



УДК 581.163 + 582.998

## ЧАСТОТА АПОМИКСИСА У НЕКОТОРЫХ ВИДОВ *ARTEMISIA* (ASTERACEAE) САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

М. В. Полянская, А. С. Кашин

Саратовский государственный университет  
E-mail: kashinas@sgu.ru



Изучены особенности семенного размножения 14-ти видов *Artemisia* из различных районов Саратовской области. Показано, что популяции пяти из них (*A. vulgaris*, *A. salsaloides*, *A. dracunculus*, *A. glauca*, *A. austriaca*) характеризуются высокой (не менее 20–30%) частотой гаметофитного апомиксиса у растений, а три вида (*A. abrotanum*, *A. absinthium*, *A. armenica*) характеризуются более низкой (10–15%) частотой гаметофитного апомиксиса. Реальная частота проявления гаметофитного апомиксиса у этих восьми видов рода может быть существенно выше установленной эмбриологически. Результаты исследования семенной продуктивности у растений популяции *A. salsaloides* подтверждают наличие гаметофитного апомиксиса. У всех указанных видов способность к апомиксичному способу репродукции обнаружена впервые.

**Ключевые слова:** апомиксис, амфимиксис, цитозембриология, семенная продуктивность, апоспория, *Artemisia*, Asteraceae.

**Frequency of Apomixis Bei Some *Artemisia* (Asteraceae) Species from Saratov Region**

M. V. Polyanskaya, A. S. Kashin

We have studied the characteristics of seed reproduction *Artemisia* 14 species from various parts of the Saratov region. It is shown that a population of five of them (*A. vulgaris*, *A. salsaloides*, *A. dracunculus*, *A. glauca*, *A. austriaca*) are characterized by high (at least 20–30%) frequency of gametophytic apomixis in plants, and three species (*A. abrotanum*, *A. absinthium*, *A. armenica*) have lower (10–15%) frequency of gametophytic apomixis. The actual frequency of expression of gametophytic apomixis in these eight species may be substantially higher than the set embryology. The study of seed production in plants populations *A. salsaloides* confirm the presence of gametophytic apomixis. All eight of these species the ability to apomictic method of reproduction observed for the first time.

**Key words:** apomixis, amfimixis, cytoembryology, seed productivity, apospory, *Artemisia*, Asteraceae.

Род *Artemisia* насчитывает в своем составе около 400 видов [1], т.е. является политипическим. На этом основании он относится к группе родов с высокой вероятностью наличия в пределах их регулярных форм апомиксиса и его элементов [2]. В списках С. С. Хохлова с соавт. [3] и J. G. Carman [4, 5] род *Artemisia* действительно указан как апомиксичный. Но наличие гаметофитного апомиксиса на основе апо- и диплоспории отмечено лишь у *Artemisia nitida* Bertol. и *A. tridentate* Nut. [3, 4, 6].

Литературные данные по эмбриологии полыней весьма ограничены. Более или менее полно в этом отношении изучено лишь 4 вида рода [7]. Фрагментарные данные о формировании зародышевого мешка получены ещё для 5-ти видов среднеазиатских полыней: *A. macrocephala* Jacq., *A. annua* L., *A. absinthium* L., *A. herba alba* Asso и *A. turanica* Krasch. [8]. В.И. Коннычева (1966) [9] в своей работе наряду с описанием структуры мегagamетофита *A. turanica* приводит ещё и описание структуры мегagamетофита *A. diffusa* Krasch. ex Poljak. При этом во всех случаях при изучении мегagamетофита авторы использовали метод приготовления микроскопических препаратов на основе микротомных срезов. По каждому виду эмбриологически ими изучены единичные растения. Методики ускоренного приготовления микроскопических препаратов путём просветления семязачатков [10] или вычленения зародышевых мешков после мацерации [11] для цитозембриологического изучения видов данного рода не использовали. Это связано, вероятно, с относительно малыми размерами зародышевого мешка, даже по сравнению со многими представителями семейства Asteraceae.

Соответственно и целенаправленных исследований по выявлению апомиксичных форм среди видов *Artemisia*, фактически, не проводилось. Учитывая вышеизложенное, любые дополнительные исследования системы семенного размножения видов этого рода заслуживают внимания.

Целью данного исследования было изучение особенностей семенного размножения некоторых видов *Artemisia* из различных районов Саратовской области.



#### Материалы и методы

Исследованы популяции 14-ти видов рода *Artemisia*: *A. vulgaris* L., *A. salsaloides* Willd., *A. lerchiana* Web. et Stechm., *A. dracunculus* L., *A. abrotanum* L., *A. absinthium* L., *A. santonica* L., *A. armenica* Lam., *A. glauca* Pall. ex Willd., *A. austriaca* Jacq., *A. sieversiana* Willd., *A. pontica* L., *A. marcshalliana* Spreng, *A. pauciflora* Web. что составляет около 80% от числа видов рода, обитающих на территории Саратовской области [12].

Материал для исследования собран в различных районах области: Аткарском, Красноармейском, Краснокутском, Озинском, Татищевском, Хвалынском, Энгельском, а также в черте г. Саратова и его окрестностях.

Мегагаметофитогенез, структуру зрелых зародышевых мешков, процессы раннего эмбрио- и эндоспермогенеза исследовали на микроскопических препаратах, приготовленных с использованием методики просветления семязачатков [10], модифицированную нами. Соцветия фиксировали в фиксаторе Кларка [13] на нескольких стадиях зрелости цветка до его распускания и вскрытия пыльников.

Материал подкрашивали 2%-ным ацекармином в течение 16–24 ч. Анализ препаратов осуществляли под микроскопом «Axiostar-plus» (Carl Zeiss, Германия) при увеличении 10 x 40 с использованием метода фазового контраста в проходящем свете.

Семенную продуктивность исследовали при 3-х режимах цветения: режим свободного цветения; режим цветения в условиях изоляции некастрированных цветков; беспыльцевой режим цветения. Для анализа завязываемости семян в условиях возможности самоопыления и беспыльцевого режима соцветия до цветения краевых цветков помещали под пергаментные изоляторы, под которыми они находились до полного созревания семян. Для создания беспыльцевого режима цветения цветки предварительно механически кастрировали путем срезания верхней части соцветия вместе с пыльниками на уровне перехода венчика цветка в завязь. Ввиду чрезвычайно малых размеров корзинок исследуемого объекта для точности произведения кастрации использовалась лупа.

При подсчете семена разделяли на два морфологических класса по степени выполненности (выполненные и шуплые). Процент завязываемости семян в соцветии определяли к общему числу цветков в нем.

При этом семенную продуктивность при всех трех режимах цветения определяли у одних и тех же особей. В обеих популяциях в среднем исследовано по 30 растений, отобранных случайным образом (номер популяций дан по полемому журналу).

#### Результаты и их обсуждение

У растений исследованных популяций всех 14-ти видов в большинстве случаев отмечены либо тетрады мегаспор, либо эуспорические зародышевые мешки, развивающиеся по Poligonum-типу. При этом зрелые зародышевые мешки были нормального, типичного для представителей Asteraceae, строения без признаков партеногенетического развития мегagamет. Яйцевой аппарат был трёхклеточным, состоящим из крупной яйцеклетки и двух небольших, часто плохо различимых синергид. Яйцеклетка всегда располагалась несколько ниже синергид, имела обычно грушевидную форму. В равной степени наблюдались как неслившиеся полярные ядра, так и центральная клетка с одним вторичным ядром. Эти ядра были всегда крупнее ядра яйцеклетки. Центральная клетка была самой большой клеткой зародышевого мешка, часто сильно вакуолизированной.

Размеры, число ядер и место расположения, а также форма антипод были непостоянными. Чаще всего антипод было 3–4 с непостоянным числом ядер, в большинстве случаев находящихся на различных стадиях дегенерации.

Из исследованных популяций 14-ти видов *Artemisia* в восьми наблюдались семязачатки с признаками апомиксиса: *A. vulgaris* (30,55%), *A. salsaloides* (29,06% в 2007г. и 26,83% в 2009г.), *A. dracunculus* (21,47%), *A. abrotanum* (11,39%), *A. absinthium* (10,18%), *A. armenica* (16,46%), *A. glauca* (23,90%), *A. austriaca* (26,35%) (табл. 1). Во всех перечисленных популяциях были отмечены семязачатки с клетками, подобные апоспорическим инициалам.



Таблица 1

Результаты цитозембриологического исследования семязачатков растений некоторых видов *Artemisia*

Вид, номер популяции и место обитания	Год исследования	ЗМ нормального строения, %	Дегенерировавшие зуспорических ЗМ, %	ЗМ и семязачатки с эмбриологическими признаками апомиксиса, %					
				Всего	Из них				
					С автономным эндоспермом	С преждевременной эмбрионией	Проэмбрио и эндосперм без оплодотворения	Эуспорический ЗМ и клетки, подобные апоспорическим инициалам	С клетками, подобными апоспорическим инициалам и дегенерирующим зуспорическим ЗМ
<i>A. vulgaris</i> 268	2005	69.44	0	30.55	0	0	0	30.55	0
<i>A. salsaloides</i> 496	2007	70.93	0	29.06	8.33	0	0	20.73	0
<i>A. lerchiana</i> 407	2007	87.69	12.31	0	0	0	0	0	0
<i>A. dracuncululus</i> 528	2007	76.23	2.28	21.47	0	0	0	6.01	15.46
<i>A. abrotanum</i> 397	2006	82.93	5.32	11.39	1.92	1.23	2.30	5.12	0
<i>A. absinthium</i> 378	2006	89.81	0	10.18	0	0	0	7.80	2.38
<i>A. santonica</i> 406	2006	77.79	22.21	0	0	0	0	0	0
<i>A. armenica</i> 588	2008	81.30	0	16.46	0	0	2.41	13.05	0
<i>A. glauca</i> 576	2008	68.14	3.18	23.90	0	2.92	3.36	5.05	12.77
<i>A. austriaca</i> 590	2008	73.64	0	26.36	0	0	0	26.36	0
<i>A. sieversiana</i> 589	2008	83.17	16.83	0	0	0	0	0	0
<i>A. pontica</i> 525	2007	92.1	7.89	0	0	0	0	0	0
<i>A. marshalliana</i> 524	2007	87.94	12.05	0	0	0	0	0	0
<i>A. pauciflora</i> 196	2003	90.62	9.37	0	0	0	0	0	0
<i>A. salsaloides</i> 496	2009	72.92	0	26.83	8.10	3.40	0	15.55	0

У растений популяций *A. salsaloides*, *A. abrotanum*, *A. armenica* и *A. glauca* встречались зародышевые мешки с такими признаками апомиксиса, как преждевременная эмбриония, развитие эндосперма без оплодотворения, с одновременным развитием проэмбрио и эндосперма без оплодотворения.

В популяциях *A. salsaloides* и *A. abrotanum* с небольшой частотой (8,33% и 1,23% соответственно) наблюдались зародышевые мешки с развитием эндосперма без оплодотворения. Эндосперм при этом чаще всего был двухъядерным, или двух-, трехклеточным, обе синергиды оставались неразрушенными, и следы пыльцевой трубки отсутствовали.

Зародышевые мешки с признаками преждевременной эмбрионии отмечены у растений популяций *A. abrotanum*, *A. glauca* и *A. salsaloides* (2009 г. исследования). Проэмбрио чаще всего был двухклеточным, перегородка между клетками имела четкие границы, ядра хорошо прокрашены; были видны неповрежденные синергиды.

В популяциях *A. abrotanum*, *A. armenica* и *A. glauca* с частотой более 2% наблюдались семязачатки с одновременным развитием проэмбрио и эндосперма без оплодотворения. Проэмбрио чаще всего был двухклеточным, а эндосперм – многоядерным, реже – с уже образовавшимися клеточными перегородками.

Признаки апоспорического развития клеток в присутствии зуспорических зародышевых мешков были отмечены в семязачатках растений следующих популяций: *A. vulgaris* (30,55%), *A. salsaloides* (20,73% в 2007 г. и 15,55% в 2009 г.), *A. dracuncululus* (6,01%), *A. abrotanum* (5,12%), *A. absinthium* (7,80%), *A. armenica* (13,05%), *A. glauca* (5,05%), *A. austriaca* (26,35%). Эуспорические зародышевые мешки находились на разных стадиях развития. Наблюдались двух-, четырехъядерные, чаще, восьмиядерные семиклеточные зародышевые мешки. Апоспорические инициали формировались чаще всего ближе к антиподальной части зуспорического зародышевого мешка. В единичных случаях отмечено при-



сутствие рядом с тетрадами мегаспор клеток, подобных апоспорическим инициалам.

Семязачатки с клетками апоспорической природы с дегенерацией эуспорических зародышевых мешков были зарегистрированы у растений популяций *A. dracuncululus* (15,46%), *A. absinthium* (2,38%) и *A. austriaca* (12,77%).

Чаще всего клетки, морфологически подобные апоспорическим инициалам в семязачатках, были одноклеточные одно-, или двухъядерные. Они в десятки раз превосходили размерами другие соматические клетки семязачатка, были близкими к сферической форме, имели крупное ядро. В семязачатках растений *A. dracuncululus* в клетках, подобных апоспорическим инициалам, особенно часто наблюдались крупные, хорошо прокрашиваемые ядра.

Единично встречались клетки, морфология которых соответствовала одно- и двухъядерным зародышевым мешкам. Они имели вытянутую форму, большие размеры и крупные ядра с большими ядрышками. В популяции *A. salsaloides* из Хвалынского район среди соматических клеток семязачатка еденично были зарегистрированы структуры, морфология которых соответствовала четырехъядерному зародышевому мешку.

Редко было отмечено присутствие в одном семязачатке нескольких клеток, морфологически подобных апоспорическим инициалам, обычно при дегенерации эуспорического зародышевого мешка. Эти клетки были обычно близких размеров с крупными отчетливо видимыми ядрами. Такая картина наблюдалась в популяциях *A. absinthium*, *A. dracuncululus* и *A. vulgaris*. Таким образом, обоснованно предполагать, что в семязачатках этих трёх видов в дальнейшем формировались функционально способными лишь апоспоровые зародышевые мешки.

Из литературы известно, что обычно в семязачатке имеется лишь одна апоспоровая инициальная клетка. При большем их числе чаще всего лишь одна из них развивается в апоспорический зародышевый мешок, остальные постепенно дегенерируют [14].

Цитоэмбриологическое исследование популяции *A. salsaloides* из Хвалынского рай-

она проводилось в течение двух лет. В 2007 и 2009 гг. у растений данной популяции наблюдались семязачатки с признаками апомиктического развития – 29,06 и 26,83% соответственно (табл. 2).

Таблица 2

Структура женских гаметофитов растений популяции вида *A. salsaloides* из Хвалынского района

Год исследования	ЗМ нормального строения, %	ЗМ и семязачатки с эмбриологическими признаками апомиксиса, %			
		Всего	из них		
			С автономным эндоспермом	С преждевременной эмбрионой	Эуспорический ЗМ и клетки, подобные апоспорическим инициалам
2007	70.93	29.06	8.33	0	20.73
2009	72.92	26.83	8.10	3.40	15.55

Для подтверждения того, что обнаруженные клетки, подобные апоспорическим инициалам, в дальнейшем разовьются в апоспорические зародышевые мешки, на базе которых сформируются семена апомиктическим путём, мы исследовали семенную продуктивность при различных режимах цветения. Растения большинства видов рода *Artemisia* методически крайне сложно, а скорее, невозможно исследовать в отношении способности к апомиксису по семенной продуктивности при беспыльцевом режиме цветения из-за чрезвычайно малых размеров корзинок. Это делает проблематичным осуществление процесса кастрации (удаления мужской генеративной сферы в цветке) механическим путём [15]. Однако растения *A. salsaloides* имеют относительно крупные размеры корзинок по сравнению со всеми остальными представителями рода. Это позволило обеспечить на растениях данного вида методику механической кастрации цветков и определить семенную продуктивность при беспыльцевом режиме цветения.

Исследование семенной продуктивности при трёх режимах цветения проводили в 2009 г. в двух популяциях *A. salsaloides*: № 496 из Хвалынского района и № 626 из Красноармейского района.



Семена в условиях беспыльцевого режима цветения завязались в обеих популяциях с частотой  $25,86 \pm 6,84$  (в популяции № 496) и  $8,08 \pm 2,23\%$  (в популяции № 626). Это говорит о том, что растения *A. salsaloides* способны к апомиктичному воспроизводству семян. При цветении в условиях изоляции некастрированных цветков семена также завязались в обеих популяциях с частотой  $18,71 \pm 6,03$  (в популяции № 496) и  $7,96 \pm 2,25\%$  (в популяции № 626) (табл. 3). Так как при данном режиме цветения семена могут завязываться путём автогамии и/или апомиксиса, а между завязываемостью семян при беспыльцевом режиме и режиме цветения в условиях изоляции некастрированных цветков достоверных различий нет, то обоснованно считать, что все семена при последнем режиме цветения завязались апомиктичным путём и растения этого вида не способны к автогамии.

Таблица 3

Семенная продуктивность  
в двух популяциях *Artemisia salsaloides* в 2009 г.

Условный номер популяции и вид	Район сбора	Завязываемость семян (%) при		
		свободном цветении	возможности самоопыления	беспыльцевом режиме
496 <i>A. salsaloides</i>	Хвалынский	$31,91 \pm 4,07$	$25,86 \pm 6,84$	$18,71 \pm 6,03$
626 <i>A. salsaloides</i>	Красноармейский	$18,90 \pm 3,57$	$8,08 \pm 2,23$	$7,96 \pm 2,25$

Из того факта, что реальная семенная продуктивность при свободном цветении в популяциях *A. salsaloides* была на уровне  $31,91 \pm 4,07$  и  $18,90 \pm 3,57\%$  соответственно, а семенная продуктивность при беспыльцевом режиме цветения была на уровне  $25,86 \pm 6,84$  и  $8,08 \pm 2,23\%$  соответственно, обоснованно полагать, что в популяции № 496 все семена при свободном цветении завязались апомиктичным путём, т.е. растения популяции близки к облигатно апомиктичным, а в популяции № 626 около половины семян завязалась апомиктичным путём, т.е. реальная частота апомиксиса в популяции в год наблюдения была на уровне около 50%.

У растений популяций *A. lerchiana*, *A. dracunculus* и *A. glauca* примерно в полови-

не исследованных семязачатков наблюдали необычную структуру клеток интегументального тапетума: зачастую часть из них была аномально крупная с большим, хорошо окрашивающимся ядром, что, на наш взгляд, указывает на их склонность развития по пути апоспорических инициалей.

Таким образом, из 14-ти исследованных видов в популяциях *A. lerchiana*, *A. santonica*, *A. sieversiana*, *A. pontica*, *A. marcshalliana*, *A. pauciflora* не было отмечено семязачатков с признаками апомиктичного развития. Исследованные популяции этих 6-ти видов следует считать облигатно амфимиктичными.

Популяции 5-ти из 14-ти исследованных видов (*A. vulgaris*, *A. salsaloides*, *A. dracunculus*, *A. glauca*, *A. austriaca*) характеризуются высокой (не менее 20–30%) частотой гаметофитного апомиксиса у растений, а три вида (*A. abrotanum*, *A. absinthium*, *A. armenica*) характеризуются более низкой (10–15%) частотой гаметофитного апомиксиса. Учитывая, что изучены семязачатки на ранних стадиях развития мегagamетофита, следует полагать, что частота проявления гаметофитного апомиксиса у растений этих трех видов существенно выше установленной эмбриологически. Высокая доля дегенерирующих эуспорических мешков в присутствии апоспорических инициалей или продуктов их развития указывает на то, что именно зародышевые мешки апоспорической, а не эуспорической природы часто достигают стадии зрелости и на их основе формируются апомиктичные семена. Результаты исследования семенной продуктивности растений популяции *A. salsaloides* подтверждают наличие гаметофитного апомиксиса, причём частота апомиксиса при выявлении по семенной продуктивности оказалась действительно выше, чем при выявлении по цитозембриологическим признакам апомиксиса (на уровне 50–100%). У всех восьми указанных видов способность к апомиктичному способу репродукции обнаружена впервые.

У растений популяций *A. abrotanum*, *A. salsaloides*, *A. armenica* и *A. glauca* помимо клеток, подобных апоспорическим инициалам, наблюдали и другие признаки апомиксиса, такие как преждевременная эмбриония,



развитие эндосперма без оплодотворения и развитие проэмбрио и эндосперма без оплодотворения. Это говорит о том, что растениям этих популяций свойствен не только апомейоз в виде апоспории, но и партеногенез, как второй обязательный элемент регулярных форм апомиксиса.

Особенности развития клеток интегументального тапетума в семязачатках растений *A. lerchiana*, *A. santonica* и *A. glauca* указывают на возможность обнаружения при более обширных исследованиях способности к гаметофитному апомиксису и у этих видов.

Полученные результаты показывают, что род *Artemisia* должен быть отнесён к числу высоко апомиктичных. О потенциальных масштабах распространения способности к апомиксису среди видов рода можно судить из следующего факта. Если ранее при изучении единичных растений примерно десяти видов рода способность к гаметофитному апомиксису была обнаружена у двух видов, то при популяционном уровне исследований лишь 14-ти видов рода эта способность отмечена у растений восьми видов рода. Не исключено, что при повторном более пространным изучении популяций и тех десяти ранее исследованных видов гаметофитный апомиксис будет установлен у гораздо большего их числа. По крайней мере, для ранее эмбриологически исследованного вида *A. absinthium* [8] результаты нашего исследования растений популяции этого вида из Аткарского района Саратовской области однозначно указывают на способность мегагаметофита к апоспорическому развитию. Доля же исследованных в отношении способа семенного размножения видов рода *Artemisia* на сегодняшний день составляет не более 4%, что говорит о чрезвычайно слабой изученности видов рода в отношении способа семенного размножения. Экстраполируя полученные данные на весь род, обоснованно предполагать, что при детальном исследовании до 50–60% видов рода *Artemisia* могут оказаться апомиктичными.

Определение видовой принадлежности исследованных образцов осуществлено проф. М.А. Березуцким (СГУ).

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант 08-04-00319).

#### Список литературы

1. Леонов Т. Г. Род *Artemisia* // Флора европейской части СССР. СПб., 1994. Т. VII. С. 150–161.
2. Хохлов С. С. Эволюционно-генетические проблемы апомиксиса у покрытосеменных растений // Апомиксис и селекция. М., 1970. С. 7–21.
3. Хохлов С. С., Зайцева М. И., Куприянов П. Г. Выявление апомиктичных растений во флоре цветковых растений СССР. Саратов, 1978. 224 с.
4. Carman J. G. Gametophytic angiosperm apomicts and the occurrence of polyspory and polyembryony among their relatives // *Apomixis Newsletter*. 1995. № 8. P. 39–53.
5. Carman J. G. Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispority, tetraspory, and polyembryony // *Biol. J. Linn. Soc.* 1997. Vol. 61. P. 51–94.
6. Chiarugi A. Aposporia e apogamia in *Asterae nitida* Bertol. // *Nuovo Giorn. Bot. Ital, Nuova Ser.* 1926. Vol. 33. P. 501–626.
7. Сравнительная эмбриология цветковых. *Davidiaceae – Asteraceae* / отв. ред. Т. Б. Батыгина, М. С. Яковлев. Л., 1987. 392 с.
8. Руми В. А. Развитие зародышевого мешка у некоторых среднеазиатских полыней // *Бюл. Академии наук УзССР*. 1947. № 2. С. 20–22.
9. Коньчева В. И. О цветении полыней *Artemisia turanica* Krasch. и *A. diffusa* Krasch. ex Poljak. // *Бот. журн.* 1966. Т. 51, № 4. С. 567–570.
10. 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.
11. Куприянов П. Г. Способ приготовления препаратов зародышевых мешков // *Бюл. изобр.* 1982. № 14. А. с. 919636. С. 7.
12. Еленевский А. Г., Радыгина В. И., Буланый Ю. И. Определитель сосудистых растений Саратовской области (Правобережье Волги). М., 2001. 278 с.
13. Паушева А. Г. Практикум по цитологии растений. М., 1980. 304 с.
14. Кашин А. С., Шишкинская Н. А. Апомиксис. Саратов, 1999. 102 с.
15. Кочанова И. С. Особенности системы семенного размножения у представителей семейства Asteraceae в Саратовской области: дис. ... канд. биол. наук. Саратов, 2008. 140 с.