

Анализ фертильности пыльцы в ценопопуляциях видов рода *Alyssum* L. на Южном Урале

Analysis of pollen fertility of coenopopulations of the genus *Alyssum* L. in the Southern Urals

Ночевный А. Д., Тептина А. Ю.

Nochevnyi A. D., Tepkina A. Yu.

Уральский федеральный университет, г. Екатеринбург, Россия. E-mails: Klikerov55@yandex.ru; atepkina@gmail.com

Ural Federal University, Yekaterinburg, Russia

Реферат. В данном исследовании анализировалась фертильность двух видов петрофитных рода *Alyssum* – *A. obovatum* и *A. tortuosum* в популяциях на Южном Урале. В ходе исследования были изучены линейные размеры пыльцевых зерен, фертильность пыльцы и проведено сравнение популяций в загрязненных и незагрязненных местообитаниях. Нами было установлено, что в природных популяциях видов сохраняется высокий уровень фертильности пыльцы, хотя уровень фертильности пыльцы *A. tortuosum* был несколько ниже по сравнению с *A. obovatum*. В загрязненном местообитании было обнаружено утолщение экзины пыльцевых зерен.

Ключевые слова. Антэкология, пыльцевые зерна, петрофитные виды, серпентинитовые почвы, фертильность пыльцы, *Alyssum*.

Summary. This study analyzed the fertility of two species of petrophytic genus *Alyssum* – *A. obovatum* and *A. tortuosum* in populations in the Southern Urals. The study examined linear sizes of pollen grains, pollen fertility, and population comparisons in contaminated and non-polluted habitats. We found that pollen fertility remains high in natural populations of species, although pollen fertility level of *A. tortuosum* was slightly lower compared to *A. obovatum*. In a contaminated habitat, a thickening of the exine of pollen grains was found.

Key words. *Alyssum*, antecology, petrophytic species, pollen grains, pollen fertility, serpentinite soil.

Репродуктивная биология растений является особой научной проблемой, включающей комплексное исследование репродукционных процессов и их динамики. Эффективность репродукции является одним из важнейших критериев, отражающих способность к естественному возобновлению в условиях обитания в разных частях ареала. Несмотря на то, что признаки репродуктивной сферы довольно консервативны, сравнительные исследования вскрывают специфические особенности видов и отражают степень адаптированности особей ценопопуляций к условиям произрастания. Особое внимание выделяется влиянию экологических факторов на репродуктивную сферу растений. Параметры репродуктивной сферы используются для оценки состояния популяций вида в конкретных условиях обитания. Выявление взаимосвязей половой организации растений с их биологическими особенностями и экологическими условиями обитания может способствовать решению ряда фундаментальных и практических вопросов, связанных с выяснением эволюционных причин разделения полов у растений и оценкой адаптационного потенциала видов растений. Так, изучение влияния антропогенных факторов на репродуктивную систему раскрывает возможности адаптации видов в условиях меняющейся среды (Кутлунина и др., 2006).

Исследование репродуктивных особенностей редких видов является одним из ключевых подходов в оценке перспектив существования популяций редких видов и разработки подходов к их сохранению. Также актуально исследование биологии пыльцы в случае существования у вида различных внутривидовых различий, таких как подвиды, половые формы и др. (Грант, 1984).

Объектом исследования были выбраны представители рода *Alyssum*, распространенные в петрофитно-степных сообществах на ультраосновных породах на Урале. Биология видов рода *Alyssum* в России слабо изучена, в отличие от их европейских родственников, в основном исследования связаны с мониторингом «краснокнижных» видов (Красная книга РФ, 2008). Одной из причин этого может быть редкость видов, ограниченных в своем распространении специфическими петрофитными местообитаниями.

Виды рода *Alyssum* являются гипераккумуляторами никеля и вследствие чего обладают высокой протеасомной активностью и сопротивляемостью к окислительному стрессу в целом, изучение которых может дать полезные результаты как для фитоэкстракции никеля на территории России, так и для восстановления загрязненных почв (Kakavand et al., 2018). Эти свойства являются причиной для проведения исследования данных видов с целью дальнейшего практического применения в фиторемедиации.

Общеизвестно, что репродуктивная сфера является наиболее уязвимой к воздействию внешних факторов. Т. Б. Батыгина отмечает, что неблагоприятные факторы среды оказывают влияние на процесс формирования генеративных органов и снижает продуктивность особей (Эмбриология ..., 1994). Считается, что на фертильность пыльцы влияет физиологическое состояние растений (Назарова, Истомина, 1994), процесс формирования пыльцевых зерен находится под контролем температурного стресса, условий года и особенностей генотипа (Демьянова, 2011), на жизнеспособность пыльцы культурных растений существенное влияние оказывает агротехника выращивания (Камелина, 1981).

В целом репродуктивная сфера изучаемых нами видов не была исследована ранее, в отличие от западных и южных родственных видов, для которых изучен весь спектр особенностей пыльцы – размеров пыльцевых зерен, количества складок и пор в мембране пыльцевых зерен и другие репродуктивные параметры особей. Было установлено, что для рода *Alyssum* характерны пыльцевые зерна различной формы – сферические и трехгранные, субугольные и изополярные пролиферативно-сфероидальные и пролиферативные (Başer et al., 2018).

В работе были проанализированы два вида рода *Alyssum* – *A. obovatum* (С. А. Mey.) Turcz. и *A. tortuosum* Waldst. et Kit ex Willd., входящие в секцию *Odontarrhena* С. А. Mey., распространенные на Урале. *A. obovatum* – многолетний полукустарничек (до 15 см выс.) с многочисленными восходящими стеблями, опушенный звездчатыми волосками. Листья обратнойцевидные, удлиненные. Цветки мелкие желтые собраны в компактные кисти. Обитает на каменистых и галечниковых субстратах. Распространен в Сибири, на севере европейской части России, Средней и Центральной Азии, Дальнем Востоке и Северной Америке. На Урале приурочен к каменистым местообитаниям со слабо развитым почвенным покровом на разных типах горных пород, является факультативным серпентинофитом. Популяции, обитающие на ультраосновных породах, являются гипераккумуляторами никеля (Тептина, Пауков, 2012).

A. tortuosum – многолетний полукустарничек (до 30 см выс.) с многочисленными прямостоячими, при основании извилистыми, густо опушенными звездчатыми волосками, стеблями. Листья цельнокрайние, узкообратнойцевидные. Цветки мелкие, в кистевидных соцветиях. Обитает на каменистых и песчаных степных склонах. Распространен на Кавказе, в Крыму, Центральной Европе, Центральной Азии и на Балканах. На ультраосновных породах является аккумулятором никеля, в южных популяциях показывает гипераккумуляторные способности (Тептина, Пауков, 2012). Эти виды не имеют четких морфологических различий, но хорошо отличаются экологически: *A. obovatum* приурочен к горно-лесному поясу Урала, а *A. tortuosum* встречается в пределах степной зоны.

Сбор материала производился на Южном Урале в пределах Челябинской и Оренбургской областей и Республики Башкортостан, на ультраосновных (серпентинитовых) горных породах. Особенностью ценопопуляции на близ г. Карабаш (№ 240 / 1) являлся высокий уровень атмосферного загрязнения. Материал был собран в шести географических точках, где были исследованы тринадцать ценопопуляций *A. obovatum* и шесть – *A. tortuosum* (табл. 1).

Серпентинитовые почвы характеризуются физическими и химическими особенностями, неблагоприятными для растений, которые проявляются в так называемом «серпентинитовом синдроме» (Jenny, 1980), связанном с высоким содержанием Mg и Fe, сдвигом соотношения Mg/Ca в пользу Mg,

относительно высокими концентрациями Ni, Cr и Co, обладающими токсическим эффектом на растения, а также низким содержанием основных питательных элементов (N, P и K) (Proctor, 1971).

Таблица 1

Географическое положение ценопопуляций видов *Alyssum obovatum* и *A. tortuosum* на Урале

Вид	№ описания / № ценопопуляции	Географическая характеристика	Координата
<i>A. obovatum</i>	240 / 6	Челябинская обл., близ города Карабаш, гора Золотая	N55°29.162' E60°15.217'
	148 / 5	Челябинская обл., близ города Кыштыма, гора Егоза	N55°45.059' E60°26.957'
	149 / 5		N55°44.919' E60°26.809'
	150 / 5		N55°45.014' E60°27.056'
	382 / 5		N55° 45.141' E60°26.928'
	383 / 5		N55° 45.037' E60°26.990'
	384 / 5		N55° 45.029' E60°26.994'
	381 / 4	Республика Башкортостан, близ поселка Учалы, гора Калкан	N54° 25.777' E59°20.393'
	371 / 1	Республика Башкортостан, Белорецкий р-н, близ деревни Шигаево	N53° 48.547' E58°11.419'
	373 / 1		N53° 48.597' E58°11.330'
	374 / 1		N53° 48.646' E58°11.257'
	376 / 1		N53° 48.659' E58°11.261'
	377 / 1		N53° 48.718' E58°11.197'
	<i>A. tortuosum</i>	353 / 2	Оренбургская обл., Гайский р-н, близ деревни Новокиевка
356 / 2		N51° 28.661' E58°09.952'	
365 / 3		Оренбургская обл., Гайский р-н, близ деревни Аккермановка	N51° 11.231' E58°08.694'
366 / 3			N51° 11.252' E58°06.977'
367 / 3			N51° 11.212' E58°06.994'
370 / 3		Оренбургская обл., Гайский р-н, близ деревни Хабарное	N51° 06.570' E58°06.465'

Целью данной работы было изучение уровня фертильности пыльцы в ценопопуляциях двух уральских многолетних видов из рода *Alyssum* – *A. obovatum* (С. А. Mey.) Turcz. и *A. tortuosum* Waldst. et Kit. В ходе работы были изучены фертильность пыльцы, основные характеристики пыльцевых зерен и проведена сравнительная оценка их взаимосвязи с параметрами среды.

Сбор и фиксация материала были проведены летом 2017 г. Число образцов в каждом описании варьировало от 5 до 11. Фиксация материала выполнена с использованием раствора Кларка (3 части этилового спирта-ректификата 96 %: 1 часть ледяной уксусной кислоты), который широко применяется в цитологических и эмбриологических исследованиях. Отобранные цветки фиксировали в пробирках с раствором Кларка (выдерживались в течение суток), далее фиксирующий раствор заменялся спиртом. Образцы хранились в холодильнике (при температуре 0–3° С). Исследования фертильности пыльцы проводились с использованием ацетокарминового метода окрашивания пыльцевых зерен (Паушева, 1988) с помощью светового микроскопа Olympus CX40 (Япония). Методика основана на различном окрашивании спермиев и цитоплазмы клеток пыльцевых зерен. К фертильной относили пыльцу с зернистой, окрашенной в темно-розовый цвет цитоплазмой с четко выделяемым более темным ядром вегетативной клетки. Стерильная пыльца обычно слабо окрашена, или ее внутреннее содержимое окрашено фрагментарно. К стерильной относили неокрашенную, сморщенную и поврежденную пыльцу. Подсчет числа пыльцевых зерен проводился в 10 полях зрения, в каждой ценопопуляции исследовалось от 5 до 11 растений, с каждого растения исследовалось по 5 цветков. Все полученные поля зрения фотографировались, подсчет и анализ в дальнейшем проводился с цифровыми фотографиями. Проводился статистический анализ базовых показателей, уровень вариации фертильности оценивался с помощью

коэффициента вариации (C_v), оценка достоверности различий между видами проводилась с использованием коэффициент Стьюдента.

Пыльца изученных видов сфероидальной формы, относится к группе мелких пыльцевых зерен (по Erdtman, 1992). Размеры пыльцы изученных видов составил 16–17 мкм для фертильных пыльцевых зерен и 10 мкм – для стерильных зерен. В одном местообитании близ города Карабаш размеры пыльцы *A. obovatum* значительно отличались от других точек и составили 20–21 мкм – для фертильных пыльцевых зерен и 14 мкм – для стерильных (рис. 1). Увеличение размеров пыльцевых зерен были связаны с утолщением экзины, возможно, это обусловлено повышенным уровнем атмосферного загрязнения, в частности медью. Виды рода *Alyssum* являются аккумуляторами / гипераккумуляторами никеля и обладают высокой протеазной активностью, но данных системы эволюционно рассчитаны только на никель и при возникновении другого типа загрязнения проявляют стандартные ответные реакции на стрессовые условия среды.

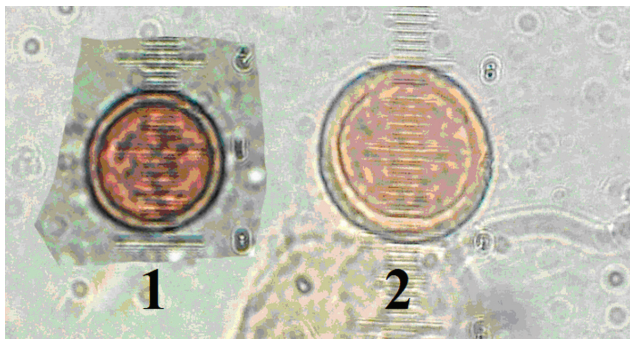


Рис. 1. Пример фертильных пыльцевых зерен *Alyssum obovatum* при увеличении 10×100 с иммерсионным маслом: 1 – оп. 1, 2 – оп. 6.

Анализ фертильности пыльцы показал, что в ценопопуляциях обоих видов уровень фертильности особей находится на высоком уровне, диапазон варьирования составляет от 82 % до 99 % (рис. 2). В популяциях *A. obovatum* (точки 1, 4, 5, 6) все популяции показывают высокий уровень фертильности, значения фертильности пыльцы варьировали от 95 до 99 % (табл. 2). Средний показатель фертильности пыльцевых зерен для вида составил 96 %. Коэффициент вариации составил 13 %. Загрязнение местообитаний медью незначительно влияет на фертильность особей, но находит свой отклик в изменении анатомии пыльцевых зерен.

В популяциях *A. tortuosum* (точки 2, 3) показатели фертильности пыльцы варьировали в диапазоне от 82 до 98 %. Южные популяции вида характеризовались относительно низким уровнем фертильности пыльцы (82–84 %) по сравнению с другими популяциями. Коэффициент вариации составляет 26 %. Средний показатель фертильности для вида составил 91 %.

В популяциях *A. tortuosum* (точки 2, 3) показатели фертильности пыльцы варьировали в

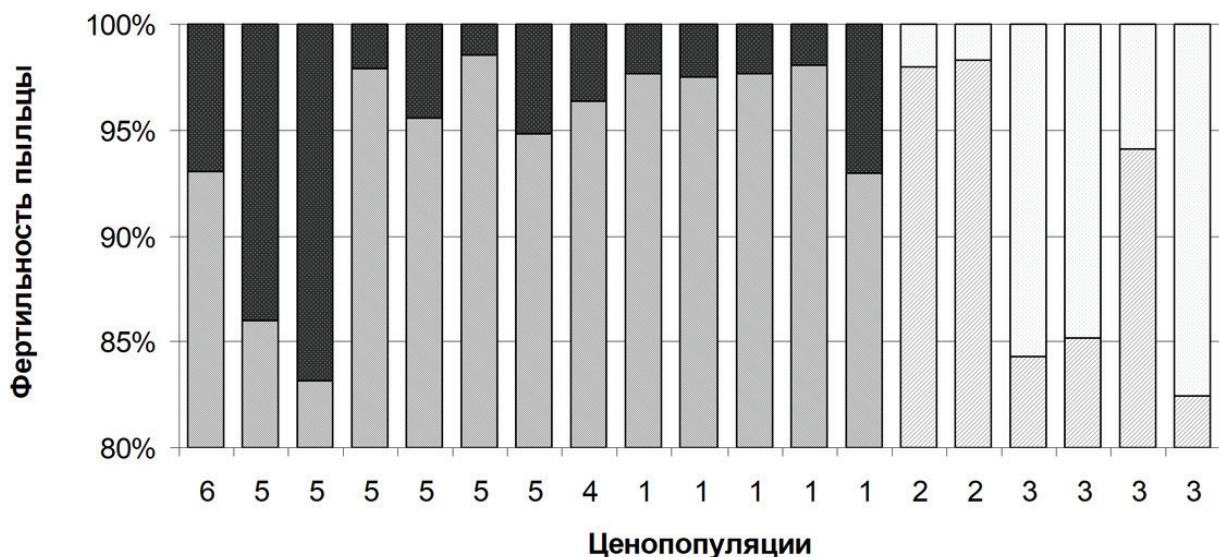


Рис. 2. Уровень фертильности пыльцы в популяциях видов *A. obovatum* (темно-серый) и *A. tortuosum* (светло-серый) (популяции на графике расположены с севера на юг).

Таблица 2

Значения фертильности пыльцы видов *Alyssum obovatum* и *A. tortuosum* на Южном Урале

№ описания / № ценопопуляции	Доля фертильных пыльцевых зерен, %	Ошибка среднего		Коэффициент вариации	
		фертильных пыльцевых зерен	стерильных пыльцевых зерен	фертильных пыльцевых зерен	стерильных пыльцевых зерен
<i>A. obovatum</i>					
240 / 6	93	5,02	0,64	0,14	0,35
148 / 5	86	2,86	1,30	0,10	0,27
149 / 5	83	4,47	1,30	0,15	0,22
150 / 5	98	4,95	0,34	0,16	0,52
382 / 5	96	4,45	0,84	0,16	0,62
383 / 5	99	4,50	0,45	0,17	0,33
384 / 5	95	4,50	0,45	0,17	0,33
381 / 4	96	4,12	0,53	0,15	0,50
371 / 1	98	5,37	0,17	0,20	0,26
373 / 1	97	3,89	0,27	0,11	0,37
374 / 1	98	5,90	0,16	0,18	0,21
376 / 1	98	5,32	0,16	0,14	0,21
377 / 1	93	4,35	0,74	0,12	0,23
<i>A. tortuosum</i>					
353 / 2	98	5,85	0,30	0,16	0,50
356 / 2	98	4,84	0,18	0,14	0,27
365 / 3	84	5,26	1,41	0,23	0,33
366 / 3	85	4,93	1,04	0,20	0,27
367 / 3	94	9,86	0,75	0,21	0,27
370 / 3	82	4,39	1,11	0,21	0,27

Таким образом, особи исследованных популяций обоих видов характеризуются высокими показателями фертильности пыльцы, что может говорить о том, что данные местообитания комфортны для данных видов. В целом, уровень фертильности пыльцы *A. tortuosum* был несколько ниже по сравнению с *A. obovatum*.

ЛИТЕРАТУРА

- Грант В.** Видообразование у растений. – М.: Мир, 1984 – 528 с.
- Демьянова Е. И.** Спектр половых типов и форм в локальных флорах Урала (Предуралья и Зауралья) // Бот. журн., 2011. – Т. 96, № 10. – С. 1297–1315.
- Камелина О. П.** Пыльник // Сравнительная эмбриология цветковых растений. Winteraceae – Juglandaceae. – Л.: Наука, 1981. – С. 18–21.
- Красная книга Российской Федерации.** – М.: КМК, 2008. – 854 с.
- Кутлунина Н. А., Жеребцова М. И., Зимницкая С. А.** Размер и качество пыльцевых зерен видов *Tulipa* (Liliaceae) и *Saxifraga* (Saxifragaceae) разной плоидности // Бот. журн., 2006. – Т. 91, № 11. – С. 1695–1704.
- Назарова М. Н., Истомина Е. А.** Влияние температурного стресса на особенности развития мужского гаметофита вишней войлочной // Материалы 1-го Съезда ВОГИС (г. Саратов, 20–25 декабря 1994 г.) // Генетика, 1994. – Т. 30. – С. 107.
- Паушева З. П.** Практикум по цитологии растений. – М.: Агропромиздат, 1988. – С. 271.
- Тептина А. Ю., Пауков А. Г.** Петрофитно-степная флора и растительность гипербазитов Южного Урала // Известия Самарского научного центра Российской академии наук, 2012. – Т. 14, № 1(7). – С. 1860–1863.
- Эмбриология цветковых растений.** Терминология и концепции / Т. Б. Батыгина (отв. ред.). – СПб.: Мир и семья, 1994. – Т. 1: Генеративные органы цветка. – 507 с.

Başer B., Baygeldi Z., Sahi B. Pollen morphology of some *Alyssum* L. (Brassicaceae) from Turkey // Bitlis Eren University Journal of Science and Technology, 2018. – Vol. 8(2). – Pp. 60–68.

Erdtman's Handbook of Palynology / Eds.: S. Nilsson, J. Pragłowski. – Copenhagen: Munksgaard, 1992. – 580 pp.

Jenny H. The Soil Resource. Origin and Behaviour. – Springer-Verlag., New York., USA, 1980. – 377 pp.

Kakavand S. N., Karimi N., Ghasempour H.-R. Salicylic acid and jasmonic acid restrains nickel toxicity by ameliorating antioxidant defense system in shoots of metalicolous and non-metallicolous *Alyssum inflatum* Náyr. Populations // Plant Physiology et Biochemistry, 2018. DOI: 10.1016/j.plaphy.2018.11.015.

Proctor J. Plant ecology of serpentine II. Plant response to serpentine soils // Journal of Ecology, 1971. – Vol. 59. – Pp. 397–410.