

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра генетики

**ОСОБЕННОСТИ ЭМБРИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ АНТАРКТИЧЕСКИХ
ПОПУЛЯЦИЙ *DESCHAMPSIA ANTARCTICA* DESV.**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 2 курса 241 группы

Направления 06.04.01 Биология


Биологического факультета

Абраменко Эвелины Геннадиевны

Научный руководитель

Зав. кафедрой генетики,


д. б. н., доцент

08.06.18 

О.И. Юдакова

Зав. кафедрой генетики

д.б.н., доцент

08.06.18 

О.И. Юдакова

Саратов 2018

ВВЕДЕНИЕ

Антарктика, по причине значительной удаленности от других материков и существования Полярного фронта, является крайне суровым и изолированным регионом планеты. Тем не менее, в особой климатической зоне — Морской Антарктике, на довольно значительных участках, свободных ото льда, распространены два вида цветковых растений — *Deschampsia antarctica* Desv. (Poaceae) и *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. (Caryophyllaceae).

Эти виды цветковых представляют большой научный интерес как объекты для изучения механизмов адаптации растений к крайне неблагоприятным условиям внешней среды и как исходный материал для селекции на устойчивость к низким температурам и недостатку влаги. В настоящее время ведутся довольно интенсивно исследования по различным аспектам физиологии и геоботанике *D. antarctica* и *C. quitensis*. В то же время эмбриология этих видов все еще остается недостаточно изученной.

Целью проведенного исследования явилось изучение особенностей семенной репродукции растений *D. antarctica*, произрастающих в Морской Антарктике.

Для достижения данной цели были поставлены и решены следующие задачи:

1. Изучить особенности строения женской генеративной сферы растений.
2. Провести анализ качества пыльцы растений.
3. Определить способ опыления растений на основе анализа соотношения количества пыльцевых зерен и семязачатков.
4. Провести сравнительный анализ эмбриологических особенностей растений *D. antarctica*, произрастающих на разных островах Морской Антарктики.

Магистерская работа состоит из следующих глав: введение, обзор литературы, материал и методы исследования, результаты исследования, заключение, выводы. Список использованных источников включает 94 работы, из них 76 работ на иностранных языках.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

1 Обзор литературы

В данном разделе магистерской работы приводится анализ литературы по вопросам, касающимся особенностей флоры Антарктиды (Герасимюк, 2008; Курбатова, 2014), биологии и репродукции цветковых растений Антарктиды (Billings, 1968; Moore, 1983; Komárkova, 1985; McGraw, 1997; Grawford, 2008; Gielwanowska, 2005; Langer, 2006; Parnikoza et al., 2007), адаптации цветковых растений Антарктики к неблагоприятным условиям произрастания (Karpen et al., 2002; Колесниченко, 2003; Olave-Concha et al., 2004; John et al., 2009; Матвеева, 2010), а также особенностям репродукции представителей семейства Злаки (Пономарев, 1968; Цвелев, 1976; Поддубная- Арнольди, 1982; Батыгина, 1987, 1990).

2 Материал и методы исследования

Материалом исследования послужили растения *D. antarctica*, произрастающие на островах Морской Антарктики (Аргентинских и Южных Шетландских островах). Растения были зафиксированы в местах их естественного произрастания в период цветения в 2014-2016 гг. в ходе Антарктической экспедиции НАН Украины. Фиксацию проводили ацетоалкоголем (3:1).

Качество пыльцы изучали на глицерин-желатиновых препаратах зрелой пыльцы, окрашенной кармином (Юдакова и др., 2012). Количество пыльцевых зерен в пыльниках определяли на давленных препаратах пыльников, окрашенных акридиновым оранжевым. Структуру семязачатков и зародышевых мешков анализировали на просветленных препаратах

семязачатков (Юдакова и др., 2012). Микроскопический анализ проводили на исследовательских микроскопах «AxioStar Plus» и «AxioScop» (C.Zeiss, Германия) при увеличении 15x40x0,65 и 10x40x0,75. Микрофотографирование осуществляли с помощью видеоадаптора Canon и программ визуализации изображения Zoombrauser и AxioVision. Измерение размеров пыльцевых зерен и подсчет их количества в пыльниках проводили с помощью модуля «Автоматическое измерение» программы визуализации изображения AxioVision.

Статистический анализ данных проводили с использованием программы STATISTIKA.

3 Результаты исследования

3.1 Особенности строения цветка растений антарктических популяций *D. antarctica*

У растений всех исследованных популяций цветки характеризовались типичным для злаков строением, он содержал одну завязь с одним семязачатком и три тычинки (рис.1). От большинства злаков *D. antarctica* отличалась небольшими размерами пыльников. Их длина составляла в среднем около 500 мкм, а ширина – около 300 мкм. В пыльниках также развивалось небольшое количество пыльцы – около 200 (рис.2) , соотношение количества пыльцевых зерен к количеству семязачатков (Pollen-ovule ratio, P/O) – 600 (табл.1, 2) , что позволяет отнести растения к факультативным автогамам. Однако в условиях Морской Антарктики потенции к перекрестному опылению у *D. antarctica*, скорее всего, не реализуются. На это указывают следующие факты: раскрытие цветковых чешуй во время цветения не наблюдалось, пыльники всегда оставались внутри цветка и располагались в непосредственной близости от рыльцев (рис.1). Такие особенности характерны для растений с экологической (факультативной) клейстогамии, при которой в неблагоприятных условиях среды опыление происходит в нераскрывшихся цветках.

Таблица 1 – Качество и морфометрические параметры пыльцы растений островных антарктических популяций *D. antarctica* (материал 2014 г.)

Место сбора	Средняя степень дефектности пыльцы, %	Размер пыльцевых зерен, мкм	Количество пыльцевых зерен, шт	Соотношение количества пыльцевых зерен к семязачаткам (P/O)
о. Барселот	13,8	25,4 ± 4,1	211,5 ± 72,8	634,5 ± 218,4
о. Галиндез	19,7	26,5 ± 3,5	190,6 ± 75,0	571,8 ± 225,0
о. Гротто	17,2	26,2 ± 3,5	182,0 ± 56,5	546,0 ± 169,5
о. Индикатор	40,0	28,6 ± 4,1	130,0 ± 57,9	390,0 ± 173,7
о. Расмусен	17,3	25,3 ± 3,9	193,7 ± 34,1	581,1 ± 102,3
о. Питерман	20,4	28,4 ± 4,5	111,6 ± 44,6	334,8 ± 133,8
о. Три маленьких поросенка	16,3	32,3 ± 5,3	88,5 ± 30,4	265,5 ± 91,2

Таблица 2 – Качество и морфометрические параметры пыльцы растений островных антарктических популяций *D. antarctica* (материал 2016 г.)

Место сбора	Средняя степень дефектности пыльцы, %	Размер пыльцевых зерен, мкм	Количество пыльцевых зерен, шт	Соотношение пыльцевых зерен к семязачаткам (P/O)
о. Галиндез (Мыс Магнит)	40,5	25,5 ± 2,6	149,1 ± 27,5	447,3 ± 82,5
о. Галиндез (центральная часть)	13,9	22,1 ± 2,9	186,7 ± 22,7	560,1 ± 68,1
о. Галиндез (берег пролива Стелла Крик)	16,4	22,9 ± 3,6	191,6 ± 41,0	574,8 ± 123

о. Галиндез (восточная часть)	36,7	$27,2 \pm 3,0$	$119,5 \pm 28,4$	$358,5 \pm 85,2$
о.Расмусен	28,6	$29,9 \pm 3,8$	$145,4 \pm 13,6$	$436,2 \pm 40,8$
о.Дарбо	64,6	$27,7 \pm 3,5$	$154,5 \pm 15,5$	$463,5 \pm 46,5$
о. Короля Георга	13,1	$25,5 \pm 2,7$	$127,0 \pm 25,1$	$381,0 \pm 75,3$

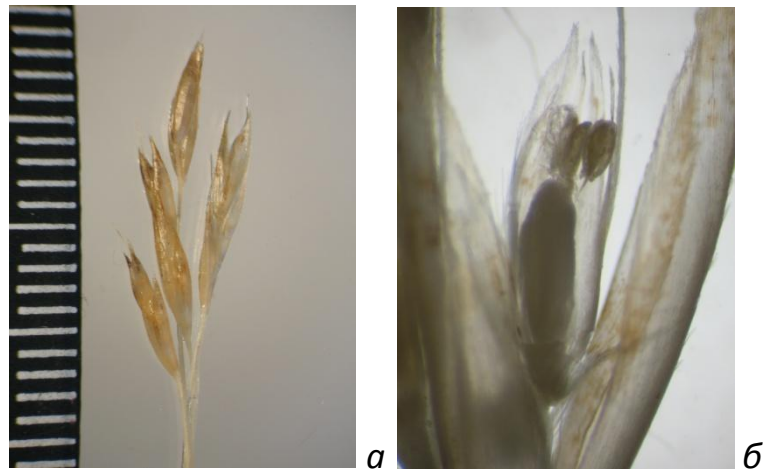


Рисунок 1 – Соцветие (а) и цветок (б) *D. antarctica*

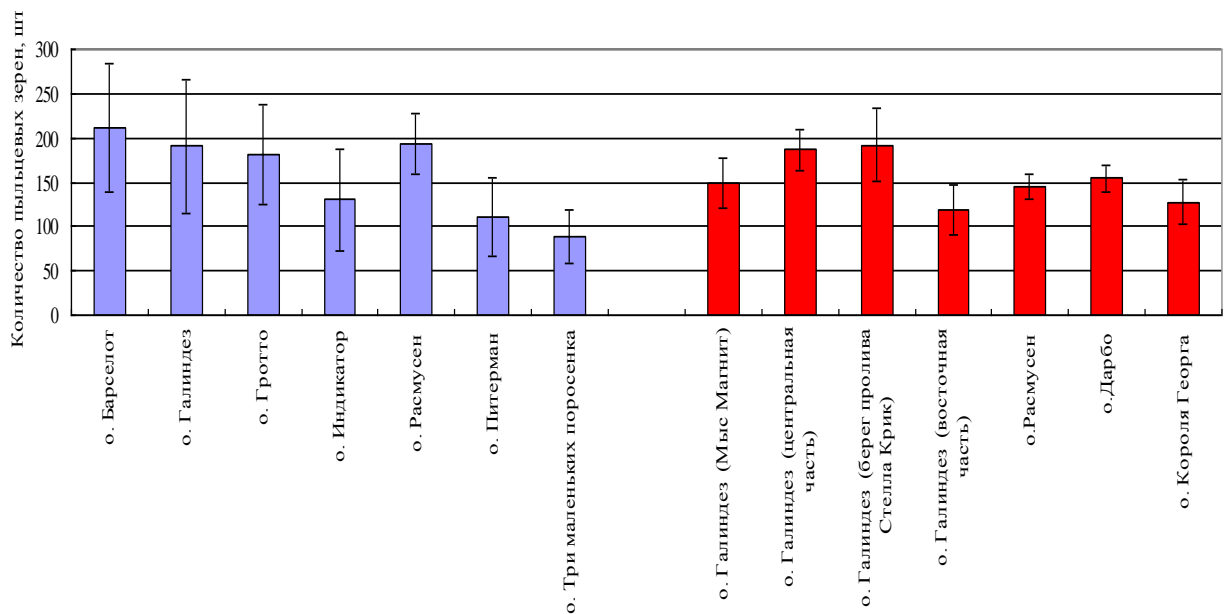
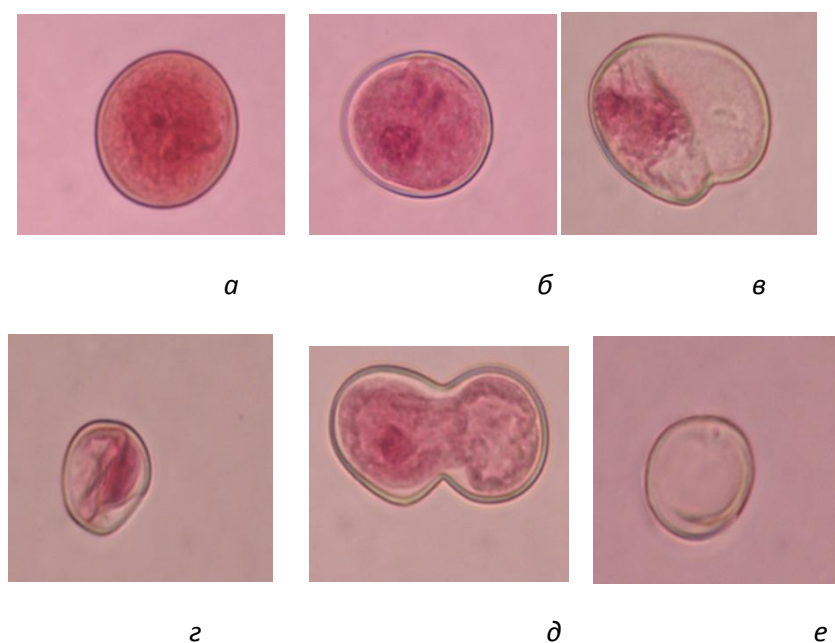


Рисунок 2 – Количество пыльцевых зерен, развивающихся в пыльниках растений островных антарктических популяций *D. antarctica* (синие столбцы – материал 2014 г., красные – 2016 г.)

3.1 Особенности структуры и качество пыльцы растений антарктических популяций *D. antarctica*

Зрелые пыльцевые зерна растений изученных популяций были трехклеточными (рис. 3 а, б) и имели одну пору. Средний размер пыльцевых зерен составил около 25 мкм. В пределах пыльников пыльца варьировала по размеру (табл. 1, 2), но достоверных отличий по данному показателю между растениями изученных популяций не обнаружено (рис. 4).

У всех растений в пыльниках наряду с нормальной выполненной пыльцой присутствовали стерильные пыльцевые зерна. Как правило, дегенерации подвергались зрелые пыльцевые зерна. Они характеризовались либо разной степенью плазмолиза, либо их содержимое было полностью дегенерировавшим (рис. 3 в-е). В единичных случаях отмечено нарушение развития пыльцевых зерен. Например, отмечены сдвоенные пыльцевые зерна, которые, судя по всему, причиной их образования явилось нарушение процесса цитокинеза во втором делении мейоза, в результате чего две микроспоры не отделились друг от друга (рис. 3 д).



а, б – зрелое трехклеточное пыльцевое зерно; в, г – пыльцевые зерна с разной степенью плазмолиза; д – «сдвоенные» пыльцевые зерна; е – пустое пыльцевое зерно

Рисунок 3 – Пыльцевые зерна *D. antarctica*

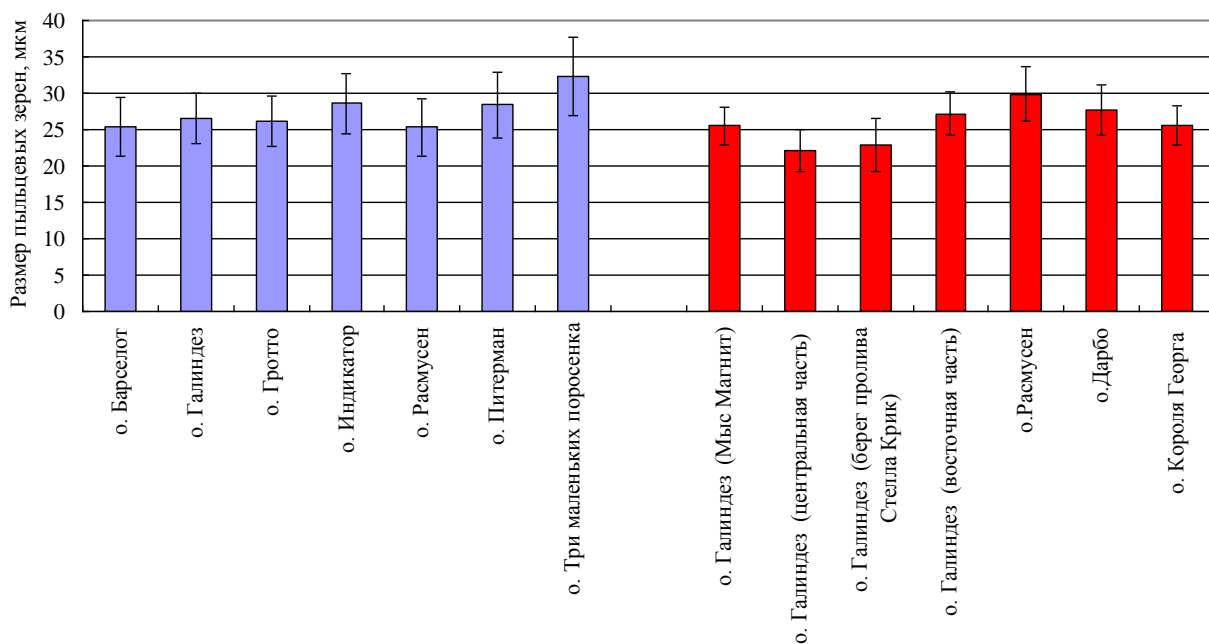


Рисунок 4 – Размер пыльцевых зерен растений островных антарктических популяций *D. antarctica* (синие столбцы – материал 2014 г., красные – 2016г.)

По степени дефектности пыльцы популяции можно разделить на три группы: 1 группа, средняя СДП растений от 10 до 20% – популяции о. Барселот, о. Галиндез (центральная часть), о. Галиндез (берег пролива Стелла Крик) и о. Короля Георга; 2 группа, средняя СДП растений от 20 до 40% – о. Гротто, о. Питерман, о. Три маленьких поросенка, о. Расмусен и остров Галиндез (восточная часть); 3 группа, средняя СДП выше 40% – о. Индикатор, о. Галиндез (мыс Магнит) и о. Дарбо (табл.1,2, рис. 5).

Самым низким качеством пыльцы характеризовались растения с о. Индикатор (материал 2014 г.), мыса Магнит о. Галиндез (материал 2016 г.) и о. Дарбо (материал 2016 г.). На этих трех точках сбора материала микроклиматические условия произрастания растений наименее благоприятны по сравнению с другими изученными островами. Остров Индикатор – один из самых маленьких по площади и высоте над уровнем моря из всех исследованных нами островов. Для него характерны сильные холодные ветра. Мыс Магнит – это скалистая узкая часть о. Галиндез, обдуваемая со всех сторон ветрами. Остров Дарбо – самый южный из изученных островов и, следовательно, самый холодный.

На о.Галиндез (центральная часть) и о.Расмусен материал исследовали дважды в 2014 и 2016 гг. Достоверных отличий по степени дефектности пыльцы не обнаружено.

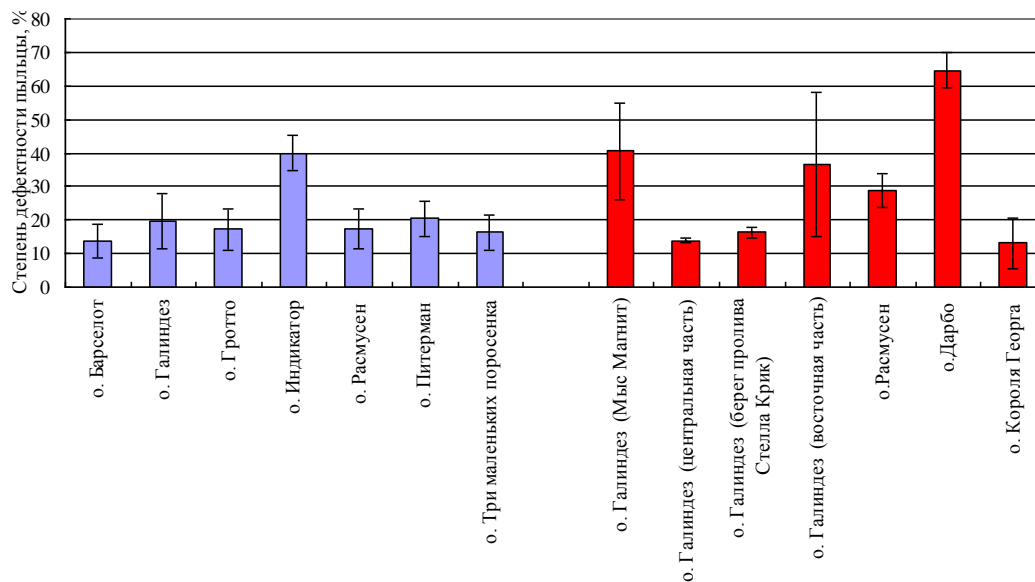


Рисунок 5 – Степень дефектности пыльцы растений островных антарктических популяций *D. antarctica* (синие столбцы – материал 2014 г., красные – 2016 г.)

3.3 Особенности структуры зародышевых мешков растений антарктических популяций *D. antarctica*

У изученных растений *D. antarctica* зрелые мегагаметофиты – семиклеточные, восьмиядерные, содержат крупную яйцеклетку, две синергиды, центральную клетку с двумя полярными ядрами, нессливающимися до оплодотворения, и антиподальный комплекс, состоящий из 3-5 больших одноядерных и многоядрышковых клеток (табл. 3, рис. 6 а, б)

В зрелых зародышевых мешках злаков полярные ядра обычно располагаются рядом с яйцеклеткой. В некоторых зрелых мегагаметофитах *D. antarctica* полярные ядра, напротив, опускались в халазальный район и находились за антиподами (рис.6 д). Такое явление наблюдается у злаков при значительных задержках опыления. У *D. antarctica* причиной отсутствия опыления, судя по всему, является низкое качество пыльцы.

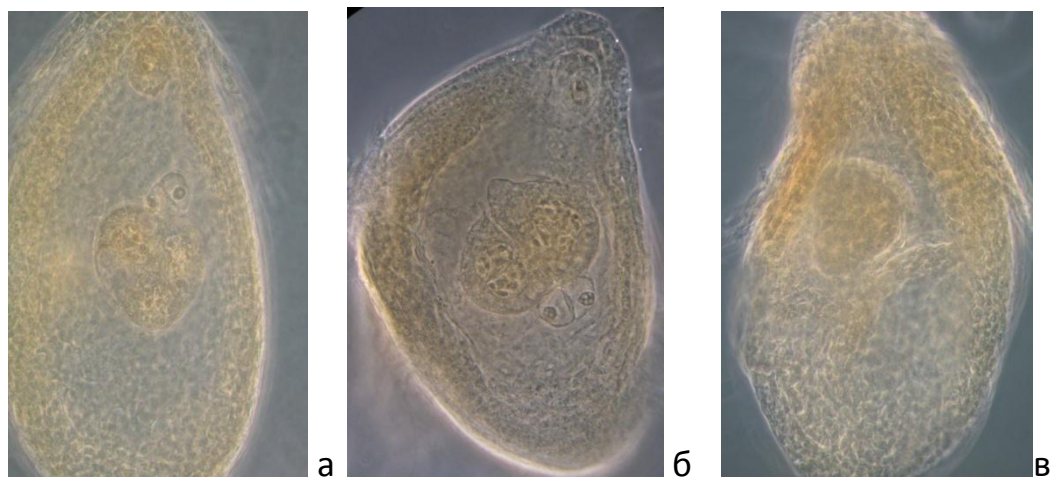
Таблица 3 – Исследованные зародышевые мешки антарктических популяций *D. antarctica* (материал 2014 года)

Место сбора	Количество исследованных зародышевых мешков						
	Всего	четырёх-ядерный, %	сформированный восьмиядерный, %	зрелый нормального строения, %	с полярными ядрами за антиподами, %	с признаками дегенерации, %	с проэмбрио и ядерным эндосперм, %
о. Барселот	7	0,0	0,0	85,7	0,0	14,2	0,0
о. Галиндез	63	3,1	22,2	50,7	15,8	0,0	7,9
о. Гротто	4	0,0	0,0	75,0	0,0	25,0	0,0
о. Индикатор	26	0,0	0,0	69,2	26,9	3,8	0,0
о. Расмусен	6	16,6	16,6	66,6	0,0	0,0	0,0
о. Питерман	5	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0

Таблица 4 – Исследованные зародышевые мешки антарктических популяций *D. antarctica* (материал 2016 года)

Место сбора	Количество исследованных зародышевых мешков								
	Всего	Архиспо	тетраяды,	Двух-	Четыре	Сформированные	Зрелый	Аномал	Дегенериру
о. Галиндез (Мыс Магнит)	8	37,5	14,2	28,5	0,0	14,2	0,0	0,0	0,0
о. Галиндез (центральная часть)	28	0,0	0,0	0,0	0,0	21,4	57,1	7,1	14,2
о. Дарбо	9	11,1	44,4	11,1	33,3	0,0	0,0	0,0	0,0
о. Расмусен	9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	88,8	11,1	0,0
о. Короля Георга	9	0,0	0,0	11,1	0,0	0,0	66,6	0,0	22,2

о. Галиндез (берег пролива Стелла Крик)	10	0,0	0,0	10,0	10,0	50,0	30,0	0,0	0,0
о. Галиндез (восточная часть)	12	8,3	50,0	8,3	16,6	8,3	8,3	0,0	0,0



а, б – зрелые зародышевые мешки нормального строения; *в* – зародышевый мешок с полярными ядрами, расположенными в халазальном районе за антиподами; *г* – дегенерирующие зародышевый мешок и семязачаток

Рисунок 6 – Зародышевые мешки *D. antarctica*

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного анализа, позволяют выделить следующие адаптивные к экстремальным условиям среды особенности репродуктивной системы *D. antarctica*:

- 1) осуществление полового способа репродукции на базе факультативной автогамии;
- 2) низкие энергетические затраты на опыление за счет производства небольшого количества пыльцы ($P/O=420\pm 45,9$).

Переход растений *D. antarctica* на редкое для злаков самоопыление, несомненно, является адаптацией к экстремальным условиям обитания. Автогамия по сравнению с аллогамией существенно сокращает время контакта пыльцы с окружающей средой, особенно если при самоопылении пыльца не покидает пределы своего цветка. Тем самым увеличивается шанс успешного опыления и оплодотворения. При этом небольшое количество производимой растениями пыльцы позволяет им экономить свои пластические и энергетические ресурсы. Все это особенно важно в условиях Антарктиды, где растения произрастают на бедных минеральными веществами субстратах, при дефиците воды и низких температурах.

Автогамы обладают ограниченной рекомбинационной системой, которая, способствует воспроизведению существующих в популяции генотипов и сводит к минимуму появление новых рекомбинантов. С этих позиций автогамия также более выгодна для *D. antarctica*, чем аллогамия, поскольку может способствовать сохранению генотипов, адаптированных к экстремальным условиям местообитания. В то же время факультативность автогамии у *D. antarctica* создает своеобразный резерв рекомбинативной изменчивости, который может реализоваться при улучшении условий окружающей среды.

С точки зрения репродуктивного успеха наиболее уязвимыми этапами эмбриологического развития у *D. antarctica* являются не только процессы опыления и оплодотворения, как и следовало ожидать в таких условиях обитания, но и микрогаметофитогенез. Высокая степень дефектности пыльцы (в среднем около 85%) служит существенным препятствием для реализации репродуктивного потенциала растений. Многие зародышевые мешки остаются неоплодотворенными, и семена не завязываются.

Т.А. Day et al. [94] было показано, что при использовании специальных фильтров, повышающих температуру воздуха на 1,3 и 2,3^oC вокруг растений *D. antarctica*, произрастающих на Антарктическом полуострове,

завязываемость семян у них увеличивалась на 15%. К сожалению, отсутствие цитозэмбриологического контроля в данных экспериментах не позволяет однозначно определить механизм изменения семенной продуктивности. Не исключено, что повышение температуры воздуха могло способствовать снижению степени дефектности пыльцы и, как следствие, увеличению количества оплодотворенных зародышевых мешков.

снижению степени дефектности пыльцы и, как следствие, увеличению количества оплодотворенных зародышевых мешков.

В последние десятилетия всемирное потепление затронуло Антарктический полуостров. Во второй половине 20 века температура в этом регионе возросла примерно на 2,6°C, что привело к значительному расширению антарктической части ареала *D. antarctica*. Одной из причин этого может быть более полная реализация репродуктивного потенциала растений.

ВЫВОДЫ

1. Растения изученных антарктических популяций *D. antarctica* характеризуются одинаковым размером пыльцевых зерен (около 25 мкм) и количеством формирующейся в пыльниках пыльцы (в среднем около 140). Степень дефектности пыльцы варьирует от 13,1% (популяция о. Короля Георга) до 64,6% (популяция о. Дарбо).
2. Показатели соотношения количества пыльцы и семязачатков у растений всех изученных островных популяций *D. antarctica* варьируют от $358,5 \pm 85,2$ (популяция о. Галиндез (восточная часть)) до $634,5 \pm 218,4$ (популяция о. Барселот) и лежат в диапазоне, характерном для факультативных автогамов. В условиях Морской Антарктики у растений потенции к перекрестному опылению не реализуются, для них характерна экологическая (факультативная) клейстогамия, при которой опыление происходит в нераскрывшемся цветке. В зрелом цветке пыльники располагаются в непосредственной близости к рыльцам, что способствует к успешному самоопылению.
3. Зародышевые мешки всех исследованных растений имеют типичное для половых злаков строение. Эмбриологических признаков апомиксиса не обнаружено.