

УДК 581.33

DOI: 10.36305/0513-1634-2020-135-50-56

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ПЫЛЬЦЕВЫХ ЗЕРЕН ЦВЕТКОВЫХ РАСТЕНИЙ (ОБЗОР)

Наталья Николаевна Круглова

Уфимский Институт биологии Уфимского федерального исследовательского центра
Российской академии наук
450054 Республика Башкортостан, г. Уфа, пр. Октября, 69
E-mail: Kruglova@anrb.ru

Качество пыльцевых зерен, тесно связанное с показателями потенциальной и реальной семенной продуктивности, – один из важнейших факторов репродуктивной биологии цветковых растений. В обзорной статье представлены результаты анализа имеющихся в литературе сведений о возможных причинах формирования аномальных пыльцевых зерен у цветковых растений, соотносительной роли природных и антропогенных факторов в этом процессе, при этом особое внимание уделено проблеме апоптоза пыльцевых зерен. Проанализированы способы оценки качества пыльцевых зерен. Предложена классификация клеточных, ядерных, цитоплазматических, структурно-архитектонических аномалий развивающихся пыльцевых зерен. Обсуждена и уточнена используемая терминология.

Ключевые слова: *пыльник; микроспора; пыльцевое зерно; фертильность; жизнеспособность; аномальность; дефектность; стерильность*

Введение

Качество пыльцевых зерен – один из важнейших факторов репродуктивной биологии, во многом определяющий способность амфимиктично размножающихся растений к формированию полноценных семян [3]. Качество пыльцевых зерен тесно связано с понятием «реальная семенная продуктивность» – важнейшим показателем оценки систем семенного размножения [6], поскольку стабильное получение качественных семян зависит от качества их зрелой пыльцы, которое, в свою очередь, во многом определяется нормальным морфогенезом пыльника и нормальным протеканием процессов микроспоро- и гаметогенеза.

В литературе при анализе качества пыльцевых зерен широко употребляются термины «жизнеспособность» и «фертильность», «пыльцевые зерна нормальной морфологии», а также их антонимы – термины «аномальность», «дегенерация», «стерильность», «дефектность». В то же время однозначное понимание этих терминов отсутствует.

Целью работы был анализ существующих представлений о возможных причинах формирования аномальных пыльцевых зерен у цветковых растений, способах оценки качества пыльцы и используемой при этом терминологии.

Возможные причины формирования аномальных пыльцевых зерен у цветковых растений

В литературе высказаны различные мнения о причинах возникновения аномальных пыльцевых зерен у цветковых растений.

Абсолютное большинство авторов полагают, что нарушения процесса нормального развития пыльцевых зерен – это ответные реакции растительного организма на воздействие неблагоприятных внешних (природных и антропогенных)

факторов, негативно сказывающихся на процессах микроспоро- и гаметогенеза [1; 16; 22]. Особенно ярко такие негативные воздействия внешних факторов проявляются в критические периоды развития пыльника [10; 11; 30]. Эти данные получили подтверждение при экспериментальных исследованиях пыльников и микроспор/пыльцевых зерен растений в условиях культуры *in vitro*. Показана, в частности, принципиальная необходимость стрессового воздействия на пыльники пшеницы для индуцирования аномального (спорофитного) пути развития микроспор с целью формирования из них растений-регенерантов [11; 13; 14; 15; 19; 28]. Предлагается использовать показатель аномальности пыльцевых зерен для оценки экологической пластичности и толерантности репродуктивных механизмов растений ([5] и мн. др.).

На основании экспериментальных и литературных данных П.Г. Куприянов [16] дал оценку соотносительной роли внутренних (способ размножения, особенно апомиктичный [7], генетических факторов – наличие хромосомных рас, неустойчивость кариотипа, внутривидовая гибридизация, цитоплазматическая мужская стерильность, ядерная мужская стерильность) и внешних факторов, влияющих на качество пыльцевых зерен. По мнению исследователя, практически все параметры внешней среды могут оказывать отрицательное воздействие на мужскую генеративную сферу растений, вызывая нарушения микроспоро-, гаметофито- и гаметогенеза. Многие из этих факторов можно учесть и, таким образом, отделить аномалии пыльцы, вызванные внешними причинами, от генетически обусловленных аномалий – для каждого конкретного вида растения. Автор подчеркивает, что одни и те же воздействия внешней среды у разных видов (форм, хромосомных рас, генотипов) растений приводят к различным результатам. Таким образом, в реакциях пыльцевых зерен на воздействия внешней среды проявляются биологические свойства вида, в том числе особенности его репродуктивной системы.

Т.Б. Батыгиной [29] с позиций системы надежности высказано мнение, что различные аномалии клеток репродуктивных органов следует рассматривать как проявление апоптоза – генетически детерминированной (запрограммированной) гибели клеток. Изучению различных аспектов этого феномена у растений, в том числе и апоптоза при развитии клеток пыльника, придается большое значение многими авторами, например, Varnier A.Z. etc [32]. Установлено, что реализация программы апоптоза в онтогенезе растений сопровождается специфическими изменениями морфологии клетки, структуры ядра и цитоплазмы, биохимическими и молекулярно-биологическими явлениями; у одной и той же клетки возможны различные пути запрограммированной гибели, которые могут запускаться многими, в том числе и неблагоприятными, факторами среды [4]. По-видимому, определенные аномалии пыльцевых зерен растений можно считать проявлением апоптоза. С другой стороны, по мнению проф. С.В. Шевченко [26], элиминация определенного числа генеративных структур растений (в том числе пыльников) в норме происходит практически на всех этапах их формирования в естественных условиях, и развитие значительного количества пыльцевых зерен (учитывая специфику и уникальность их существования определенное время в отрыве от материнского растения и под влиянием внешних условий) можно расценивать как «стратегию прочности» мужского гаметофита в обеспечении эффективного опыления и дополнительную иллюстрацию надежности системы репродукции цветковых растений.

Отдельная проблема в области исследований возникновения аномальных пыльцевых зерен состоит в оценке качества пыльцы у интродуцированных растений. Одной из причин нарушения развития генеративных органов интродуцентов Р.Е.

Левина [18] называет именно интродукцию как смену природного ареала растений, полагая, что особенно восприимчивы к этому пыльцевые зерна. Как полагает П.Г. Куприянов [17], при резкой смене местообитания растений, в том числе и при интродукции, повреждающее влияние неблагоприятных факторов внешней среды сказывается наиболее сильно. Какие бы причины ни вызвали появления аномальных пыльцевых зерен, это явление приводит к снижению потенциальной семенной продуктивности растений.

Оценка качества пыльцы цветковых растений и используемая при этом терминология

Зрелые пыльцевые зерна нормальной для представителей конкретного семейства морфологии можно отнести к категории **фертильных** (способных к оплодотворению) пыльцевых зерен. При этом и внешняя морфология, и внутреннее строение зрелых пыльцевых зерен во многом определяются способом опыления конкретного вида растений [24].

Фертильность зрелой пыльцы определяется, как правило, морфологически на временных давленных препаратах специальными методами окрашивания – ацетокарминовым и иодным. Фертильные зрелые трехклеточные пыльцевые зерна, представленные вегетативной клеткой и двумя клетками-спермиями, и имеющие тонкую экзину (например, у злаков), после окрашивания 2%-ным ацетокармином [20] или 2%-ным ацетолакмоидом [21] характеризуются тёмно-красным окрашиванием спермиев и зернистой цитоплазмой вегетативной клетки. В стерильных зрелых пыльцевых зернах спермии не обнаруживаются. Фертильность зрелых двуклеточных пыльцевых зерен, имеющих в своем составе вегетативную и генеративную клетки, т.е. ещё не имеющих спермиев, предложено оценивать ацетокарминовым методом условно, по окрашиванию их содержимого [20]. Для выявления фертильности пыльцевых зерен с толстой экзиной, через которую на временных давленных препаратах трудно увидеть спермии, применяют иодный метод, основанный на окрашивании крахмала. Фертильные пыльцевые зерна полностью заполнены крахмалом, тогда как стерильные пыльцевые зерна содержат следы крахмала или не имеют его совсем [20].

Фертильные зрелые пыльцевые зерна, способные к формированию пыльцевых трубок, следует отнести к **жизнеспособным** пыльцевым зернам.

Предложены различные способы оценки жизнеспособности пыльцевых зерен [20]. Наиболее удобный из них – проращивание зрелой пыльцы на оптимизированной по концентрации сахарозы агаризованной питательной среде *in vitro*. При этом концентрация сахарозы для каждого вида растений определяется эмпирически. Например, для зрелой пыльцы остролодочника сходного (Fabaceae) – это 10 %-ный раствор [8], ежи сборной (Poaceae) – 15%-ный раствор [12], представителей рода колокольчик (Campanulaceae) – 20%-ный раствор [27].

Предложено к жизнеспособным пыльцевым зернам относить только те, которые при проращивании *in vitro* формируют пыльцевые трубки длиной не короче расстояния от рыльца пестика до семязпочки у конкретного вида растений. Например, для ежи сборной это 720 ± 18 мкм [12]. Несмотря на то, что такой подход сужает показатель жизнеспособности пыльцевых зерен, он отражает биологическую основу этого показателя.

На примере пшеницы [15] и остролодочника сходного [8] выявлено, что часть зрелых пыльцевых зерен нормальной морфологии, т.е. фертильные, не прорастала даже на оптимизированной питательной среде. Иначе говоря, понятие

«жизнеспособность пыльцевых зерен» уже понятия «фертильность пыльцевых зерен».

Жизнеспособность пыльцевых зерен тесно связана с таким понятием репродуктивной биологии, как «достаточность опыления» [23]. При характеристике этого понятия важны две стороны – количество и качество пыльцы, и «достаточность опыления», строго говоря, – это достаточное количество качественных (фертильных) пыльцевых зерен. Количественный показатель жизнеспособных пыльцевых зерен в зрелом пыльнике, достаточный для успешного завязывания семян, у каждого вида растений будет своим, в зависимости от биологии развития, системы размножения, способа опыления и приспособлений к нему. Подсчитано, например, что при площади поверхности рыльца в 1 мм² для успешного опыления ветром одиночной семязпочки требуется 1 миллион пыльцевых зерен, равномерно распространенных на площади в 1 м² [23].

Рассмотрим другую сторону вопроса – наличие аномальных пыльцевых зерен в пыльниках. Как правило, в каждом пыльнике на той или иной стадии развития, а также зрелом пыльнике, даже у растений с высокой репродуктивной способностью, отмечены **аномальные** (морфологически отличающиеся от нормальных) микроспоры/пыльцевые зерна.

Детальный анализ цито-гистологических данных, полученных на примере развивающихся пыльников злаков – ежи сборной [12], пшеницы [15], а также бобовых – остролодочника сходного [8] позволил предложить классификацию таких аномалий:

1) *клеточные* (дополнительные деления археспориальных клеток; нарушения при образовании диад/тетрад микроспор; нарушения полярности микроспоры/пыльцевого зерна; нарушение процесса митотического деления микроспоры, приводящее к образованию двух равных по объему клеток, а также многоклеточных структур; наличие крупных и мелких микроспор/пыльцевых зерен, трехпоровых пыльцевых зерен, деформированных или «пустых» пыльцевых зерен);

2) *ядерные* (незавершенность в образовании синаптонемального комплекса и, как следствие, выбросы хроматина в цитоплазму микроспор, образование микроядер; формирование многоядерных структур);

3) *цитоплазматические* (нарушение вакуолизации микроспор; цитоплазматические тяжи; «пузырчатая» и «звездчатая» цитоплазма клеток);

4) *структурно-архитектонические* (нарушение ориентации микроспоры/пыльцевого зерна в гнезде пыльника, деформация тканей гнезда пыльника).

По отношению к аномальным микроспорам/пыльцевым зернам, помимо термина «аномальность» как нарушения нормальной морфологии, употребляются также термины «дегенерация», «стерильность» и «дефектность».

Понятие «**дегенерация**» как остановка в развитии и последующая деструкция, на наш взгляд, характеризует процесс нарушения развития пыльцевого зерна, а также нормального статуса зрелого пыльцевого зерна. Дегенерация пыльцевых зерен может произойти на одной из стадий их развития (у цветковых это: спорогенная клетка, микроспороцит, микроспора с невакуолизированной, слабовакуолизированной и сильновакуолизированной фазами, по периодизации [9], а также двуклеточное и трехклеточное пыльцевое зерно). Таким образом, можно говорить о дегенерации спорогенных клеток, микроспороцитов, микроспор и пыльцевых зерен.

Итогом процесса дегенерации развивающихся пыльцевых зерен считается их стерильность. Понятие «**стерильность** пыльцевых зерен» в литературе

традиционно имеет узкий диапазон применения, характеризуя итог дегенерации только пыльцевых зерен. На наш взгляд, применительно к видам с трехклеточными зрелыми пыльцевыми зернами этот диапазон следует сузить в еще большей степени, и понятие «стерильность пыльцевых зерен» (антоним – «фертильность пыльцевых зерен») применять только по отношению к зрелым трехклеточным пыльцевым зернам, не способным к оплодотворению. Называемые в литературе «стерильными» двуклеточные пыльцевые зерна видов с трехклеточными зрелыми пыльцевыми зернами, по-видимому, правильнее отнести к группе дегенерировавших пыльцевых зерен. Исходя из того, что термин «стерильность» является антонимом термина «фертильность», к стерильной пыльце в зрелых пыльниках следует отнести не только все аномальные пыльцевые зерна, а также и нежизнеспособные пыльцевые зерна нормальной морфологии, не прорастающие на оптимизированной питательной среде. Тем самым понятие «стерильность» шире понятия «аномальность».

Понятие «*дефектность* пыльцы», разработанное для антморфологического метода выявления апомиктично размножающихся видов [25], относится к тем аномальным зрелым пыльцевым зернам, которые отличаются от нормальных формой, величиной, слабым окрашиванием ацетокармином или отсутствием окрашивания этим красителем [17]. С этих позиций понятия «дефектность» и «стерильность» по отношению к зрелым пыльцевым зернам совпадают, с той разницей, что понятие «дефектная» употребляется исследователями по отношению к группе пыльцевых зерен, в которой содержание стерильных пыльцевых зерен выше допустимого для амфимиктично размножающихся видов. Согласно критерию оценки понятия «дефектная пыльца», достоверно разработанному на примере более 300 видов растений из различных местообитаний [17], граничной между нормальной и дефектной пыльцой является степень дефектности пыльцевых зерен в 11 %, т.е. пыльцу со степенью дефектности выше 11 % следует считать дефектной, а вид растения, зрелые пыльники которого характеризуются наличием дефектной пыльцы, следует отнести к склонным к апомиктичному размножению.

Выводы

Таким образом, обобщая результаты проведенного анализа литературных данных и собственных исследований и учитывая важность знания качества пыльцевых зерен для определения функционально-адаптивных аспектов надежности систем размножения растений и применения их в генетико-селекционных работах, для разработки способов повышения фертильности пыльцы, например, путем обработки раствором борной кислоты пыльников, находящихся в критических этапах развития [2], при оценке пыльцы следует четко разграничивать понятия «аномальность», «стерильность» и «дефектность», вкладывая в эти понятия строго определенную смысловую нагрузку.

Для выяснения причин появления аномальных пыльцевых зерен в динамике развития пыльников для каждого изучаемого вида требуются специальные исследования, используя при этом единую унифицированную терминологию. Нельзя не согласиться с мнением о том, что «дифференциация терминов – это не просто игра словами, но совершенно необходимое условие, чтобы разобраться в природе вещей» [31, р. 11].

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России № 075-00326-19-00 по теме № АААА-А18-118022190099-6.

Список литературы

1. Анисимова Г.М., Лянгузова И.В., Шамров И.И. Влияние условий загрязнения окружающей среды на репродукцию растений // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Т. 3: Системы репродукции / Под ред. Т.Б. Батыгиной. – СПб.: Мир и семья, 2000. – С. 532-537.
2. Батыгина Т.Б. Хлебное зерно: атлас. – Л.: Наука, 1987. – 103 с.
3. Батыгина Т.Б., Васильева В.Е. Размножение растений. – СПб.: Изд-во С.-Петербургского ун-та, 2002. – 232 с.
4. Ванюшин Б.Ф. Апоптоз у растений // Успехи биол. химии. – 2001. – Т. 41. – № 1. – С. 3-38.
5. Веселова Т.Д., Гревцова Н.А., Джалилова Х.Х. О возможности выявления видов-индикаторов загрязнения окружающей среды на основании анализа состояния мужской генеративной сферы у цветковых растений // Бюлл. МОИП. Отд. биол. – 1996. – Т. 101. – № 4. – С. 69-72.
6. Злобин Ю.А. Реальная семенная продуктивность // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Т. 3: Системы репродукции / Под ред. Т.Б. Батыгиной. – СПб.: Мир и семья, 2000. – С. 260-262.
7. Кашин А.С., Куприянов П.Г. Апомиксис в эволюции цветковых растений. Онто- и филогенетические аспекты проблемы. – Саратов: Изд-во Саратовского ун-та, 1993. – 196 с.
8. Круглова А.Е. Оценка качества пыльцевых зерен в зрелых пыльниках остролодочника сходного в условиях интродукции // Вестник Удмуртского ун-та. – 2011. – Вып. 1. – С. 67-74.
9. Круглова Н.Н. Периодизация развития пыльника злаков как методологический аспект изучения андрогенеза *in vitro* // Известия РАН. Серия биол. – 1999. – № 3. – С. 275-281.
10. Круглова Н.Н. Критические фазы развития спорогенной клетки пыльника: к постановке проблемы // Цитология. – 2001. – Т. 43. – № 3. – С. 86-87.
11. Круглова Н.Н. Микроспора злаков как модельная система для изучения путей морфогенеза: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.05 / Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН. – СПб., 2002. – 48 с.
12. Круглова Н.Н. Качественная оценка пыльцевых зерен в зрелых пыльниках ежи сборной *Dactylis glomerata* L. // Бюлл. Ботан. сада Саратовского гос. ун-та. – 2009. – Вып. 8. – С. 234-240.
13. Круглова Н.Н. Инновационная биотехнология андроклиной гаплоидии пшеницы на основе комплекса эмбриологических и цитофизиологических данных // Экобиотех. – 2019. – Т. 2. – № 3. – С. 234-245.
14. Круглова Н.Н., Куксо П.А. Стрессовая индукция андроклинии // Успехи соврем. биол. – 2006. – Т. 126. – № 3. – С. 275-285.
15. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А. Регенерация пшеницы *in vitro* и *ex vitro*: цито-гистологические аспекты. – Уфа: Гилем, 2011. – 124 с.
16. Куприянов П.Г. Соотносительная роль факторов, вызывающих появление дефектных пыльцевых зерен у растений в природе. – Саратов: Изд-во Саратовского ун-та, 1983. – 133 с.
17. Куприянов П.Г. Диагностика систем семенного размножения в популяциях цветковых растений. – Саратов: Изд-во Саратовского ун-та, 1989. – 160 с.
18. Левина Р.Е. Репродуктивная биология семенных растений. – М.: Наука, 1981. – 96 с.
19. От микроспоры – к сорту / Т.Б. Батыгина, Н.Н. Круглова, В.Ю. Горбунова, Г.Е. Титова, О.А. Сельдимирова. – М.: Наука, 2010. – 174 с.

20. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. – М.: Колос, 1988. – 170 с.
21. Световой микроскоп как инструмент в биотехнологии растений / Н.Н. Круглова, О.В. Егорова, О.А. Сельдиминова, Д.Ю. Зайцев, А.Е. Зинатуллина. – Уфа: Гилем, 2013. – 128 с.
22. Солнцева М.П., Глазунова К.П. Влияние промышленного и транспортного загрязнения среды на репродукцию семенных растений // Журн. общей биол. – 2010. – Т. 71. – № 4. – С. 163-175.
23. Фегри К., Пэйл ван дер Л. Основы экологии опыления. – М.: Мир, 1982. – 379 с.
24. Френкель Р., Галун Э. Механизмы опыления, размножения и селекции растений. – М.: Колос, 1982. – 384 с.
25. Хохлов С.С., Зайцева М.И., Курьянов П.Г. Выявление апомиктических форм во флоре цветковых растений СССР. – Саратов: Изд-во Саратовского ун-та, 1978. – 224 с.
26. Шевченко С.В. Репродуктивная биология декоративных и субтропических плодовых растений Крыма. – К.: Аграрная наука, 2009. – 336 с.
27. Шевченко С.В., Мирошниченко Н.Н. Антэкологические аспекты репродуктивного процесса некоторых видов *Campanula* L. // Бюлл. ГНБС. – 2013. – Вып. 109. – С. 69-79.
28. Эмбриологические основы андроклинии у пшеницы / Круглова Н.Н., Батыгина Т.Б., Горбунова В.Ю., Титова Г.Е., Сельдиминова О.А. – М.: Наука, 2005. – 99 с.
29. Batygina T.B. Integrity and Reliability System in Ontogenesis and Evolution // Intern. J. Plant Reprod. Biol. – 2012. – V. 4. – № 2. – P. 107-120.
30. Batygina T.B., Vasilyeva V.E. Periodization of development of reproductive structures. Critical periods // Acta Biol. Cracov. Ser. Bot. – 2003. – V. 45. – № 1. – P. 27-36.
31. Pijl L. van der. Principles of dispersal in higher plants. – Berlin: Springer-Verlag, 1969. – 169 p.
32. Varnier A.L., Mazeyrat-Gourbeyre F., Sangwan R.S., Clement C. Programmed cell death progressively models the development of anther sporophytic tissues from the tapetum and is triggered in pollen grains during maturation // J. Struct. Biol. – 2005. – V. 152. – № 2. – P. 118-128.

Статья поступила в редакцию 15.04.2019 г.

Kruglova N.N. Assessment of the pollen grains quality in flowering plants (overview) // Bull. of the State Nikita Botan. Gard. – 2020. – № 135. – P. 50-56.

The review article analyzes the literature and own data on the possible causes of the formation of abnormal pollen grains in flowering plants and methods for assessing the quality of pollen. Classification of anomalies of developing pollen grains is given. The terminology used is discussed.

Keywords: *anther; microspore; pollen grain; fertility; vitality; anomaly; defectiveness; sterility*