

Результаты чужеродного опыления видов вишни (*Prunus* L.) в связи с возможностью агамоспермного размножения

The results of cherry species (*Prunus* L.) alien pollination in connection with the possibility of agamosperm reproduction

Мочалова О. В.

Mochalova O. V.

Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий, г. Барнаул, Россия. E-mail: mochalov.olga@yandex.ru
Federal Altaic Scientific Centre of Agrobiotechnologies, Barnaul, Russia

Реферат. Агамоспермное (бесполое) размножение наряду с обычным половым размножением достаточно широко распространено в семействе розоцветных (*Rosaceae* Juss.) и дает ряд преимуществ для репродукции семенного потомства в неблагоприятных природных условиях. Отдаленная гибридизация и полиплоидия являются генетическими механизмами, благоприятствующими развитию семян без оплодотворения. Для видов косточковых растений, в филогении которых эти два фактора играют решающую роль, важно оценить возможность наличия псевдогамного типа апомиксиса, требующего для развития семян обязательного нанесения пыльцы на рыльце. Целью проведенных исследований было изучить результаты чужеродного опыления для дикорастущих и культурных видов вишни (*Prunus pensylvanica* L., *P. maackii* Rupr., *P. fruticosa* Pall., *P. cerasus* L.) в связи с перспективой включения агамоспермных генотипов в селекционные скрещивания. Возможность псевдогамной репродукции выявлена только для дикорастущей *P. fruticosa*.

Ключевые слова. Апомиксис, вид, вишня, завязываемость семян, чужеродное опыление.

Summary. Agamosperm (asexual) reproduction, along with conventional sexual reproduction, is quite widespread in the *Rosaceae* Juss. family. It provides several advantages for successful seed progeny reproduction in unfavorable natural conditions. Remote hybridization and polyploidy are genetic mechanisms, which favor to the development of seeds without fertilization. For species of stone plants, in the phylogeny of which these two factors play a decisive role, it is important to assess the possibility of the presence of a pseudogamous type of apomixes, which requires the obligatory pollen application on the stigma for seed development. The aim of the investigation was to study the results of alien pollination for 4 wild and cultivated cherries (*Prunus pensylvanica* L., *P. maackii* Rupr., *P. fruticosa* Pall., *P. cerasus* L.) in connection with the prospect of including the agamosperm genotypes in breeding crosses. The possibility of pseudogamous reproduction was revealed only for wild *P. fruticosa*.

Key words. Apomixes, species, cherry, seed setting, alien pollination.

Общеизвестно, что половое размножение с участием двух типов гамет и обязательным оплодотворением является базовым цитогенетическим механизмом для создания генетического разнообразия у покрытосеменных растений. В семействе розоцветных также достаточно широко распространено и агамоспермное (апомиктическое) размножение, когда завязывание семян происходит без оплодотворения (Поддубная-Арнольди, 1976). Наличие и активность такого репродуктивного механизма бывает трудно отследить по внешним фенотипическим проявлениям в потомстве, поэтому его формообразующая роль и частота встречаемости в разных растительных таксонах полностью не выяснены. Несмотря на то, что бесполое размножение характеризуется меньшей степенью генетической изменчивости признаков в потомстве, чем половое, имеется и его положительная особенность, позволяющая апомиктическим генотипам лучше приспосабливаться к неблагоприятным факторам внешней среды (Петров, 1972; Поддубная-Арнольди, 1976; Hanna, 1995). В частности, у розоцветных растений встречаются индивиды с гибким репродуктивным поведением, когда половое и бесполое размножение сменяют друг друга в зависимости от внешних погодных обстоятельств. Или же у одного растения в разных цветках

эти оба типа семенной репродукции могут проявляться одновременно, но независимо друг от друга (Hanna, 1995; Singh et al., 2011).

Выяснено, что у видов рода *Prunus* L. очень редко встречается автономный апомиксис (апоспория, партеногенез), не требующий опыления и дающий семенное потомство по фенотипическим признакам полностью подобное матери. Гораздо чаще распространен псевдогамный апомиксис, требующий обязательного нанесения пыльцы на рыльце и оплодотворения центрального ядра для биохимической стимуляции запуска генетических механизмов агамоспермии (Петров, 1972; Колотева, Жуков, 1975). Этот тип апомиксиса контролируется генами, которые активизируются неблагоприятными факторами внешней среды, и он сопровождается некоторой степенью расщепления генетических признаков в потомстве (Hanna, 1995; Singh et al., 2011).

Известно, что и автономный, и псевдогамный типы апомиксиса чаще встречается у полиплоидных культурных видов косточковых растений, имеющих гибридное происхождение, по сравнению с диплоидными дикорастущими видами (Петров, 1972; Hanna, 1995; Singh et al., 2011). Замечено (Остапенко, Жуков, 1981), что агамоспермия имеет положительную корреляцию с таким ценным селекционным признаком, как самоплодность (в узком смысле слова – способностью оплодотворения собственной пыльцой). Поэтому для того, чтобы выяснить репродуктивный механизм происхождения семян, исследователям необходимо провести серию опылений по разным схемам, где контролем для выявления наличия автономного типа апомиксиса является надежная изоляция с удалением у цветков пыльников и без всякого нанесения пыльцы на рыльце. Для исключения или подтверждения возможности самоопыления проводится изоляция не кастрированных цветков. Наличие псевдогамного типа апомиксиса обычно выявляется после нанесения на рыльца чужеродной пыльцы, но со способностью прорасти на рыльце кастрированных цветков, т. е. пыльцы филогенетически близкого рода. Главным контролем для выявления верхних границ завязываемости семян у данного генотипа в данных природных условиях являются показатели процента свободной завязи (свободное опыление).

Целью проведенных исследований было выявить степень завязываемости плодов при чужеродном опылении двух дикорастущих и двух культурных видов вишни при сравнении с другими вариантами опыления для отбора форм предположительно склонных к псевдогамному типу завязывания семян и для последующего использования этих генотипов в селекционных скрещиваниях.

Материал и методы исследований. Опыление цветков по разным схемам было проведено в 2014–2015 гг. В исследование взяты генотипы четырех видов вишни, высаженных в дендрарии или на опытных участках отдела НИИСС ФГБНУ ФАНЦА. К ним относятся: диплоидный американский вид *Prunus pensylvanica* L. (один генотип), тетраплоидный дальневосточный вид *P. maackii* Rupr. (один генотип), тетраплоидный евро-азиатский вид *P. fruticosa* Pall. (два генотипа) и тетраплоидный европейский культурный вид *P. cerasus* L. (один генотип). Для чужеродного типа опыления использована пыльца черемухи обыкновенной *P. padus* L. Известно, что этот вид не скрещивается с другими видами косточковых растений и истинных черемухово-вишневых гибридов к настоящему времени в дикорастущих и культурных насаждениях не выявлено. Следовательно, завязавшиеся семена будут иметь вероятное апомиксическое происхождение. Для чужеродного опыления были взяты кастрированные по пыльникам цветки, помещенные под плотные марлевые изоляторы. Для выявления возможности самоопыления своей пыльцой использовали некастрированные цветки, также с использованием изоляторов. Также учитывался процент завязываемости плодов и семян при свободном опылении без всякой изоляции и вариант полной изоляции кастрированных цветков без нанесения пыльцы. Всего в каждом варианте было использовано не менее 50 цветков. Элементами учета послужили два показателя: процент завязываемости плодов (семян) от количества взятых в опыт цветков; процент опавших ко времени второй ревизии мелких плодов относительно к первоначальному количеству, выявленному при первой ревизии. Первая ревизия проведена через две недели после опыления и вторая ревизии – перед началом окрашивания плодов.

Результаты. Для выведения новых сортов вишни, сочетающих ценные признаки от разных по числу хромосом географически отдаленных видов, очень важно понимать генетическое происхождение

ние женских гамет, участвующих в формировании гибридных или не гибридных зародышей. Предварительный отбор генотипов, способных включить в репродуктивный процесс яйцеклетки апомиктического происхождения, можно провести только по итогам использования разных схем опыления (или полного отсутствия опыления) с анализом семенного потомства по числу хромосом и по его внешним фенотипическим признакам. Результаты проведенного нами опыта показали, что вероятность участия апомиктических женских гамет в формировании полноценных плодов у исследованных видов вишни очень низка. Только у дикорастущей вишни степной 'Роцинская № 3' были сняты в 2014 г. 3 созревших плода от чужеродного опыления и в 2015 г. 2 созревших плода в опыте без всякого опыления, что соответственно составило 2,4 % и 1,8 % от числа задействованных цветков. У остальных генотипов конечные результаты по завязыванию плодов с опылением рылец чужеродной пыльцой черемухи обыкновенной и при полном отсутствии всякого опыления были отрицательными (табл. 1).

Таблица 1

Завязываемость плодов (%) в разных схемах опыления видов вишни (*Prunus* L.), 2014–2015 гг.

Материнская форма (число хромосом)	Вариант опыления	I ревизия		II ревизия	
		2014 г.	2015 г.	2014 г.	2015 г.
<i>P. pensylvanica</i> (2x = 16) дикорастущая	Свободное	15,6	10,6	11,3	8,9
	Самоопыление	0	1,8	0	1,8
	Чужеродное	0	3,8	0	0
	Без опыления	0	0	0	0
<i>P. maackii</i> (2x = 32) дикорастущая	Свободное	14,0	4,6	11,3	3,9
	Самоопыление	0	0	0	0
	Чужеродное	0	0	0	0
	Без опыления	0	0	0	0
<i>P. fruticosa</i> (4x = 32) дикорастущая 'Роцинская № 3'»	Свободное	39,7	49,0	13,9	22,1
	Самоопыление	18,6	9,8	6,8	1,5
	Чужеродное	45,7	16,3	2,4	0
	Без опыления	29,2	5,5	0	1,8
<i>P. fruticosa</i> (4x = 32) сорт 'Алтайская Ласточка'	Свободное	19,2	24,9	9,9	12,1
	Самоопыление	18,0	10,8	0	0
	Чужеродное	5,9	3,0	0	0
	Без опыления	0	0	0	0
<i>P. cerasus</i> (4x = 32) сорт 'Любская'	Свободное	21,2	9,9	11,9	7,1
	Самоопыление	11,9	0	2,0	0
	Чужеродное	23,5	17,5	0	0
	Без опыления	28,5	12,7	0	0

Вероятная генетическая способность дикорастущей формы *P. fruticosa* к автономному и псевдогамному типу апомиксиса возможно обусловлена: во-первых, аллополиплоидным происхождением этого вида, а во-вторых, тем, что она была отобрана в естественной среде березовой колки в Немецком районе близко к Казахстанской границе. Вероятно, такая вишня более адаптивно приспособлена к температурным перепадам и обеспеченностью влагой, чем культурные генотипы, или же дикорастущие в более влажных условиях американский диплоидный и дальневосточный тетраплоидный виды вишни.

Выявлена индивидуальная видовая и генотипическая реакция на погодные условия года опыления. В целом завязываемость плодов, выявленная во всех вариантах опыления (как при первой, так и при второй ревизии) в 2015 г., была хуже по сравнению с 2014 г. Исключение составили только отобранная в естественной среде произрастания вишня степная 'Роцинская № 3' и сорт 'Алтайская Ласточка'. У них в 2015 г. по сравнению с 2014 г. завязалось больше плодов в вариантах самоопыления, чужеродного опыления и без опыления. Однако при свободном опылении цветков у этих же генотипов лучшие результаты были в 2014 г., как и у других видов вишни. У дикорастущих видов вишни *P. pensylvanica* и *P. maackii*, независимо от их числа хромосом, практически не выявлена генетическая склонность к дру-

тому варианту опыления, кроме свободного опыления. У тетраплоидных сортов вишни степной *P. fruticosa* и вишни обыкновенной *P. cerasus* мелкие плоды завязывались в разной степени практически во всех вариантах опыления и даже без опыления. Тетраплоидная отобранная в природных условиях вишня степная 'Рощинская № 3' показала самую высокую степень завязываемости плодов почти во всех вариантах опыления, но особенно при чужеродном опылении пыльцой черемухи (табл. 1).

Необходимо отметить, что у всех исследованных генотипов вишни на первых этапах после оплодотворения происходит некоторый рост и развитие завязей, которые к началу первой ревизии достигают условно «крупной», «средней» или «мелкой величины». Однако к началу второй ревизии многие из этих завязей осыпаются, и степень их осыпания во многом определяется как генотипом, так и примененной схемой опыления. Меньше всего таких недоразвитых завязей гибнет при свободном опылении – от 0 до 60,2 % к их количеству, подсчитанному при первой ревизии (табл. 2). При опылении собственной пыльцой прекращают развитие значительное большее количество таких завязей – от 66,6 до 100 %. На удивление, в наших опытах вообще не найдено плодов от самоопыления цветков сорта вишни степной 'Алтайская Ласточка' (этот сорт считается частично самоплодным). При чужеродном опылении и без опыления опадали 100 % первоначально развивающихся мелких завязей, за исключением 'Рощинской № 3' – 93,8–96,3 % соответственно.

Таблица 2

Степень осыпания мелких плодов при разных схемах опыления у видов *Prunus* L., 2014–2015 гг.

Материнская форма (число хромосом)	Вариант опыления	Завязалось плодов*, шт.		Осыпалось плодов*	
		I ревизия	II ревизия	шт.	%
<i>P. pensylvanica</i> (2x = 16) дикорастущая	Свободное	22	20	2	8,9
	Самоопыление	6	2	4	66,6
	Чужеродное	4	0	4	100
	Без опыления	0	0	0	0
<i>P. maackii</i> (2x = 32) дикорастущая	Свободное	26	26	0	0
	Самоопыление	16	0	16	100
	Чужеродное	0	0	0	0
	Без опыления	0	0	0	0
<i>P. fruticosa</i> (4x = 32) дикорастущая 'Рощинская № 3'»	Свободное	196	78	118	60,2
	Самоопыление	57	18	39	68,4
	Чужеродное	80	3	77	96,3
	Без опыления	32	2	30	93,8
<i>P. fruticosa</i> (4x = 32) сорт 'Алтайская Ласточка'	Свободное	60	19	31	22,1
	Самоопыление	0	0	0	0
	Чужеродное	8	0	8	100
	Без опыления	7	0	7	100
<i>P. cerasus</i> (4x = 32) сорт 'Любская'	Свободное	36	15	21	58,3
	Самоопыление	12	2	10	83,3
	Чужеродное	27	0	27	100
	Без опыления	15	0	15	100

Примеч.: * – суммарное количество плодов за 2014 и 2015 гг.

Цитозембриологическая природа опадающих недоразвитых завязей остается открытой. В данном случае не исключено формирование не только апомиктических, но и партенокарпических бессемянных плодов. Гибридная природа и генетическая несовместимость родительских генотипов, как и неблагоприятное влияние погодных условий во время начальных стадий деления зиготы и формирования зародыша здесь также могут иметь место. В плане прояснения этого вопроса требуются дополнительные исследования.

Таким образом, возможность автономного типа апомиксиса (завязывания плодов без опыления) совершенно не подтверждается у двух видов – *P. pensylvanica* и *P. maackii*. Напротив, у двух генотипов

вишни степной и одного генотипа вишни обыкновенной (как известно, в филогении этого вида тоже участвовала вишня степная) в этом варианте опыта развивается некоторое количество недоразвитых и, возможно, апомиктических мелких плодов (5,5–28,5 % к количеству завязей, выявленных при первой ревизии). Однако затем они останавливаются в развитии и, как правило, опадают.

Возможность развития единичных плодов с семенами до окончательного их созревания при чужеродном опылении и полном отсутствии опыления выявлена только у одного тетраплоидного вида вишни – *P. fruticosa*. При этом генетическая способность к апомиксису лучше сохраняется у дикорастущих генотипов вишни степной и, по-видимому, ослабевает у культурных сортов этого вида. Для сохранения мелких опадающих и созревших плодов от чужеродного опыления у вишни желательнее использовать эмбриокультуру *in vitro*.

ЛИТЕРАТУРА

- Колотеева Н. И., Жуков О. С.** Роль цитоэмбриологических исследований в селекции вишни // Труды ЦГЛ им. И. В. Мичурина. – Мичуринск, 1975. – Т. XVI. – С. 63–73.
- Колотеева Н. И., Жуков О. С.** Цитоэмбриологические исследования гибрида из группы церападусов в связи с апомиксисом // Труды ЦГЛ им. И. В. Мичурина. – Мичуринск, 1975. – Т. XVII. – С. 51–56.
- Остапенко В. И., Жуков О. С.** К вопросу о самооплодности и способности вишни к апомиктическому размножению // Наука – производству: тез. докл. к предстоящ. конф., посвящ. 125-летней годовщине со дня рождения И. В. Мичурина (13–15 ноября 1981 г.). – М., 1981. – С. 15–16.
- Петров Д. Ф.** Апомиктическое размножение и полиплоиды // Полиплоидия и селекция. – Минск, 1972. – С. 105–111.
- Поддубная-Арнольди В. А.** Цитоэмбриология покрытосеменных растений. – М.: Наука, 1976. – 507 с.
- Hanna W. W.** Use of Apomixes in Cultivar Development // Advances in agronomy, 1995. – Vol. 54. – P. 333–350. DOI: 10.1016/S0065-2113(08)60903-7
- Singh S., Dhyani D., Ahuja P. S.** Apomixes in Plants – Embryology, Genetics and Molecular Basis // J. Cell & Plant Sci., 2011. – № 2(1). – P. 24–31.