базарно-Карабулакского района по 2004, 2005, 2013 и 2014 гг. наблюдения, из Хвалынского района по 2014 г. наблюдения, из Озинского района по 2005 и 2006 гг. наблюдения, а также из Калининского, Красноармейского, Саратовского, Марковского и Балаковского районов по 2015 г. наблюдения.



Состояние мегагаметофитов *Chondrilla* на момент исследования:

1 – дифференцированный нормального строения у *C. acantholepis*; 2 – дегенерирующий у *C. acantholepis*; 3 – с клеточным эндоспермом у *C. graminea*; 4 – с преждевременной эмбрионией у *C. latifolia*. С – синергиды; Я – яйцеклетка; ПЯ – полярные ядра; А – антиподы; ПР – проэмбрио; ЭНД – эндосперм

В исследованных «чистых» популяциях *C. juncea* и *C. graminea*, как и в смешанной популяции этих видов, принципиальных отличий в частоте обнаружения признаков гаметофитного апомиксиса не наблюдалось, хотя популяции *C. graminea* имели гораздо более узкий диапазон варьирования параметра (0 – 42%), чем популяции *C. juncea* (0 – 59%) (см. таблицу). При этом в большинстве популяций на момент исследования чаще всего наблюдалась преждевременная эмбриония без индукции к развитию центральной клетки зародышевого мешка. Доля зародышевых мешков с развитием центральной клетки (см. рисунок, 3) или зародышевых мешков с развитием обоих элементов

(яйцеклетки и центральной клетки) одновременно была чаще всего значительно ниже.

В популяции *C. canescens* частота встречаемости зародышевых мешков с признаками апомиктичного развития варьировала в диапазоне 7.5 – 61%. При этом по трем из четырех лет наблюдения в ней превалировала преждевременная эмбриония, а также одновременное развитие яйцеклетки и эндосперма без оплодотворения.

В популяции *C. latifolia* частота обнаружения признаков гаметофитного апомиксиса была относительно высокой и по годам наблюдения варьировала в диапазоне 17 – 48%. При этом по трём из пяти лет наблюдения в популяции на момент исследования преобладали мегagamетофиты с автономным развитием эндосперма или проэмбрио и эндосперма одновременно. В популяциях из Ростовской и Волгоградской областей, исследованных в 2015 г., отмечен высокий процент встречаемости признаков апомиксиса (51.7 и 61.8% соответственно), среди которых мы наблюдали как преждевременную эмбрионию (см. рисунок, 4), эндоспермогенез, так и одновременное развитие обеих структур.

В популяции *C. brevirostris*, исследованной в Астраханской области в 2005 – 2006, 2013 – 2014 гг., доля зародышевых мешков с признаками гаметофитного апомиксиса варьировала в диапазоне 0 – 31%. В популяции, изученной в 2015 г., частота встречаемости признаков апомиксиса была почти в два раза выше (57.3%) и более половины из них приходилось на одновременное развитие яйцеклетки и эндосперма без оплодотворения.

В 2015 г. нами были исследованы растения четырех популяций *C. acantholepis*, произрастающие в Краснодарском крае, Республике Крым и Волгоградской области. В этих популяциях из южных областей нашей страны мы отметили существенную межпопуляционную изменчивость частоты встречаемости признаков гаметофитного апомиксиса (3 – 53%), среди которых в основном превалировала преждевременная эмбриония, а также одновременное развитие яйцеклетки и центральной клетки без оплодотворения.

По итогам цитозембриологического анализа пяти популяций *C. ambigua*, произрастающих в различных районах Астраханской области, выявлено, что все мегagamетофиты имели нормальное строение без признаков апомиктичного развития. Такой результат позволяет сделать вывод о том, что данный вид является амфимиктичным.

ЦИТОЭМБРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЧАСТОТЫ

При анализе структуры большого числа семязачатков ни в одной из популяций исследованных видов *Chondrilla* у растений не обнаружено признаков формирования апоспорических инициальных клеток или их производных. Это указывает на то, что видам рода свойственна дипло-, а не апоспория, что соответствует и литературным данным (Dijk, 2003; Noyes, 2007).

Выводы

У растений из популяций *C. juncea*, *C. graminea*, *C. canescens*, *C. brevirostris*, *C. latifolia* и *C. acantholepis* при изучении структуры мегagamетофитов обнаружены цитоэмбриологические маркерные признаки гаметофитного апомиксиса: чаще всего – преждевременная эмбриония, реже – автономный эндоспермогенез или развитие яйцеклетки и центральной клетки в одном мегagamетофите без оплодотворения.

Во всех исследованных популяциях *C. ambigua* все мегagamетофиты имели нормальное строение без признаков апомиксического развития. Это однозначно указывает на то, что *C. ambigua* является облигатным амфимиктом.

Частота обнаружения цитоэмбриологических признаков апомиксиса у видов рода *Chondrilla* отличается существенной внутри- и межпопуляционной изменчивостью.

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

Список литературы

- Bergman B. *Chondrilla chondrilloides*, a new sexual *Chondrilla* species // *Hereditas*. 1952. Vol. 38, № 3. P. 367 – 369.
- 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.
- Noyes R. D. Apomixis in the Asteraceae: Diamonds in the Rough // *Functional plant science and biotechnology*. 2007. Vol. 1(2). P. 207 – 222.
- Добрыничева Н. В., Кочанова И. С., Кашин А. С. Сравнительное изучение некоторых параметров системы семенного размножения в популяциях рода *Chondrilla* L. // *Бюл. Бот. сада Сарат. гос. ун-та*. 2006. № 5. С. 307 – 312.
- Ильин М. М. *Chondrilla* L. // *Бюл. отдела каучуконосных*. 1930. № 3. С. 1 – 61.

Е. В. Угольникова, А. С. Кашин, А. О. Кондратьева

Кашин А. С., Добрыничева Н. В., Кочанова И. С. и др. Особенности семенного размножения в популяциях *Chondrilla juncea* и *Chondrilla graminea* (Asteraceae) // Бот. журн. 2006. Т. 91, № 95. С. 729 – 744.

Кашин А. С., Попова А. О., Кочанова И. С. и др. Некоторые параметры системы семенного размножения в популяциях видов *Chondrilla* (Asteraceae) Нижнего Поволжья // Бот. журн. 2015. Т. 100, № 8. С. 828 – 840.

Курприянов 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. Т. 8. Л.: Наука. Ленингр. отд-ние, 1989. С. 57 – 61.

Поддубная-Арнольди В. А. Цитозембриология покрытосеменных растений. М.: Наука, 1976. 508 с.

Полякова Ю. А., Угольникова Е. В., Кашин А. С. и др. Качество пыльцы и цитозембриологические признаки гаметофиного апомиксиса в популяциях видов *Chondrilla* L. Нижнего Поволжья // Бюл. Бот. сада Саратов. гос. ун-та. 2015. Вып. 13. С. 161 – 170.

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