

На правах рукописи

Колясн

КОЛЯСНИКОВА НАДЕЖДА ЛЕОНИДОВНА

**РЕПРОДУКТИВНАЯ БИОЛОГИЯ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ
И ДИКОРАСТУЩИХ БОБОВЫХ ТРАВ В СВЯЗИ С НИЗКОЙ
СЕМЕННОЙ ПРОДУКТИВНОСТЬЮ**

03.00.05 – ботаника

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук**

Пермь, 2005

Работа выполнена на кафедре ботаники и генетики растений Пермского государственного университета и кафедре ботаники и генетики Пермской государственной сельскохозяйственной академии имени академика Д.Н. Прянишникова

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Вишнякова Маргарита Афанасьевна
доктор сельскохозяйственных наук, профессор
Елисеев Сергей Леонидович
доктор биологических наук, профессор
Ильминских Николай Геннадьевич

Ведущая организация Институт биологии Коми научного центра
Уральского отделения Российской академии наук

Защита состоится 17 ноября 2005 г. в 15 часов на заседании
диссертационного совета Д 212.189.02 при Пермском государственном
университете по адресу: 614990, г. Пермь, ул. Букирева, 15.

Факс: (342)2371611

E-mail: Novoselova@psu.ru

Kolvasnikova@list.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Пермского
государственного университета

Автореферат разослан 14 октября 2005 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
к.б.н., доцент

Новоселова

Л.В. Новоселова

2006-4
17532

2187102
3

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

1.1 Актуальность работы.

Семейство бобовых занимает второе место в кормопроизводстве после злаковых. Но по кормовой ценности зеленой массы, витаминного сена, способности к рассолению верхних слоев почвы, обогащению почвы азотом кормовые бобовые травы часто превосходят злаки.

По данным Госкомстата России, в 2002 г. посевные площади кормовых трав, в том числе клевера и люцерны, составили 17945 тыс га (Российский статистический сборник, 2002); на долю бобовых трав приходилось 42,8%. Люцерна возделывалась в 80 странах всех континентов земного шара (Иванов, 1980). Клевер высевался более чем в 70 областях и краях нашей страны, а во многих районах Нечерноземья являлся главной культурой в травосмесях севооборотов (Интенсивные кормовые культуры Предуралья, 1984). Для расширения посевов кормовых бобовых культур в настоящее время привлекаются новые перспективные виды данного семейства. По результатам изучения природного генофонда дикорастущих родичей культивируемых растений флоры СССР сотрудники ВИР им. Н. И. Вавилова рекомендуют в качестве перспективных для использования в культуре 130 видов семейства *Fabaceae*, в том числе 20 видов люцерны, 22 вида клевера, 23 вида вики, 16 видов чины и 8 видов донника (Коровина, 1986).

Для всех культивируемых бобовых весьма актуальна проблема низкой семенной продуктивности. Этим объясняется пристальный интерес к ней многочисленных исследователей, изучающих разные стороны этой проблемы (Научные основы возделывания клевера лугового на семена, 1984; Генетические методы ускорения селекционного процесса, 1986; Дюкова, 1987; Мустафаев, 1989; Туркова, 1992; Писковацкий, Ненароков, Степанова, 1997; Михайличенко, 1998; Ашурметов, Каршибаев, 2002; Зубарев, 2003; Писковацкая, Жуков, 2004). Достаточно отметить, что при условии оплодотворения каждого цветка и развития каждого семязачатка в нормальное семя потенциальная семенная продуктивность люцерны посевной составит 30 – 40 ц с га, клевера лугового – 80 – 100 ц с га. Однако фактические урожаи очень низки; лишь в отдельных случаях они достигают 7 – 10 ц с га и 8 – 14 ц с га соответственно (Фадеева, 1989).

Причины низкой реализации потенциальной продуктивности многолетних бобовых трав разнообразны. Во-первых, это асинхронность заложения и длительный период развития цветков в соцветии, приводящий к недостаточности обеспечения питательными веществами (Ахундова, 1994), наличие нарушений в строении семязачатков (Зимницкая, 1992). Во-вторых, – поражение вредителями и болезнями, вызывающими опадение бутонов, цветков и бобов (Жаринов, 1977). В-третьих, неблагоприятные погодные условия способствуют уменьшению лета опылителей, что ведет к осыпанию неопыленных цветков. Высокая влажность воздуха и почвы приводят к вторичному росту, полеганию, формированию новых цветков, не успевающих образовывать плоды и семена (Волынец, 1989).



Сдерживающим фактором для создания высокопродуктивных сортов культивируемых бобовых является отсутствие данных по качественной и количественной оценке различных этапов формирования репродуктивных органов растений и их реализации в процессе функционирования. Необходимо выявление критических этапов органогенеза, на которых происходят наибольшие потери.

Изложенное выше убеждает в том, что актуальность изучения репродуктивной биологии культивируемых и дикорастущих бобовых растений для выявления причин низкой семенной продуктивности несомненна. Ограниченность, а в отношении некоторых видов важнейших возделываемых культур, относящихся к родам *Medicago*, *Trifolium*, *Melilotus* – отсутствие данных, необходимых для селекционно-генетических программ, побудили нас предпринять исследование широкого круга вопросов, касающихся разных видов бобовых.

Исследования проводились в соответствии с научной темой кафедры ботаники и генетики растений Пермского государственного университета «Репродуктивная биология хозяйственно важных растений» (№ госрегистрации 01860103377), входившей в координационный план АН СССР «Биологические основы рационального использования, преобразования и охраны растительного мира», а также продолжены по теме «Репродуктивная биология кормовых бобовых трав» на кафедре ботаники и генетики Пермской государственной сельскохозяйственной академии имени академика Д.Н. Прянишникова.

1.2 Цель и задачи работы.

Сравнительное изучение репродуктивной биологии ряда важнейших кормовых культур из семейства *Fabaceae*, а также их дикорастущих родичей, перспективных для селекции; анализ формирования репродуктивных органов растений; выявление эмбриологических причин низкой семенной продуктивности и резервов ее повышения.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

- изучить особенности цветения и опыления культивируемых и дикорастущих бобовых трав родов *Medicago*, *Trifolium*, *Melilotus*, *Astragalus*, *Vicia* и *Lathyrus*;
- исследовать особенности эмбриологии многолетних видов люцерны, клевера, донника и астрагала;
- выявить этапы, а также возможные нарушения в развитии репродуктивных органов и их характер у дикорастущих бобовых трав родов *Medicago*, *Trifolium*, *Melilotus*;
- сравнить состояние репродуктивных органов *Medicago sativa* первого – пятого поколений инбридинга;
- сопоставить особенности репродуктивной биологии видов *Medicago* и *Trifolium* разной степени плоидности;
- определить потенциальную и реальную семенную продуктивность культивируемых и дикорастущих бобовых трав, выяснить причины их низкой семенной продуктивности и резервы ее повышения.

1.3 Научная новизна работы.

Настоящая работа обобщает результаты исследований, проводившихся в 1983-2005 гг. Впервые проведено комплексное изучение формирования репродуктивных органов дикорастущих видов бобовых с учетом особенностей их экологии.

Изучены особенности репродуктивной биологии 26 видов семейства *Fabaceae*, из них 17 видов (*Medicago cancellata*, *M. glutinosa*, *M. polychroa*, *M. trautvetteri*, *M. difalcata*, *M. quasifalcata*, *M. caerulea*, *M. hemicycla*, *Trifolium medium*, *Melilotus officinalis*, *Vicia cracca*, *V. tenuifolia*, *Lathyrus sylvestris*, *Astragalus danicus*, *A. onobrychis*, *A. kungurensis*, *A. permienensis*) эмбриологически исследованы впервые.

Впервые изучена фертильность и стерильность семязачатков 23 видов семейства *Fabaceae* методами люминесцентной и йодной микроскопии, в ходе которой выявлены некоторые причины низкой семенной продуктивности кормовых бобовых и резервы ее повышения.

На основе собственных исследований и данных литературы впервые осуществлен сравнительный морфо-биологический и эмбриологический анализ 44 многолетних видов семейства *Fabaceae*, что позволило выявить как общие признаки и свойства, так и особенности их развития.

Дана оценка этапов формирования репродуктивных органов многолетних бобовых трав. Впервые дан сравнительный анализ потенциальной и реальной семенной продуктивности 13 видов семейства *Fabaceae*, относящихся к кормовым травам. Выделены фазы развития, ключевые моменты снижения семенной продуктивности и причины этого явления у разных видов рода *Medicago* и *Trifolium*.

Впервые поэтапно прослежено состояние семязачатков у люцерны посевной первого – пятого поколений инбридинга. Установлено влияние инбредной депрессии на формирование семян в бобах данных растений.

1.4 Теоретическая и практическая ценность работы.

Данные по суточному ходу цветения и опыления пяти многолетних видов *Medicago*, трех многолетних видов *Trifolium* и двух двулетних видов *Melilotus* пополняют сведения по репродуктивной биологии ценных кормовых растений.

В результате наших исследований всесторонне изучен процесс развития репродуктивных органов ценнейших кормовых трав, что является важным вкладом в познание проблемы семеноводства растений. Знание особенностей репродуктивной биологии дикорастущих видов бобовых необходимо при введении их в культуру.

Материалы эмбриологических исследований пополняют характеристику семейства *Fabaceae* и могут быть использованы как в целях селекции, так и для систематики.

Результаты исследований репродуктивной биологии 12 видов семейства *Fabaceae* включены в базу данных по бобовым растениям «International legume database & information service», доступную по адресу: http://www.psu.ru/db_plant/.

Изучение возникновения стерильных семязачатков и семян и их диагностика, проведенная экспресс-методами на большом числе видов, имеют важное теоретическое и практическое значение.

Количественная характеристика дегенерации семязачатков в процессе развития дикорастущих видов *Medicago*, *Trifolium*, *Melilotus*, а также данные поэтапного изучения состояния семязачатков инбредных растений *Medicago sativa*, могут использоваться в селекции на повышение семенной продуктивности. Выявление причин низкой семенной продуктивности возделываемых бобовых вносит значительный вклад в решение проблемы повышения урожайности важнейших сельскохозяйственных культур.

Результаты работы используются при проведении занятий по ботанике на кафедре ботаники Пермской государственной сельскохозяйственной академии имени академика Д. Н. Прянишникова, чтении спецкурсов на кафедре ботаники и генетики растений Пермского государственного университета, постоянные микропрепараты используются в лабораторном практикуме по спецкурсу «Эмбриология растений», рисунки с микропрепаратов включены в опубликованные учебно-методические пособия по ботанике и генетике.

1.5 Положения, выносимые на защиту:

1. Для изученных многолетних бобовых трав характерен комплекс признаков, обеспечивающих аутбридинг и энтомофилию:
 - большое число цветков в соцветии и на растении, пыльников зерен в пыльниках и семязачатков в завязи;
 - дневной ход распускания и опыления цветков с максимумом в период активного лета опылителей;
 - механизм защиты от самоопыления через «замковое» строение цветка и генетически обусловленную самонесовместимость.
2. Имеется определенное сходство в развитии и строении репродуктивных структур исследованных видов семейства *Fabaceae*: двудольный тип развития стенки пыльника, двухклеточные зрелые пыльцевые зерна, кампилотропные двупокровные семязачатки, Polygonum-тип развития зародышевого мешка, нуклеарный эндосперм с цитокинезом в микропилярной части эндоспермального ценоцита.

Вместе с тем у разных видов семейства *Fabaceae* может быть различно количество клеток археспория, размеры пыльцы и семязачатков, строение суспензоров, тип развития зародыша.
3. У инбредных растений *Medicago sativa* число нарушений в строении семязачатков значительно возрастает в сравнении с неинбредными, а также возникают новые аномалии. В максимальной степени они проявляются у растений второго и третьего инбредного поколения. В пятом поколении признаки депрессии в развитии репродуктивных органов не выявляются.
4. Низкая семенная продуктивность многолетних видов рода *Medicago* и *Trifolium* обусловлена комплексом причин, в числе которых:

- отмирание части семязачатков до опыления вследствие аномалий развития;
 - отмирание неоплодотворенных семязачатков из-за самонесовместимости или недостатка опылителей;
 - гибель части семян из-за нарушений в развитии эндосперма или клеток зародыша.
5. Для клевера и люцерны наиболее значимой для будущего урожая семян является стадия роста органов цветка, когда венчик выше чашелистиков на их длину. Именно в этот период перспективно использование экспресс-методов определения фертильности семязачатков для селекции на высокую семенную продуктивность.

1.6 Апробация работы.

Основные результаты исследований были доложены на совещаниях ботаников Урала (г. Свердловск, 1985, 1986, 1990, г. Курган, 1988, г. Сыктывкар, 2002); 9 Всесоюзном совещании по эмбриологии растений (г. Кишинев, 1986); 4 Всесоюзном совещании «Проблемы размножения цветковых» (г. Пермь, 1987); Всесоюзном симпозиуме «Проблемы репродуктивной биологии растений» (г. Пермь, 1996); 1 съезде Всесоюзного общества генетиков и селекционеров (г. Москва, 1987); XI International symposium «Embryology and seed reproduction» (Leningrad, 1990); Международном симпозиуме по эмбриологии и семенной репродукции (г. Санкт-Петербург, 1992); Интернациональном симпозиуме по репродуктивной биологии (г. Ташкент, 1990, 1998); XVth International Congress on Sexual Plant Reproduction «Regulation, interaction, development» (Wageningen, Nederland, 1998); 10, 11 Ботанических съездах Русского ботанического общества (г. Санкт-Петербург, 1998, г. Новосибирск, г. Барнаул, 2003); Всероссийской научной конференции «Флористические и геоботанические исследования в Европейской России» (г. Саратов, 2000); популяционном семинаре «Фундаментальные и прикладные проблемы популяционной биологии» (г. Н.Тагил, 2002); Международных симпозиумах «Информационные системы по биоразнообразию видов и экосистем» (г. Санкт-Петербург, 1999, 2003); Всероссийской научно-практической конференции «Вопросы экологии и природопользования в аграрном секторе» (г. Ижевск, 2003); XXVth EUCARPIA Fodder Crops and Amenity Grasses Section Meeting and XVth EUCARPIA *Medicago* spp. Group Meeting (Brno, Czech Republic, 2003), а также на ежегодных отчетных конференциях в Пермском государственном университете и Пермской государственной сельскохозяйственной академии имени академика Д.Н. Прянишникова.

1.7 Публикация результатов исследования.

Всего опубликовано 65 научных трудов, из них по материалам диссертации – 51, в том числе, 1 коллективная монография, 3 статьи в центральных рецензируемых отечественных и зарубежных научных журналах, 11 статей в региональных отечественных научных журналах, 14

материалов конференций, съездов, 19 тезисов совещаний, конференций, симпозиумов, 1 электронная публикация, 1 электронная база данных, 1 учебное пособие с грифом УМО высших учебных заведений по РФ. Доля участия в совместных публикациях от 30 до 80%.

1.8 Личный вклад и достоверность полученных данных.

В диссертации изложены результаты более чем двадцатилетних исследований автора по репродуктивной биологии 26 видов бобовых трав, охватывающие развитие цветка, семязачатков и пыльцы, опыление, рост пыльцевых трубок, оплодотворение, развитие зародыша и эндосперма, а также определение величины органогенного потенциала генеративной сферы и уровень ее реализации в онтогенезе.

В диссертационную работу вошли полевые и экспериментальные данные, полученные лично диссертантом и в совместных экспедициях со студентами Пермского госуниверситета под руководством автора (при личном участии в сборе и обработке материала).

За период работы выполнено более 200 наблюдений над растениями 12 культивируемых и 14 дикорастущих видов, 20 популяциями, выполнено около 5000 фиксаций завязей исследованных видов, изготовлено 7000 постоянных и 4000 временных препаратов, 123 фотографии и рисунка. Полученные в ходе исследований цифровые данные обработаны статистически и представлены в 37 таблицах.

1.9 Структура и объем работы.

Диссертация состоит из введения, 8 глав, выводов, списка использованных источников и приложения. Текст, объемом 309 страниц, включает 37 таблиц, 46 рисунков. Список использованных источников содержит 424 наименования, в том числе 90 названий на иностранных языках.

Благодарности.

Приношу сердечную благодарность моему учителю, научному руководителю и консультанту – профессору, доктору биологических наук В.А. Верещагиной.

Я благодарна за консультации и советы сотрудникам Приаральской опытной станции ВИР, сотрудникам ВНИИ растениеводства имени Н.И. Вавилова д.б.н., проф. Л.И. Орел, д.б.н. Н.И. Дзюбенко, д.б.н., проф. М. А. Вишняковой, к.б.н. Е.В. Климовой, а также сотруднику Всероссийского института кормов имени В.Р. Вильямса д. с.-х. н. М. Ю. Новоселову.

Искренне признательна моим соавторам по ряду публикаций: в первую очередь к.б.н., доценту кафедры ботаники и генетики растений Пермского государственного университета Л.В. Новоселовой, а также к.б.н. Н.Ю. Малышевой и к.б.н. Е.Б. Казачковской.

Благодарю студентов кафедры ботаники и генетики растений Пермского государственного университета, в разные годы принимавших участие в полевых исследованиях.

1 СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении показана актуальность темы исследований.

В первой и второй главах дан обзор литературных источников по основным направлениям селекции люцерны, обсуждается научный статус термина «репродуктивная биология», проанализированы понятия семенной продуктивности, репродуктивного успеха и системы размножения бобовых трав. Также здесь приводятся перспективные для селекции виды бобовых трав, дается характеристика морфологии цветка бобовых, как одной из форм адаптации к энтомофильному типу опыления, рассмотрены биология цветения и опыления бобовых трав.

В третьей главе описаны объекты и методы исследований.

Объектами исследований послужили следующие виды и образцы растений семейства *Fabaceae* (табл. 1).

Таблица 1

Список исследованных видов и образцов растений семейства *Fabaceae*

п/п	Название вида	Образец, происхождение семян	Плоидность
Кормовые			
1.	<i>Medicago sativa</i> L. – Люцерна посевная	-	2n = 32 (4x)
2.	<i>M. hemicycla</i> Grossh. – Л. полуциклическая	K16719 Армянская ССР	2n = 16 (2x)
3.	<i>M. hemicycla</i> Grossh. – Л. полуциклическая	K15137 Армянская ССР	2n = 16 (2x)
4.	<i>M. falcata</i> L. – Л. серповидная	K20254 Украинская ССР	2n = 32 (4x)
5.	<i>M. varia</i> Mart. – Л. изменчивая	K27068 Московская обл.	2n = 32 (4x)
6.	<i>M. varia</i> Mart. – Л. изменчивая	K23425 Красноярский край	2n = 32 (4x)
7.	<i>Trifolium pratense</i> L. – Клевер луговой	Дикорастущий, Пермская обл.	2n = 14 (2x)
8.	<i>T. repens</i> L. – К. ползучий	Дикорастущий, Пермская обл.	2n = 48 (6x)
9.	<i>Melilotus albus</i> Medik. – Донник белый	Дикорастущий, Пермская обл.	2n = 16 (2x)
10.	<i>M. officinalis</i> (L.) Pall. – Д. лекарственный	Дикорастущий, Пермская обл.	2n = 16 (2x)

Продолжение таблицы 1

11	<i>Lathyrus sylvestris</i> L. – Чина лесная	Дикорастущая, Пермская обл.	2n = 14 (2x)
Культивируемые			
12.	<i>Medicago caerulea</i> Less. – Люцерна голубая	К28915 Казахская ССР	2n = 16 (2x)
13.	<i>M. caerulea</i> Less. – Л. голубая	К12820 Дагестанская АССР	2n = 16 (2x)
14.	<i>Trifolium medium</i> L. – Клевер средний	Дикорастущий, Пермская обл.	2n = 16 (2x)
15.	<i>Vicia cracca</i> L. – Вика, Горошек мышинный	Дикорастущий, Пермская обл.	2n = 12 (2x) 2п = 24 (4x)
16.	<i>V. tenuifolia</i> Roth. – Г. тонколистный	Дикорастущий, Пермская область	2n = 12 (2x) 2п = 24 (4x)
17.	<i>Lathyrus pratensis</i> L. – Чина луговая	Дикорастущая, Пермская обл.	2n = 14 (2x) 2п = 28 (4x)
Дикорастущие			
18.	<i>Medicago cancellata</i> Bieb. – Люцерна решетчатая	К34706 Ставропольский край	2n = 48 (6x)
19.	<i>M. difalcata</i> Sinsk. – Л. южноказахстанская	К11712 Казахская ССР	2n = 16 (2x)
20.	<i>M. glutinosa</i> Bieb. – Л. клейкая	К2625 Грузинская ССР	2n = 32 (4x)
21.	<i>M. polychroa</i> Grossh. – Л. разноцветная	К16659 Грузинская ССР	2n = 32 (4x)
22.	<i>M. quasifalcata</i> Sinsk. – Л. серпообразная	К13161 Ростовская обл.	2n = 16 (2x)
23.	<i>M. romanica</i> Prod. – Л. румынская	Дикорастущая, Челябинская обл.	2n = 16 (2x)
24.	<i>M. tianschanica</i> Vass. – Л. тяньшанская	К13035 Казахская ССР	2n = 32 (4x)
25.	<i>M. trautvetteri</i> Sumn. – Л. Траутфеттера	К36759 Казахская ССР	2n = 16 (2x)
26.	<i>Astragalus danicus</i> Retz. – Астрагал датский	Дикорастущий, Пермская обл.	2n = 16 (2x)
27.	<i>A. danicus</i> Retz. – А. датский	Дикорастущий, Челябинская обл.	2n = 16 (2x)
28.	<i>A. onobrychis</i> L. – А. эспарцетный	Дикорастущий, Челябинская обл.	2n = 16 (2x)

Продолжение таблицы 1

29.	<i>A. onobrychis</i> L. – эспарцетный	А. Пермская обл.	2n = 16 (2x)
Редкие, находящиеся под угрозой исчезновения			
30.	<i>Astragalus kungurensis</i> Boriss. – А. кунгурский	Дикорастущий, Пермская обл.,	-
31.	<i>A. permianensis</i> C. A. Mey. ex Rupr – А. пермский	Дикорастущий, Пермская обл.	-

Всего исследовано 26 видов, девять из них относятся к важнейшим возделываемым кормовым сельскохозяйственным травам, одиннадцать – виды естественной флоры, эволюционно-генетически близкие к культивируемым растениям, используемые человеком для интродукции, введения в культуру, а также в скрещиваниях с целью получения более совершенных сортов.

Сбор материала проводился в 1983 – 87 гг. на коллекционном участке Приаральской опытной станции ВИР (г. Челкар, Актыобинская область), в 1988 – 1992 гг. в заказнике «Троицкий» (г. Троицк, Челябинская область) и в ботаническом саду Пермского государственного университета, в 1993 – 2002 гг. на учебно-научной базе Пермского государственного университета «Предуралье» (Пермская область), в 2003 – 2004 гг. на полях учебно-опытной базы Пермской сельскохозяйственной академии имени акад. Д.Н. Прянишникова «Липовая гора».

Биологию цветения и опыления изучали по методике А.Н. Пономарева (1960). Продолжительность распускания цветков в соцветии устанавливали по 50 экз. Суточную динамику распускания цветков определяли в 50 соцветиях каждого исследованного вида с 6 часов утра до 22 часов в трехкратной повторности. Через каждые 2 часа подсчитывалось число вновь распустившихся и раскрытых цветков. При этом регистрировали температуру и относительную влажность воздуха аспирационным психрометром.

Фертильность пыльцы определяли на временных препаратах окрашиванием пыльцевых зерен ацетокармином (Паушева, 1975) и по Александру (Alexander, 1969). По каждому исследованному растению готовили 10 микропрепаратов, подсчеты вели в 10 полях зрения с помощью микроскопа при увеличении 15x20. Измерения диаметра пыльцевых зерен проводили с помощью окуляр – микрометра на 100 пыльцевых зернах. Изготовлено и изучено около 2000 временных препаратов.

Фертильность семязачатков и рост пыльцевых трубок изучали с помощью люминесцентной и йодной методик (Экспресс-методы., 1988). Расчеты вели по 100 цветкам каждого вида. Семязачатки препарировали из цветков, готовых к оплодотворению, когда лодочка и весла полностью отделились от паруса. Рост пыльцевых зерен у люцерны изучался в цветках, искусственно триппингованных и опыленных перекрестно, в день распускания, а также через 1, 2, 3, 4 суток после распускания. В стерильных

семязачатках каллоза, имеющаяся в нуцеллусе, при взаимодействии с красителем анилиновым синим в УФ-свете дает желтовато-зеленое свечение. Фертильные семязачатки не светятся. Пыльцевые трубки также светятся в УФ-свете из-за наличия в них каллозных пробок. Материал препарировали с помощью стереоскопического бинокулярного микроскопа МБС-9 при увеличении 8х2, наблюдали под микроскопом Eduval с помощью люминесцентного осветителя ОИ-18А. Изучено 2000 временных препаратов.

Для изучения микро-, мегаспорогенеза, развития мужского и женского гаметофитов фиксировали бутоны различного возраста, руководствуясь классификацией И.Д. Возного (1937) для люцерны и О.А. Ашурметова (1992) для других исследованных нами видов бобовых.

Процесс двойного оплодотворения, эмбрио- и эндоспермогенез изучали на фиксированном материале. Завязи фиксировали в спирт-уксусной кислоте (3:1) темпорально через 8, 16, 24, 32, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 240 часов после искусственного опыления, которое проводилось в двух вариантах: самоопыление и перекрестное опыление. Дальнейшую обработку вели по общепринятой методике (Паушева, 1975). Срезы толщиной 12–15 мкм окрашивались гематоксилином по Гейденгайну и фуксинсернистой кислотой по Фельгену с подкраской лихтергоном и альциановым синим.

Семенную продуктивность определяли по методике И.В. Вайнагия (1974), Р.Е. Левиной (1981). Расчеты вели по 100 растениям каждого вида. Многолетние виды люцерны исследовали в течение трех лет (1984–1986 гг.) на коллекционных участках Приаральской опытной станции ВИР. Растения каждого вида или образца были высажены в пятикратной повторности. Остальные виды (три вида клевера, по два вида чины, донника астрагала) изучались на дикорастущих растениях из ценопопуляций на учебно-научной базе «Предуралье» с 1994 по 2002 гг. Вычисляли потенциальную (ПСП), условно-реальную (УРСП) и реальную (РСП) семенную продуктивность на генеративный побег. По их соотношению устанавливали коэффициент продуктивности.

Изменчивость морфо-биологических признаков и корреляционные связи изучали у пяти видов люцерны *Medicago sativa*, *M. falcata*, *M. varia*, *M. cancellata*, *M. caerulea* и двух видов клевера *Trifolium pratense*, *T. medium*.

Статистическая обработка цифровых данных велась по Д.А. Доспехову (1985), двухфакторный дисперсионный анализ по В.М. Шмидту (1984).

Рисунки выполнены с помощью рисовального аппарата РА-7, фотографии – микроскопа МБИ-15 с микрофотонасадкой МФН-1, микроскопа Eduval, фотоаппарата «Зенит» и цифровой фотокамеры «Olimpus».

В четвертой главе рассмотрены результаты исследования экологии цветения и опыления культивируемых и дикорастущих трав семейства *Fabaceae*.

4.1 Особенности строения и изменчивость величины цветка люцерны, клевера, донника, вики, чины

В условиях Приаралья среднее число распустившихся за день цветков в соцветии разных видов люцерны варьировало в среднем от 4 (*M. falcata*) до 6 (*M. caerulea*); причем выявлена ожидаемая закономерность: чем больше цветков в соцветии данного вида, тем большее число их раскрывается за день. В итоге, продолжительность распускания всех цветков одного соцветия у разных видов люцерны в благоприятные солнечные дни одинакова – 2-4 дня. В малоцветковых соцветиях *M. falcata* формируется от 3 до 13 цветков (в среднем 7); у *M. caerulea* число цветков в соцветии варьирует от 8 до 38 (в среднем 18). *M. cancellata*, *M. sativa*, *M. trautvetteri*, *M. difalcata*, *M. quasifalcata* занимают промежуточное положение и по числу цветков в соцветии, и по числу цветков, распустившихся за день. Среднее количество цветков в соцветии *M. cancellata* – 7, *M. trautvetteri* – 10. Число цветков в соцветии – видовой признак. Большинство исследованных видов достоверно отличаются по данному признаку.

Следует отметить, что желтоцветковые виды характеризуются малоцветковыми соцветиями: число цветков у этих видов колеблется от 3 до 19, а у синецветковых – от 5 до 38. Сходная картина наблюдается по другому количественному признаку, влияющему на семенную продуктивность вида, – число закладывающихся в завязи семязачатков. Достоверно различаются 2 группы: желтоцветковые с числом семязачатков от 5 до 7 и синецветковые, у которых число семязачатков в завязи значительно больше – 9-10.

Размеры цветков многолетних видов люцерны (измерялись распустившиеся готовые к опылению цветки, когда парус расположен под углом 90° к лодочке) варьируют по средним показателям от 6,1 мм у *M. cancellata* до 8,1 мм у *M. trautvetteri*.

По мерным признакам, таким как длина цветка от цветоноса до верхней точки венчика, длина лодочки и пестика, ширина паруса, достоверной разницы между многолетними видами, желто- и синецветковыми видами, диплоидными и тетраплоидными видами люцерны не выявлено. По-видимому, благодаря адаптации соответствующему кругу опылителей, размеры цветков многолетних полиплоидных видов люцерны варьируют в тех же пределах, что и диплоидных.

Среди исследованных видов люцерны пять – *M. caerulea*, *M. difalcata*, *M. quasifalcata*, *M. trautvetteri*, *M. hemicycla* – диплоиды ($2n=16$), пять – *M. sativa*, *M. falcata*, *M. varia*, *M. polychroa*, *M. tianschanica* – тетраплоиды ($2n=32$) и один – *M. cancellata* – гексаплоид ($2n=48$). Выявлено, что у тетраплоидных видов, число цветков в соцветии существенно меньше (от 7 до 12), чем у диплоидных (от 10 до 18). Растения гексаплоидного желтоцветкового вида *Medicago cancellata* отличались малоцветковыми соцветиями (3-10), мелкими цветками (4,9-7,0 мм) и небольшим числом семязачатков в завязи (4-9), в отличие от остальных исследованных, относящихся к диплоидным или тетраплоидным видам. Сравнивая промеры цветков однолетних видов люцерны, выполненные Л.В. Новоселовой (2004), с нашими данными по многолетним видам, следует подтвердить, цветки

многолетних люцерн значительно крупнее, что связано с их энтомофильностью.

В условиях Прикамья среднее число распустившихся за день цветков в соцветии разных видов клевера варьировало от 4 (*T. repens*) до 8 (*T. medium*); причем подтверждена закономерность, полученная при исследовании многолетних видов люцерны: чем больше цветков в соцветии данного вида, тем большее число их распускается за день. В малоцветковых соцветиях *T. repens* формируется от 24 до 65 цветков (в среднем 38-42 в разные годы наблюдений); у *T. medium* число цветков в соцветии больше – от 65 до 98 (в среднем 73-95). *T. pratense* занимает промежуточное положение и по числу цветков в соцветии, и по числу цветков, распустившихся за день. Среднее количество цветков в соцветии *T. pratense* составило 65 – 68.

Размеры цветков многолетних видов клевера варьируют от 7,2 до 11,0 мм у *T. repens* и от 15,0 до 16,8 мм – у *T. medium*.

В отличие от видов люцерны многолетние виды клевера существенно отличаются друг от друга как по числу цветков в соцветии, семязачатков в завязи, так и по мерным признакам: длине венчика и пестика. Выявлено, что в более крупных цветках длиннее пестики. Но по числу закладывающихся семязачатков в завязи наблюдается несоответствие. Самые короткие по длине пестики *T. repens* несут наибольшее число более мелких семязачатков.

В многоцветковых соцветиях *T. medium* образуется фиксированное число семязачатков (2), а в малоцветковых соцветиях *T. repens* число семязачатков возрастает в два раза (в среднем 4,1 и 4,3). В итоге потенциальные возможности семяобразования соцветий исследованных нами видов клевера близки между собой.

У гексаплоидного клевера ползучего ($2n=48$) число цветков в соцветии и их размеры значительно меньше, чем у диплоидных видов ($2n=16$), что аналогично результатам исследования гексаплоидного и диплоидных видов люцерны.

По нашим наблюдениям в условиях Пермской области среднее число распустившихся за день цветков в соцветии двух видов донника варьировало от 6 у *M. officinalis* до 9 у *M. albus*. В соцветиях *M. officinalis* формируется от 44 до 70 цветков (в среднем 51 и 60 в разные годы исследований); у *M. albus* число цветков в соцветии больше – от 67 до 92 (в среднем 73 и 85).

Размеры цветков у изученных видов донника колебались от 4,9 до 6,1 мм у *M. albus* и от 5,9 до 7,0 мм – у *M. officinalis*. У *M. albus* число цветков в соцветии, как и размеры цветков меньше, чем у *M. officinalis*, но эта разница незначительна ($t_{st} < t_{st}$ табличного). По числу закладывающихся семязачатков эти виды отличаются достоверно. Между растениями одного вида признак варьирует незначительно.

У горошка мышиного (*Vicia cracca*) в условиях Пермской области в день распускается в среднем 2, у горошка тонколистного (*V. tenuifolia*) – 3 цветка. Распускание всех цветков одного соцветия завершается через 7-8 дней. Число цветков в соцветии *V. cracca* колебалось от 14 до 18, у *V. tenuifolia* – от 18 до 26. Следует отметить, что, как и у большинства

предыдущих исследованных нами видов бобовых, у *V. cracca* и *V. tenuifolia* признаки: число цветков в соцветии и семязачатков в завязи – видоспецифичны. У горошка мышиного формируется существенно меньше (почти в два раза) цветков в соцветии и семязачатков в завязи, чем у горошка тонколистного. Также достоверна разница по числу семязачатков в завязи у двух видов чины *L. pratensis* и *L. sylvestris*.

Таким образом, анализ полученных данных позволяет заключить, что у всех исследованных нами культивируемых и дикорастущих бобовых трав образуются большое число семязачатков в завязи (до 18 у *M. polychroa*) и (или) многоцветковые соцветия (до 98 у *T. medium*). Они характеризуются также растянутым периодом формирования соцветия и распускания цветков (при благоприятных условиях распускание цветков каждого соцветия продолжается 2–4, 7–8 дней). Эти свойства и признаки обеспечивают выживаемость данных видов при наличии самонесовместимости и ненадежного способа опыления с помощью насекомых.

Число семязачатков в завязи для всех, а число цветков в соцветии для большинства исследованных нами, видоспецифичны и генетически обусловлены.

Гексаплоидные виды люцерны и клевера в отличие от диплоидных характеризуются малоцветковыми соцветиями. По размерам цветков между видами люцерны нет разницы, но у полиплоидного клевера цветки мельче, чем у диплоидных видов клевера.

4.2 Динамика распускания и опыления цветков

Дневной ход распускания цветков люцерны посевной в условиях южной лесостепи Зауралья характеризуется одновершинной кривой с максимумом от 10 до 14 часов (Пономарев, 1954 б). Исследование других многолетних видов люцерны, проведенное нами в более жестких условиях Приаралья, показало, что в сухую жаркую погоду распускание цветков происходит в светлое время суток – с 6 до 21 часа с максимумом в 11–15 часов. Дневная температура воздуха в дни наблюдений колебалась от +27,4°C до +33,0°C при относительной влажности воздуха от 64 до 94%.

У растений одного вида пик распускания цветков в разные дни наблюдений в основном совпадает. У разных видов в течение одного дня максимум распускания приходится на разное время. Так, в один из дней наблюдения (15.06.1985г.) наибольшее число распустившихся цветков зарегистрировано у *M. caerulea*, *M. quasifalcata*, *M. difalcata* в 11 часов; у *M. falcata* – в 13 часов, у *M. sativa* – в 15 часов.

Наблюдения позволяют сделать вывод о некоторой видовой специфике распускания цветков. В целом наиболее значимыми факторами, влияющими на интенсивность распускания цветков люцерны, следует считать температуру воздуха, относительную влажность воздуха. Это подтвердил дисперсионный анализ по В.М. Шмидту (1984): температура и относительная влажность воздуха определяют ход распускания цветков на 15–36%, значения критерия Фишера высоко достоверны, влияние видовых особенностей составляет от 6 до 12%. Названные факторы определяют ход

распускания цветков в целом на 52–56%; на 44–48% распускание цветков зависит от других причин, пока не известных нам.

К концу фенологической фазы цветения пик распускания цветков сдвигается. Наблюдения, проведенные на одних и тех же растениях с интервалом в один месяц, показали, что пик распускания цветков наступал позднее на два часа, возможно, вследствие изменения светового периода.

По-видимому, то же самое можно утверждать в отношении других бобовых. Так, наблюдения за суточным ходом распускания цветков у *Astragalus danicus* и *A. onobrychis* в условиях южной лесостепи Зауралья в 1992–1993 гг. также показали, что наиболее существенными факторами, определяющими динамику распускания цветков, являются температура, относительная влажность воздуха и видовая принадлежность. Причем результаты статистической обработки данных свидетельствуют, что 85% цветков у этих видов распустились под влиянием климатических факторов (56% цветков у люцерны), всего на распускание 3% цветков повлияла видовая принадлежность.

Наблюдения за ходом распускания цветков *Trifolium pratense*, *Melilotus officinalis* и *M. albus*, проведенные в условиях учебно-научной базы Пермского государственного университета «Предуралье» в 1996–2000 гг. дают сходную картину: вслед за максимальным повышением температуры дня наступает пик в распускании цветков. Основными факторами, определяющими ход распускания цветков, также оказались погодные условия.

При полуденной температуре +25–+27°C в опылении цветков люцерны посевной регистрируется только один пик – в 12–15 часов. В очень жаркие дни с дневной температурой выше +30°C дневной ход опыления люцерны посевной отражает двухвершинная кривая. Резкое снижение количества триппингованных цветков в наиболее жаркие дневные часы при температуре выше +30°C, по мнению А.Н. Пономарева (1950 а), объясняется полуденной депрессией опылителей. Изучение поведения опылителей, проведенное Н.Ю. Малышевой (1997) показало, что активность пчел из рода *Melitta* – одного из основных опылителей люцерны посевной – также имеет два максимума, в отличие от *Megachile* и *Melitturga*, у которых такая депрессия отсутствует. По-видимому, существование двух пиков в опылении нельзя объяснить только полуденной депрессией.

Сходным образом происходит опыление и других многолетних видов люцерны. Исследованный нами ход опыления *M. falcata*, *M. difalcata*, *M. quasifalcata*, *M. caerulea* при дневной температуре, не превышающей +27°C, может быть изображен одновершинной кривой с максимумом с 11 до 15 часов. При повышении температуры до +30°C и более у *M. quasifalcata* и у *M. sativa* наблюдается два пика, а у других видов сохранялся один пик. У *M. caerulea* пик опыления отмечен в 11 часов, у *M. falcata* – в 13 часов, у *M. difalcata* – между 13 и 17 часами, у *M. quasifalcata* отмечены два пика – в 11 и 17 часов.

Наблюдения за опылением *Astragalus onobrychis*, проведенные 30.06.1992 г., в день, когда были зарегистрированы два подъема температуры

воздуха, в 13 и 18 часов, в опылении цветков также выявлено два пика в 15 и 19 часов соответственно.

Окраска венчика многолетних видов люцерны варьирует от почти белой до темно-фиолетовой. Из исследованных многолетних видов люцерны четыре вида имеют желтый венчик цветка – *M. cancellata*, *M. falcata*, *M. difalcata*, *M. quasifalcata*. Виды *M. caerulea*, *M. sativa*, *M. polychroa*, *M. tianschanica* имеют синие цветки разного оттенка. Синецветковые и желтоцветковые виды люцерны не отличаются по суточному ходу распускания цветков. Однако ход триппинга у видов с разной окраской венчика в одни и те же дни наблюдений на соседних делянках различается достоверно ($P = 0,999$). Количество опыленных цветков с синей окраской венчика всегда больше, чем с желтой (Колясникова, Малышева, 1987); процент триппингованных цветков в разные дни наблюдений у первых колеблется от 53,6 до 100% и от 12,8 до 55,8% – у вторых. Подобную зависимость наблюдал Н.И. Малютин (1962, 1969) у дельфиниумов. Пчелы посещали сорта дельфиниума с синими и фиолетовыми цветками чаще, чем с белыми, соответственно семенная продуктивность первых была выше.

У *Melilotus officinalis* окраска венчика желтая, а у *M. albus* – белая. Динамика распускания цветков обоих видов также не зависит от окраски. Наблюдения за ходом опыления двух видов донника, проведенные нами 6.08.2000 г., показали, что *Melilotus albus* как по числу распустившихся за день цветков в соцветии (в среднем 9 цветков у донника белого и 6 – у донника желтого), так и по количеству опыленных цветков превышал *M. officinalis*.

Между диплоидными и полиплоидными видами люцерны и клевера разницы в ходе распускания и опыления цветков не выявлено.

4.3 Автотриппинг, рост пыльниковых трубок, двойное оплодотворение, развитие зародыша и эндосперма после самоопыления

По данным разных авторов, процент триппингующихся цветков у *M. sativa* колеблется от 1,0 до 16,9, достигая в отдельных случаях 57% от числа изолированных цветков (Копержинский, 1946; Елагин, 1953; Бэйтэш, 1952; Зыков, 1967; Квасова, Шумный, 1975; Терещенко, 1981). Внимание исследователей многие годы было сосредоточено только на люцерне посевной, поэтому данные, касающиеся других многолетних люцерн, представляют особый интерес для сравнения. В условиях Северного Приаралья (Актюбинская область, Казахстан) у пяти многолетних видов нами наблюдалось автоматическое раскрытие цветков без участия насекомых-опылителей. Учет проводился на растениях, помещенных в марлевые изоляторы. Из природных факторов учитывались температура и относительная влажность воздуха. Количество цветков с автотриппингом у разных образцов колебалось от 0 до 66,7%. При температуре воздуха ниже +30°C процент цветков с автотриппингом составлял от 0,6 у *M. quasifalcata* до 16,2 у *M. caerulea*. При температуре, превышающей +30°C, этот показатель был существенно выше: от 9,1 (*M. difalcata*) до 25,0 (*M. caerulea*). У трех образцов, относящихся к *M. falcata* и *M. difalcata* автотриппинг не

был зарегистрирован, у *M. sativa* и *M. caerulea* в тот же день он наблюдался у 65,8 и 45,2% цветков соответственно.

Данные свидетельствуют, что, во-первых, в пределах одного вида обнаруживаются растения как с низкой, так и с постоянно высокой способностью к автотриппингу; во-вторых, не обнаруживается видовой специфичности по этому признаку, т.е. признак характерен для всех многолетних видов *Medicago*. Другими словами, мы имеем дело с генетически закрепленным признаком, проявление которого в какой-то мере регулируется экологическими условиями, в частности температурой и относительной влажностью воздуха.

Изучение динамики автотриппинга показало, что пик его приходится на 15–19 часов. Это время совпадает с наступлением второго пика в графике, отражающем число опыленных, вскрытых цветков. Возможно, это совпадение пика автотриппинга и второго пика опыленных цветков связано с тем, что в условиях свободного цветения в эти часы не только усиливается летная активность пчелиных, но и увеличивается число цветков с автотриппингом. В итоге цветки, вскрытые опылителями, и цветки, вскрытые автоматически, суммируются.

Следует отметить, что у синецветковых видов люцерны процент цветков с автотриппингом (22,2–25,0) всегда был выше, чем у желтоцветковых (9,1–20,9).

Динамика автотриппинга и количество цветков с автотриппингом у диплоидных (*M. caerulea*, *M. difalcata*, *M. quasifalcata*) и тетраплоидных (*M. sativa*, *M. falcata*) видов люцерны сходны.

Мы изучали последствия однократного инбридинга у семи многолетних видов люцерны, поставив перед собой цель – выяснить, во-первых, существует ли самонесовместимость при принудительном самоопылении у разных видов и насколько она видоспецифична; во-вторых, оказывает ли влияние на проявление самонесовместимости плоидность вида. Для этого у четырех диплоидных (*M. caerulea*, *M. trautvetteri*, *M. quasifalcata*, *M. difalcata*), двух тетраплоидных (*M. sativa*, *M. falcata*) и одного гексаплоидного (*M. cancellata*) видов люцерны было проведено принудительное самоопыление и зафиксированы пестики через 4, 8, 24, 48, 72, 96 часов после него. Проанализировано 420 цветков.

Все исследованные виды, за исключением *M. cancellata*, оказались частично самосовместимыми. У 48% завязей через 8 часов после принудительного самоопыления наблюдался рост пыльцевых трубок в столбике и на выходе из столбика в завязь. Среди диплоидных видов *M. trautvetteri* характеризовался лучшими показателями по скорости роста пыльцевых трубок в столбике и завязи. Уже через 8 часов после принудительного автотриппинга во всех исследованных цветках наблюдались пыльцевые трубки. Но в это же время в цветках *M. difalcata* при наличии пыльцы на рыльцах пестиков роста пыльцевых трубок не обнаружено. Лишь через сутки в 50% исследованных цветков данного вида зарегистрированы пыльцевые трубки в столбике и завязи.

У тетраплоидных видов показатели роста пыльцевых трубок после искусственного самоопыления значительно меньше, лишь в одном цветке *M. sativa* и четырех – *M. falcata* отмечен рост пыльцевых трубок, хотя через трое суток после опыления, он наблюдался уже в столбиках всех исследованных цветков. У гексаплоидного вида *M. cancellata* рост пыльцевых трубок после самоопыления полностью отсутствовал.

Поскольку самосовместимость была частичной, после самоопыления большая часть семязачатков осталась неоплодотворенной.

Анализ постоянных препаратов завязей этих же растений (фиксация проводилась через 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 часов после искусственного самоопыления) показал, что последствия инбридинга сказались на процессе двойного оплодотворения. О том, что двойное оплодотворение произошло, мы судили по следующим признакам: наличие разрушенных синергид, слияние спермия с яйцеклеткой, присутствие зиготы, тройное слияние полярных ядер и спермия, наличие первичного ядра эндосперма в центральной клетке. Однозначно можно утверждать, что при принудительном самоопылении процесс двойного оплодотворения растянут во времени и осуществляется в течение 24 – 120 часов. При перекрестном опылении, как нами показано далее, этот процесс начинается через 8 часов после опыления и завершается через 48 часов. При принудительном самоопылении наблюдается сильная вакуолизация цитоплазмы центральной клетки, замедлен также темп развития зародыша и эндосперма. Это проявляется в том, что первое деление зиготы и образование двухклеточного проэмбрио осуществлялось только через трое суток, а первый предзародыш с линейной конструкцией появился через четверо-пятеро суток после опыления. У *M. falcata* через 168 часов после автотриппинга отмечены зигота и первые ядра эндосперма. За это время у образцов многолетних люцерн после перекрестного опыления развивались шаровидные зародыши. Возможно, это связано с замедленным ростом пыльцевых трубок в столбике, в результате чего отодвинут момент двойного оплодотворения.

При искусственном автотриппинге число неоплодотворенных семязачатков возрастает в 2,6 раза. При этом также увеличивается число завязей с дегенерирующими оплодотворенными семязачатками в 2,2 раза. Причиной могут быть как нарушения в развитии эндосперма, так и нарушения в развитии зародыша. Нарушения в развитии эндосперма проявляются на стадии булавовидного зародыша. Ядра эндосперма становятся пикнотическими, усиливается вакуолизация цитоплазмы. Однако дегенерация может начаться с зародыша, ядра эндосперма при этом имеют нормальный вид. В дегенерирующих клетках зародыша цитоплазма сжимается и отстает от оболочек клеток.

Таким образом, после однократного принудительного самоопыления часть семязачатков остается неоплодотворенной, часть оплодотворенных семязачатков дегенерирует. В конечном итоге, по нашим данным, только около 2% семязачатков могут дать семена.

Частота гибели оплодотворенных семязачатков у диплоидных видов (*M. caerulea*, *M. trautvetteri*) выше, чем у тетраплоидных (*M. sativa*, *M.*

falcata). Вслед за Э.В. Квасовой и В.К. Шумным (1977) мы считаем, что это связано с гомозиготизацией летальных или полuletальных генов, которая у диплоидных растений происходит с более высокой частотой.

А.С. Новоселова (1986) указывает на возможность самоопыления у некоторых растений в популяции клевера лугового. По данным В.М. Роговченко (1991) у диплоидного клевера лугового уровень самофертильности колебался от 0,1 до 5,3%, у тетраплоидного – от 0,47 до 6,4 %. Инбридинг до третьего поколения выявил передачу самофертильности потомству. Но у инбредных растений наблюдалось снижение массы семян до 63,6 и 73,8%. М.А. Вишнякова (1989, 1991), изучив рост пыльцевых трубок в пестике клевера лугового после принудительного самоопыления изолированных соцветий, обнаружила единичные пыльцевые трубки, рост которых тормозился на 1/3 длины столбика. Она отмечает также, что клевер луговой – типичный пример того, как гаметофитная самонесовместимость сочетается с двухклеточной пылью, влажным рыльцем, полным столбиком и столбиковым ингибированием роста пыльцевых трубок.

По нашим данным, полученным в опытах по завязыванию семян у растений клевера лугового под изолятором, выявлены следующие результаты: в 1999г. на учебно-научной базе «Предуралье» находились под марлевым изолятором соцветия с десяти растений *T. pratense*, через месяц не было обнаружено ни одного боба. Но в опытах с искусственным самоопылением и дальнейшей темпоральной фиксацией цветков через 8, 24, 48, 72, 96, 120 часов из 150 просмотренных завязей в одиннадцати были выявлены картины осуществившегося двойного оплодотворения, а в четырех – шаровидные зародыши и ядра эндосперма. Сходная картина наблюдалась и по другим дикорастущим видам семейства *Fabaceae*, не подвергавшимся селекции. У чины луговой, находившейся под марлевым изолятором, процент завязавшихся бобов составил 0,3, у горошка мышиного и тонколистного – 0. Но при искусственном самоопылении через месяц после нанесения собственной пыли на рыльце пестика у чины луговой завязалось 5% бобов, у горошка мышиного и тонколистного – 48% бобов с числом семян от трех до восьми.

Наблюдения за двумя видами донника *Melilotus albus* и *M. officinalis* показали, что для них характерен наряду с перекрестным опылением довольно высокий процент самоопыления. При отсутствии опылителей под изолятором у *M. officinalis* образовалось до 5,3, а у *M. albus* в среднем до 13,5 бобов на соцветие. Коэффициент продуктивности (8,3 и 15% соответственно) составил 1/3 часть от свободного опыления.

Ранее рядом авторов (Мошкович, 1986; Сагалбеков, 1996) также указывалось на сочетание самоопыления и перекрестного опыления у донников белого, волжского, зубчатого, душистого и желтого.

В пятой главе изложены результаты эмбриологических исследований видов семейства *Fabaceae*.

Нами проведены исследования строения и развития репродуктивных органов 26 видов многолетних бобовых трав: тринадцати видов рода

Medicago, трех – рода *Trifolium*, двух – рода *Melilotus*, четырех – рода *Astragalus*, двух – родов *Vicia* и *Lathyrus*.

Изученные виды имеют хорошо выраженные различия, которые относятся к ряду морфологических признаков, к биологическим свойствам и хозяйственной ценности, у них разная степень ploидности, есть диплоидные, тетраплоидные и гексаплоидные виды люцерны и клевера, тем не менее в протекании эмбриологических процессов наблюдается большое сходство. Поэтому мы излагаем общую картину, которая подкрепляется данными по конкретным видам.

5.1 Развитие стенки пыльника, микроспорогенез и фертильность пыльцы

Пыльники у исследованных видов четырехгнездные, развиваются по типу двудольных. В бутонах первой стадии развития, когда венчик еще полностью скрыт чашелистиками, активно осуществляется дифференциация клеток пыльника. Стенка пыльника четырехслойная, включает эпидермис, эндотеций, средний слой и тапетум. Тапетум секреторного типа одноядерный. В период мейотического деления микроспороцитов осуществляется дифференциация слоев стенки пыльника. Клетки эпидермиса растягиваются и уплощаются, ядра в них деформируются, цитоплазма сильно вакуолизуется. Клетки эндотеция вытягиваются в радиальном направлении и приобретают фиброзные утолщения. Средний слой постепенно сминается. Дегенерация тапетума совпадает по времени со стадией тетрад микроспор и одноядерной пыльцы. Стенка зрелого пыльника состоит из эпидермиса и эндотеция.

Спорогенные клетки в пыльниках люцерны расположены в два – три слоя. Мейоз протекает нормально и синхронно в пределах одного пыльника. Однако, начиная со стадии диакинеза, у *M. caerulea* и *M. quasifalcata* синхронность нарушается как в разных гнездах одного пыльника, так и в разных пыльниках одного цветка. Образование микроспор происходит симультанно, расположение их в тетрадах тетраэдрическое, реже изобилатеральное. Микроспороциты и тетрады микроспор заключены в каллозные оболочки, хорошо заметные при подкраске алциановым синим. Обособление микроспор сопровождается увеличением их размеров, они становятся округлыми. Уже на стадии микроспор в пыльниках встречаются дегенерирующие пыльцевые зерна неправильной формы, смятые. В зрелых пыльниках у всех изученных видов наряду с нормальными двухклеточными пыльцевыми зернами содержится некоторое количество стерильных пыльцевых зерен.

Зрелые пыльцевые зерна двухклеточные, округлые, трехбороздно-апертурные у видов рода *Medicago*, двухклеточные, эллипсоидальные, трехбороздноапертурные – у *Trifolium*, *Melilotus* и *Astragalus*. У *M. caerulea* и *M. polychroa* встречаются единичные четырехпоровые пыльцевые зерна.

По нашим данным размеры пыльцевых зерен по диаметру варьируют от 26,2 мкм до 48,7 мкм. Эти цифры получены при измерении пыльцевых

зерен с временных ацетокарминовых препаратов у девяти многолетних видов рода *Medicago*, трех видов *Trifolium*, двух видов *Melilotus*. Согласно классификации пыльцы покрытосеменных растений Эрдтмана (Erdtman, 1945) пыльцевые зерна исследованных нами видов семейства *Fabaceae* относятся по размерам к средним. Виды *M. difalcata* и *M. trautvetteri* достоверно отличаются от остальных видов люцерны по данному признаку. Среди остальных выделяются две группы: *M. caerulea*, *M. quasifalcata*, *M. polychroa*, *M. sativa* с пыльцевыми зернами от 33,8 до 34,6 мкм и *M. glutinosa*, *M. falcata*, *M. cancellata* с пыльцевыми зернами 35,8 – 36,5 мкм. Менее всего варьируют по размерам пыльцевые зерен *M. difalcata* и *M. polychroa*.

Анализ поверхности пыльцевых зерен у шести многолетних видов люцерны с помощью сканирующего электронного микроскопа (x3750) практически не выявил разницу между изученными видами. Только *M. cancellata* отличалась более крупными неодинаковыми ячейками экзины.

Измерения пыльцевых зерен видов рода *Trifolium* показывают, что у *T. repens* размеры пыльцевых зерен существенно меньше, чем у *T. pratense* и *T. medium*. У клевера среднего и лугового пыльцевые зерна округлые; соотношение длинной оси к короткой 1:1,01 и 1:1,05 соответственно. У *T. repens* этот показатель равен 1:1,1, пыльца эллипсоидальная. *Trifolium repens* достоверно отличается от *T. pratense* и *T. medium* по размерам пыльцы и характеризуется наибольшим размахом варьирования. У *Melilotus officinalis* и *M. albus* пыльцевые зерна сходны по строению, эллипсоидальные, трехбороздноапертурные, незначительно варьируют по размерам, соотношение длины к ширине 1:1,19 и 1:1,14 соответственно.

Для видов, у которых развитие семян возможно только после двойного оплодотворения, высокое качество пыльцы имеет огромное значение. Давление отбора против низкофертильных особей сводит частоту встречаемости дефектных пыльцевых зерен к минимуму. Однако и у них, в результате случайных разнонаправленных нарушений в процессе развития пыльников, неизбежно проявляется некоторое количество стерильных пыльцевых зерен. Их доля невелика. В целом все исследованные виды имеют высокофертильную пыльцу: средний процент растений с такой пыльцой по девяти многолетним видам варьировал от 67,2 до 83,9, по трем видам клевера – от 76,0 до 95,0, по двум видам донника от 88,2 до 97,4.

Поскольку изученные нами виды характеризуются многоцветковыми соцветиями, был проведен сравнительный анализ фертильности пыльцы в зависимости от местоположения цветка в соцветии. В исследование были взяты соцветия *Trifolium medium*, *Melilotus officinalis*, *Vicia cracca*, *V. tenuifolia*. Наибольшая амплитуда колебания фертильности выявлена у *V. cracca*, наименьшая у *T. medium*. Максимальная фертильность пыльцы наблюдается в средней части соцветий. Выявлено закономерное снижение фертильности пыльцевых зерен в верхушечных цветках соцветия.

Из 160 образцов разных видов не обнаружено ни одного образца со 100% фертильностью или 100% стерильностью.

5.2 Развитие и фертильность зародышевых мешков

Семязачатки видов семейства *Fabaceae* кампилотропные, красинуцеллятные, реже тенуинуцеллятные, двупокровные (Мошкович, 1987; Чубирко, Кострикова, 1985). На постоянных и временных препаратах завязей, исследованных нами видов *Medicago* и *Trifolium*, видны кампилотропные, красинуцеллятные, двупокровные семязачатки. У люцерны самый верхний семязачаток к столбиковому концу обычно повернут в сторону рыльца, в то время как остальные – к основанию завязи. Внутренний интегумент двуслойный, наружный содержит три слоя клеток. Оба интегумента принимают участие в образовании микропиле, имеющего зигзагообразную форму.

Число археспориальных клеток у люцерны посевной может быть два–три (Соорег, 1939) или девять (Романенко, 1937). Мы наблюдали в нуцеллусах семязачатков разных видов люцерны от двух до пяти археспориальных клеток, которые, делясь периклинально, образуют мегаспороциты и один–три слоя париетальных клеток. Мегаспороциты закладываются в ранних зеленых бутонах второй–третьей стадии, когда в пыльниках уже завершается мейоз и образуются тетрады микроспор. У клевера лугового закладывается от одной до семи археспориальных клеток (Федорчук, 1944), у донника белого археспорий одноклеточный (Соорег, 1933). Наши исследования показывают, что в результате мейоза, наряду с линейными тетрадами мегаспор, иногда формируются и тетраэдрические. Редко наблюдалось образование двух тетрад мегаспор в нуцеллусе семязачатка у *Trifolium medium* и *Astragalus danicus*. Интегументы в это время только начинают формироваться. Развитие зародышевого мешка происходит в то время, когда в пыльниках образуются одноклеточные микроспоры и двухклеточные пыльцевые зерна, то есть развитие пыльцевых зерен у исследованных нами видов опережает развитие женского гаметофита. Мегаспорогенез нормальный. Из линейной тетрады мегаспор в зародышевый мешок развивается халазальная мегаспора.

На стадии двуядерного зародышевого мешка интегументы еще не достигают полного развития, окончательно они смыкаются, образуя зигзагообразное микропиле, на стадии зрелого зародышевого мешка.

Зародышевый мешок развивается по типу Polygonum. Противоречивы данные в отношении антипод. В соответствии с наблюдениями D.C. Соорег (1935), антиподы к моменту оплодотворения хорошо развиты и разрушаются вскоре после оплодотворения. По результатам исследования R.G. Reeves (1930), Б.В. Романенко (1937), В.М. Нам (1971) и J. Cebrat (1967) у *M. sativa* и *M. media* антиподы исчезают перед оплодотворением. Мы проанализировали не менее 200 зрелых зародышевых мешков у девяти многолетних видов люцерны из распустившихся, но еще нетриппингованных цветков. Наши наблюдения позволяют утверждать, что антиподы эфемерны и дегенерируют до оплодотворения. Зрелый зародышевый мешок четырехклеточный, пятиядерный: яйцевой аппарат типичного строения, полярные ядра в центральной клетке сближены, располагаются в непосредственной близости от яйцеклетки. К. Вижок с соавторами (1973) для люцерны посевной и Д.П.

Терзийски и В.А. Поддубная–Арнольди (1973) для люцерны родопской указывают, что полярные ядра сливаются до оплодотворения и в дальнейшем второй спермий сливается с центральным ядром. Другие исследователи (Маркова, 1959; Нам, 1973; Верещагина, Колясникова, 1990) отмечают, что в зрелом зародышевом мешке у люцерны посевной к моменту оплодотворения сохраняются два неслившихся полярных ядра. У всех многолетних видов люцерны даже через сутки после распускания цветка мы наблюдали сближенные, но не слившиеся полярные ядра. При двойном оплодотворении отмечено тройное слияние.

У клевера лугового и донника белого полярные ядра, сливаясь, образуют вторичное ядро зародышевого мешка (Чуксанова, 1952). Наши исследования зародышевых мешков *Trifolium* и *Melilotus* также подтверждают слияние полярных ядер до оплодотворения, при этом центральное диплоидное ядро почти контактирует с яйцеклеткой. Зрелый зародышевый мешок четырехклеточный, четырехядерный.

Размеры семязачатков, в цветках восьмой стадии развития, готовых к оплодотворению, варьируют в широких пределах у разных видов. Наиболее крупные семязачатки у клевера лугового – 0,82х0,52мм. Следует отметить, что число семязачатков в завязи клевера лугового меньше, чем у клевера ползучего, но размеры их почти в два раза превышают семязачатки второго вида. Семязачатки донника белого и лекарственного одинаковы по размерам (0,34 и 0,40мм), разница не существенна.

На постоянных эмбриологических препаратах у многолетних видов люцерны встречались нарушения в развитии зародышевого мешка. Анализ 1000 завязей показал у четырех из них недифференцированные зародышевые мешки и два зародышевых мешка в одном семязачатке (*Medicago sativa*, *M. caerulea*, и *M. trautvetteri*), у клевера такие аномалии встречались чаще, из 200 просмотренных завязей *Trifolium medium* в 23 обнаружены аномалии строения.

Е.Б. Казачковская (1991) на основании изучения *M. sativa* и *M. varia* определила критерии фертильности зародышевых мешков. По ее мнению, фертильные зародышевые мешки – это длинные зародышевые мешки, окруженные тонкой углеводной оболочкой. Они почти полностью заполнены крахмальными зернами, имеют хорошо дифференцированный яйцевой аппарат и два полярных ядра до оплодотворения; крахмал занимает не менее двух третей центральной клетки и представлен крупными округлыми или в той или иной степени расчлененными крахмальными зернами.

Ряд авторов (Федорчук, 1944; Огородникова, 1989; Чулкова, 1992) считают, что основной причиной низкой семенной продуктивности у клевера лугового является большое количество разнообразных нарушений развития женского гаметофита. А.С. Новоселова, Е.А. Косицына-Пинетина и А.В. Шпетя (1987) выявили причины неразвития второго семени у клевера лугового: дегенерация зародышевого мешка и семязачатков до опыления, дегенерация зародышевого мешка без оплодотворения, возможная дегенерация зародыша при нарушении развития эндосперма и общая дегенерация зародыша и эндосперма.

Наши исследования семязачатков клевера лугового и среднего с помощью йодной методики, показывают незначительную их стерилизацию. Из 100 просмотренных пестиков у *Trifolium pratense* только в восьми и у *T. medium* в пяти завязях обнаружены стерильные семязачатки. Изучение фертильности семязачатков клевера лугового методом люминесцентной микроскопии показало, что из 200 исследованных завязей в семнадцати выявлены стерильные, при аналогичных исследованиях у люцерны посевной из 1300 в 146 (табл. 2).

Довольно интересная картина по частоте встречаемости нарушений семязачатков выявлена нами у видов рода *Astragalus*: *A. danicus*, *A. onobrychis* и видов-эндемиков, находящихся под угрозой исчезновения, *A. kungurensis*, *A. permiensis*. Анализ семязачатков *Astragalus danicus* и *A. onobrychis* на постоянных цитозамбриологических препаратах, а также на временных микропрепаратах, исследованных с помощью йодной и люминесцентной микроскопии, показал наличие ряда аномалий в их развитии и строении. Они сходны с таковыми у других исследованных нами видов люцерны и клевера. Но по двум другим видам астрагалов – *A. kungurensis* и *A. permiensis* выявлено значительное увеличение числа нарушений. Ценопопуляции *A. permiensis* были исследованы в естественных местах обитания на камнях Говорливом и Писаном р. Вишеры. Особенно в угнетенном состоянии находится вторая, число особей которой едва достигло 100. Растения *A. permiensis* растут на отвесных скалах, в расщелинах, по карнизам. Из-за присутствия растений-конкурентов, чаще посещаемых шмелями – опылителями астрагалов, недостатка влаги, семенное возобновление их нарушено. Фертильность пыльцевых зерен *A. permiensis* составила в среднем 51,5%, семязачатков – 88,3%. Процент продуктивности составил 34%, но всхожесть семян оказалась исключительно низкой. Она варьировала от 50 до 80%. Видимо, это связано с гомозиготизацией летальных генов у растений изолированной популяции *A. permiensis* на камне Писаном. Сходная картина наблюдалась и у *A. kungurensis*, встречающегося на горе Подкаменная правобережья р. Сылвы. Неблагоприятная экологическая обстановка, сложившаяся в местах произрастания этого вида, приводит к снижению его численности. Если в 1978 г. в популяции насчитывалось около 500 особей (Белковская, 1978), то к 1983 г. численность его упала до 300 (Горчаковский, Зуева, 1984), а в 1992 г. мы насчитали около 50 цветущих особей (Колясникова, 2004). Число аномалий в строении зародышевых мешков этих видов превышало в 2,5 раза количество стерильных семязачатков у широкораспространенных, обитающих в благоприятной фитоценотической обстановке, видов *A. danicus* и *A. onobrychis*.

Нарушения в развитии и строении семязачатков у разных видов семейства *Fabaceae*

Вид	Отмирание клеток и тетрад макроспор	Нарушения гаметофитогенеза	Отсутствие дифференцированного зародышевого мешка	Нарушение синтеза крахмала	Формирование толстой оболочки вокруг зародышевого мешка	Задержка лизиса нуцеллуса	Стерильные семязачатки	Недоразвитие размеров зародышевого мешка	Недоразвитие фуникулуса	Отсутствие зародышевого мешка	Аномалии в строении интегументов	Дегенерация зародыша	Дегенерация эндосперма	Авторы, год
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<i>Medicago sativa</i>	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	Колесникова, 1985; Верещагина, 1986; Колесникова, 1991; Колесникова, 1985; Орел с соавт., 1991; Казачковская, 1991; Орел с соавт., 1991
<i>M. varia</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+			Колесникова, 1985; Орел с соавт., 1991; Казачковская, 1991; Верещагина, 1985; Колесникова, 1986; Колесникова, 1991
<i>M. sateniza</i>			+	+		+	+	+						Верещагина, 1986; Колесникова, 1986; Колесникова, 1991
<i>M. quasifalca- ta</i>				+		+	+	+						Верещагина, 1986; Колесникова, 1986; Колесникова, 1991
<i>M. falcata</i>			+	+	+	+	+	+				+	+	Колесникова, 1985; Верещагина, 1986; Колесникова, 1991
<i>M. difalcata</i>			+	+		+	+							Верещагина, 1986; Колесникова, 1986; Колесникова, 1991
<i>M. grandicarpa</i>				+		+	+					+	+	Колесникова, 1985; Верещагина, 1986; Колесникова, 1991
<i>M. pinnatifida</i>				+		+	+	+						Верещагина, 1986; Колесникова, 1986; Колесникова, 1991

[illegible]

Таким образом, использование экспресс-методов определения состояния мужского и женского гаметофитов весьма перспективно. Это позволяет в сжатые сроки выявить возможные причины отсутствия семенного возобновления ценопопуляций видов, находящихся под угрозой исчезновения.

Изучение фертильности семязачтков в зависимости от местоположения цветка в соцветии показало сходную картину с развитием пыльцы. Также выявлено возрастание числа аномалий в строении и развитии семязачтков в верхушечных цветках соцветия. По-видимому, это связано с оттоком питательных веществ на сформировавшиеся ранее нижние цветки соцветия. Но в сравнении с мужским (снижение фертильности на 24%), стерилизация женского гаметофита (снижение фертильности на 10%) незначительна и некоторая часть бобов может сформироваться в более поздние сроки растянутого периода цветения – опыления – плодоношения.

Таким образом, одной из существенных причин низкой семенной продуктивности многолетних бобовых кормовых трав являются нарушения в развитии репродуктивных органов, гибель семязачтков происходит на всех стадиях развития завязи и семязачтков, начиная с заложения спорангальной ткани – археспориальных клеток – до момента созревания семян (табл. 2). Существует генетически закрепленная частичная гибель женского гаметофита у многоцветковых, с достаточно большим числом семязачтков в завязи, видов. Аномалии в строении семязачтков разнообразны, происходят на разных этапах развития и частота встречаемости их варьирует как у разных растений одного вида, так и между видами и родами.

5.3 Двойное оплодотворение, развитие зародыша и эндосперма

Для изучения роста пыльцевых трубок и двойного оплодотворения цветки изучаемых нами видов фиксировались через 4, 8, 16, 24, 48, 72, 96, 120 часов после принудительного перекрестного опыления. Анализ 600 временных препаратов видов рода *Medicago* позволил выявить такую последовательность. Прорастание пыльцы на рыльцах цветков люцерны начинается в среднем через четыре часа после перекрестного опыления: через восемь часов в большей части пестиков пыльцевые трубки находятся на выходе из столбиков. В отдельных случаях через восемь часов пыльцевые трубки достигают первого семязачтка в завязи. Таким образом, наиболее активный рост пыльцевых трубок в столбиках многолетних видов люцерны наблюдается с момента опыления в течение суток. В это время пыльцевые трубки легко обнаруживаются в тканях столбика и семязачтках с помощью люминесцентной микроскопии благодаря свечению каллозы, содержащейся в значительных количествах в концевых участках трубок, в оболочке, а также в каллозных пробках. Через 24 часа после опыления пыльцевые трубки дорастают до третьего–пятого семязачтков.

У 306 растений *M. caerulea* и *M. falcata* был исследован темп роста пыльцевых трубок после искусственного перекрестного опыления в одно-, двух- и трехдневных цветках этих видов (Колясникова, 1989). Достоверной разницы между видами не обнаружено. Но в пределах каждого вида при

увеличении возраста цветка обнаруживалось уменьшение количества пестиков с пыльцевыми трубками. На четвертые сутки после распускания цветка растущие пыльцевые трубки в столбике отсутствуют, хотя на рыльцах таких цветков много пыльцевых зерен. Мы связываем это с тем, что подсыхает и нарушается воспринимающая поверхность рыльца.

Проникновение пыльцевой трубки в зародышевый мешок и двойное оплодотворение чаще всего осуществляются в течение 24–48 часов после опыления. Двойное оплодотворение первых семязачатков регистрируется через 8–24 часа после опыления. Оплодотворение у бобовых порогамное. Пыльцевая трубка проникает в зародышевый мешок через одну синергиду, разрушая ее, вторая синергида сохраняется до начала деления зиготы. Реже при прохождении пыльцевой трубки в зародышевый мешок разрушаются обе синергиды. Спермии вступают в контакт с ядром яйцеклетки и одним из полярных ядер почти одновременно, но образование первичного ядра эндосперма завершается быстрее, чем образование зиготы. Первичное ядро эндосперма вступает в деление, давая начало ядрам эндосперма. Эндосперм нуклеарного типа: его преобразование в клеточный наблюдается на стадии шаровидного зародыша, через семь–восемь суток.

Когда сформируются четыре–шесть ядер эндосперма, отмечается первое деление зиготы – через 48 часов после опыления. Зигота у всех изученных многолетних видов люцерны делится поперечно, образуя апикальную и базальную клетки. Четырехклеточный проэмбрио образуется в результате деления поперечной перегородкой апикальной и базальной клеток. Последующие деления происходят только в апикальной клетке четырехклеточного проэмбрио и ее производных, в результате чего возникает линейный проэмбрио. Собственно эмбриогенная клетка делится вначале продольно, а потом обе клетки делятся поперечными перегородками. В итоге образуется шаровидный зародыш. Развитие зародыша идет по *Caryophyllad* типу, *Medicago* вариации, что соответствует данным других авторов по люцерне посевной (Нам, 1973; Sangduen, Kreitner, Sorensen, 1983).

Зрелый зародыш содержит две крупные, круглой, овальной или удлиненной формы семядоли, небольшую почечку и толстый корешок, кончик которого соприкасается с рубчиком. Эндосперм переходит в клеточное состояние на 2/3 всей длины в микропиллярной части зародышевого мешка. В халазальной части эндосперм остается ценоцитным, а его ядра имеют разные размеры и форму. Для ранней стадии образования эндосперма характерно обильное отложение крахмала.

Наши исследования показали, что клетки подвеска, примыкающие непосредственно к зародышу, могут делиться как в продольном, так и в поперечном направлении. В результате формируются либо короткие и толстые, либо длинные и тонкие подвески. Анализ 160 многоклеточных зародышей показал, что первый тип подвеска характерен для *M. difalcata*, *M. sativa*, *M. polychroa*, второй – для *M. falcata*, *M. cancellata*, *M. varia*, *M. caerulea* (Колясникова, 1987).

По картинам развития зародыша *M. albus* и *M. officinalis* наши данные согласуются с результатами исследований эмбриогенеза *M. albus* Н.С. Ерохиной и С.В. Шевченко (1995). Деление зиготы поперечной перегородкой приводит к образованию двухклеточного проэмбрио. Далее и апикальная и базальная клетки делятся поперечно. Из базальной образуется длинный и тонкий, однорядный суспензор. Апикальная клетка в дальнейшем, делясь продольно и поперечно, дает собственно зародыш. Вслед за Н.С. Ерохиной и С.В. Шевченко мы констатируем, что развитие зародыша у *M. albus* и *M. officinalis* идет по Solanad типу.

У исследованных нами четырех видов рода *Astragalus* пыльцевая трубка проникает в зародышевый мешок через одну из синергид, иногда разрушаются обе синергиды. Первичное ядро эндосперма вступает в деление раньше деления зиготы. Эндосперм нуклеарного типа, клеткообразование мы наблюдали на стадии сердечковидного зародыша.

Первое деление зиготы наступает после образования восьми-десяти ядер эндосперма, которые располагаются в микропилярной части зародышевого мешка. Зигота делится поперечно, образуя двухклеточный проэмбрио. Апикальная клетка делится косой перегородкой, формируя собственно зародыш. Эмбриогенез у исследованных астрагалов, по-видимому, можно отнести к Onagrad типу Trifolium вариации. Сравнивая наши данные с результатами исследования Р.К. Гамбаровской (1986), следует отметить, что она определяет развитие зародыша астрагала нутового и ложносладолистного по Cruciferae –типу. М.М. Чубирко и Л.Н. Кострикова (1985) указывают на Onagrad – тип развития зародыша у трибы *Astragaleae*.

Результаты эмбриологических исследований многолетних кормовых бобовых культур, выполненные нами, были включены в базу данных по бобовым. В.А. Верещагиной и Л.В. Новоселовой (1995) разработана детальная структура полей. В 1999 году ILDIS (International legume datbase & information servise) одобрил начало работ в Пермском государственном университете по созданию базы данных «Репродуктивная биология видов семейства *Fabaceae*» (Верещагина, Новоселова, 2000; Верещагина, Новоселова, Колясникова, Сивков, 2003) и подтвердил заинтересованность в пополнении информационных ресурсов семейства *Fabaceae* данными о репродуктивной биологии. ILDIS включил ссылку на ресурсы в сайт проекта после публикации базы данных «Репродуктивная биология видов семейства *Fabaceae*» в Интернете (адрес: http://www.psu.ru/db_plant).

В настоящее время основными разделами Web-сервера являются: описание данного проекта, описание полей, база данных по репродуктивной биологии видов семейства *Fabaceae*, иллюстрации, литература, тематический список ресурсов сети Интернет, виртуальная конференция и контактная информация. База данных «Репродуктивная биология видов семейства *Fabaceae*» содержит информацию о 36 видах растений данного семейства, включая 20 однолетних и 12 многолетних видов *Medicago*. В дальнейшем предполагается увеличение числа описанных видов семейства *Fabaceae*. На данный момент на Web-сервере зарегистрировано около 2000 обращений более чем из десяти стран мира.

В шестой главе рассмотрены особенности эмбриологии инбредных форм люцерны в связи с низкой семенной продуктивностью.

6.1 Динамика состояния семязачатков в цветках разных видов люцерны

В связи с использованием в селекции люцерны признаков автотриппинга и самофертильности, необходимо изучить влияние инбридинга на репродуктивные органы у люцерны. Как отмечалось нами ранее, достаточно большое число семязачатков закладывается у всех исследованных образцов многолетних видов. Известно, что у люцерны посевной даже при достаточной обеспеченности опылителями и при большом числе закладывающихся семязачатков в завязи число семян, образовавшихся в бобе, невелико. Поэтому мы проследили динамику состояния семязачатков с момента распускания цветка (семязачатки со зрелыми зародышевыми мешками) до стадии зрелых бобов (завершение дифференциации зародыша) после свободного перекрестного опыления. Установили, что общее число семязачатков, закладывающихся в завязи у различных видов, колеблется от 5,6 (*Medicago cancellata*) до 10,1 (*M. polychroa*). Средние значения этого показателя у одного вида в разные годы и в разных экологических условиях достоверно не различаются, что позволяет считать данный признак наследственно закрепленным.

У всех исследованных видов люцерны обнаруживается дегенерация части семязачатков до опыления. Среднее число стерильных семязачатков, приходящихся на завязь, выявленных методом люминесцентной микроскопии, у разных видов невелико (1–2) и в разные годы непостоянно. Этот признак не является видовым. Появление признака не зависит от положения семязачатков в завязи, что проверено методом люминесцентной микроскопии на 1300 завязях.

В целом фертильность семязачатков оказалась довольно высокой: из 120 растений дикорастущих видов, исследованных на Приаральской опытной станции (Актюбинская область, Казахстан), нет ни одного высокостерильного (Верещагина, Колясникова, 1986, 1993).

Фертильные семязачатки можно разделить на три неравные в количественном отношении группы:

- фертильные, но неоплодотворенные;
- оплодотворенные, но дегенерирующие вследствие аномалий развития эндосперма;
- оплодотворенные, развивающие нормальные семена.

У всех видов была велика доля неоплодотворенных семязачатков, в среднем она составляла 47% от числа фертильных семязачатков. Фертильные семязачатки определялись по признаку наличия каллозы в нуцеллусе. Возможно, часть из них стерильна, но использование данного метода не позволило это обнаружить. Зародышевые мешки в этих семязачатках морфологически нормально развиты и сохраняются после опыления до 120 часов, затем в них наблюдаются признаки дегенерации.

Возможно, фертильные семязачатки остаются неоплодотворенными вследствие экологических причин. Для преодоления биогенотической депрессии желательно создавать условия для опылителей в соответствии с рекомендациями, основанными на изучении экологии опыления люцерны (Пономарев, 1975). Селекционный путь решения этой задачи – создание самоопыляющихся форм. Неоплодотворенные семязачатки встречались у всех изученных образцов, при этом все растения находились на коллекционном участке в одинаковых экологических условиях.

Можно предположить и существование генетических причин отсутствия оплодотворения в нормальных по морфологии семязачатках. Для окончательного решения вопроса о том, какой фактор в данном случае является ведущим – экологический или генетический – необходимы дополнительные исследования по особой программе, в том числе по действию на стерильность семязачатков мейотических генов.

Некоторые семязачатки дегенерировали уже будучи оплодотворенными, они дают шуплые неполноценные семена.

Доля таких семязачатков варьирует у разных видов, и в целом она невелика. Одной из причин дегенерации являются нарушения в развитии эндосперма, обнаруживающиеся на стадии проэмбрио. Ядра эндосперма подвергаются пикнозу, при окраске железным гематоксилином приобретают вид темноокрашенных сгустков. Затем начинается дегенерация зародыша: границы между клетками становятся неясными, их очертания принимают уродливую форму. По результатам изучения 1360 завязей можно сделать вывод, что дегенерация оплодотворенных семязачатков не зависит от их положения в завязи.

Итак, независимо от общего числа семязачатков в завязи выход семян мал, он колеблется от 2,4 (у *M. cancellata*) до 4,2 (у *M. sativa*), по-видимому, селекционный отбор растений по изначально большому числу семязачатков малоэффективен (Верещагина, Колясникова, 1986).

6.2 Состояние пыльцы и семязачатков, семенная продуктивность *Medicago sativa* с первого по пятое поколение инбридинга

Мы изучили фертильность пыльцевых зерен люцерны посевной первого – пятого поколения инбридинга (Колясникова, 1997). Исследования проведены в 1984–1987 гг. *Medicago sativa*, несомненно, является важнейшей сельскохозяйственной культурой в пределах рода *Medicago*. Ее изучение с самых разных позиций представляет практический интерес. Мы особо выделили результаты изучения инбредных форм люцерны посевной. Инбредные растения с первого по пятое поколение инбридинга были любезно предоставлены нам Н.И. Дзюбенко на Приаральской опытной станции ВИР (Актюбинская область, Казахстан).

Среди инбредных растений встретились как высокофертильные, так и высокостерильные растения. Наибольшее снижение фертильности наблюдалось у второго поколения инбридинга. В следующем поколении она возростала, но еще не достигала обычного для этого вида уровня. Как и следовало ожидать, амплитуда фертильности пыльцы у инбредных растений

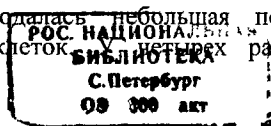
гораздо больше, чем у аутбредных. Если у люцерны посевной в норме фертильность пыльцы варьировала от 31 до 95,6%, то у инбредных растений - от 8,4 до 94,8%. Цитозмбриологический анализ пяти растений второго поколения инбридинга с фертильностью от 8,4 до 16,5% показал, что нарушения в развитии микроспороцитов и микроспор были выявлены в профазе первого деления мейоза и стадии тетрад, в которых наблюдались цитомиксис в зиготене и диакинезе профазы первого деления (П I), пентады и гексады микроспор в телофазе второго деления (Т II).

Мы наблюдали картины цитомиксиса не только в попарно расположенных клетках, но и в целых комплексах из трех, четырех, пяти микроспороцитов. Характерным признаком, предшествующим цитомиксису, является попарное сближение ядер соседних клеток в профазе первого деления мейоза (лептотене-зиготене). Следствием цитомиксиса может быть дегенерация микроспороцитов еще до метафазы первого деления. В этом случае они остаются меньше по размерам, интенсивнее окрашиваются, ядро не просматривается, оболочка спадается. Цитомиксису также предшествует появление цитоплазматических мостов, по которым возможна миграция ядерного материала. Образуются мосты в результате нарушений нормального отложения каллозы, отделяющей микроспороциты друг от друга в начале мейоза. Миграция хроматина резко нарушает структуру хромосом, вследствие чего изменяется процесс конъюгации: не образуются нормально биваленты. Наблюдается образование пентад и гексад микроспор. В результате таких нарушений в развитии микроспор формируются стерильные пыльцевые зерна. Они всегда мельче, со смятыми оболочками, иногда просматривается сжатая цитоплазма и остатки ядра. Пыльник остается чаще всего четырехгнездным, стенка пыльника состоит из эпидермиса, увеличенных клеток эндотеция, но без фиброзных утолщений, остатков тапетума.

Мы проанализировали состояние семязачатков у инбредных форм люцерны посевной.

Разницы по числу семязачатков между инбредными и аутбредными растениями не выявлено. Инбредная депрессия влияет на фертильность семязачатков: во втором и третьем поколениях инбридинга происходит значительное увеличение числа стерильных семязачатков в завязи. У аутбредных растений стерильные семязачатки составляют 14,1% от общего их числа, у второго поколения инбридинга (I_2) - 24,5%, а у третьего поколения (I_3) - 23,0%, число их возрастает почти в два раза.

Среди растений второго поколения инбридинга выделены образцы со стерильностью семязачатков 95%. Большая часть завязей таких растений оказались полностью стерильными, в остальных из восьми-десяти семязачатков на завязь фертильными были один-два. По форме и размерам стерильные семязачатки не отличались от фертильных, они имели нормально развитые интегументы, но нормально развитый зародышевый мешок отсутствовал. Ближе к микропиле наблюдалась небольшая полость, заполненная остатками дегенерирующих клеток.



второго поколения инбридинга обнаружены аномальные семязачатки с недоразвитыми интегументами. Нуцеллус в таких семязачатках выступает наружу, зародышевый мешок недифференцированный, дегснерирующий, может быть также и два недифференцированных зародышевых мешка. Наружный интегумент покрывает семязачаток примерно на 1/3 ее длины, внутренний интегумент выступает за пределы наружного, не смыкаясь. Иногда внутренний интегумент полностью закрывает нуцеллус, но микропиле не формируется. Такие семязачатки составляли 2,2–24,4% от общего числа исследованных семязачатков завязи.

У растений второго и третьего поколений инбридинга также выявлен третий тип стерильных семязачатков, в которых не сформированы интегументы и нет зародышевого мешка. Эти семязачатки имеют неправильную овальную форму, и они заполнены однородными клетками.

О наличии у люцерны посевной женской стерильности впервые сообщил D.C. Childers (1960). Он отмечал, что у 85% семязачатков таких растений отсутствует зародышевый мешок, а у остальных они абортивные. E.T. Bingham, J.N. Pfeifer (1984) обнаружили иное проявление женской стерильности: развитие женского гаметофита нормальное, а развитие интегументов задерживается. Генетическое исследование показало, что женская стерильность контролируется рецессивным геном *fs*. Такие растения гомозиготны (*fs fs*).

Семязачатки с недоразвитыми интегументами у люцерны сорта *Vela* также наблюдали Л.И. Орел и Л.Н. Константинова (1986). По мнению авторов, это мутантные формы. Мы считаем, что появление таких стерильных семязачатков – результат инбредной депрессии этих растений. Наше убеждение основано на том, что, изучив эмбриологически 48 аутбредных растений люцерны посевной и девять образцов люцерны первого – третьего поколений инбридинга, мы обнаружили такие аномалии только у инбредных растений второго – третьего поколений.

Инбредная депрессия проявляется также в возрастании количества нарушений в развитии зародышевого мешка, которые встречаются и у аутбредных растений: недифференцированные зародышевые мешки, несколько зародышевых мешков с нарушенной поляризацией ядер в семязачатке. У дикорастущих образцов такие нарушения встретились нам в четырех завязях из 1000 просмотренных, у инбредных – в 19 из 764 исследованных завязей, то есть обнаруживались в пять-шесть раз чаще.

Таким образом, инбредная депрессия в первом – третьем поколениях инбридинга проявляется в увеличении числа нарушений в развитии зародышевого мешка, а также в появлении новых аномалий. Критической является стадия формирования зародышевого мешка (от двуядерного до дифференцированного восьмиядерного зародышевого мешка).

У четвертого и пятого поколений инбридинга число стерильных семязачатков вновь снижается до уровня неинбредных.

Сравнительным анализом динамики состояния семязачатков аутбредных многолетних видов и инбредных растений люцерны посевной, установлено, что процент фертильных, но неоплодотворенных семязачатков

у инбредных растений почти не изменился и составил от 28 до 45%, у аутбредных растений – 25–57%. Но число семязачатков, дегенерирующих после оплодотворения, у инбредных растений было в два – три раза больше.

Нами зарегистрировано снижение числа семян в бобе уже у первого поколения инбридинга. Самое значительное снижение этого показателя отмечено у второго поколения – до 2,86 семян, приходящихся на один боб, а в следующем поколении число семян возрастает и в четвертом поколении достигает нормы (4,72). В связи с этим, использование инбридинга в селекции на высокую семенную продуктивность является весьма успешным и перспективным.

В седьмой главе рассмотрены вопросы семенной продуктивности разных видов семейства *Fabaceae*.

7.1 Семенная продуктивность кормовых бобовых трав

Мы провели сравнительную оценку семенной продуктивности *Medicago sativa* и пяти дикорастущих многолетних видов люцерны, *Trifolium pratense* и двух многолетних видов клевера, *Melilotus albus* и *M. officinalis*, *Vicia cracca* и *V. tenuifolia* (табл.3).

Растения люцерны выращивались в сходных условиях на делянках с регулярным поливом. Наблюдения за дневным ходом лета пчелиных, проведенные на этих же растениях (Малышева, 1987), показали высокую обеспеченность агроценоза опылителями. Наибольшая потенциальная семенная продуктивность (ПСП) выявлена у *M. caerulea*, она составила 19347,2 семязачатка на генеративный побег. Наименьшая семенная продуктивность у *M. cancellata*, она оказалась равной 2110,4. Остальные виды по числу закладывающихся семязачатков на генеративный побег занимают промежуточное положение. Реальная семенная продуктивность у исследованных шести многолетних видов оказалась почти в десять раз ниже потенциальной. Ее наибольшее значение – 2422,3 – зарегистрировано у *M. caerulea*, наименьшее – 161,6 – у *M. cancellata*. Интересен тот факт, что люцерна посевная, занимая среднее положение по числу соцветий на генеративный побег, цветков в соцветии, семязачатков в завязи, выходит на первое место по количеству семян, приходящихся на один боб, среди других видов. Несомненно, это результат многолетней селекции посевной люцерны.

Процент семязачатков, давших семена (С/с), варьировал от 32 у *M. caerulea* до 43 у *M. difalcata*. *M. sativa* занимает среднее положение среди остальных исследованных многолетних видов по показателям семенной продуктивности. Следует отметить, что у видов, для которых генетически детерминировано большое число семязачатков в завязи, в дальнейшем меньший процент образует семена. Так у *M. caerulea* закладывается в среднем 10 семязачатков в завязи, но только 32% из них дают семена. И наоборот, у *M. difalcata*, где в среднем 6,8 семязачатков в завязи, в дальнейшем сформировались в семена 43%. Значит отбор генотипов, определяющих большое число семязачатков на завязь, в результате нехватки питательных веществ, будет не эффективен.

**Семенная продуктивность исследованных видов семейства *Fabaceae*
(фрагмент)**

Название вида, плоидность	Год	ПСП	УРСП	РСП	Кпр, %	С/с, %	Кс, %	Ксзр, %
<i>Medicago sativa</i> , 4x	1985	10573,2	3693,2	2181,5	20	32	35	59
<i>M.falcata</i> , 4x	1985	5465,0	2455,7	1647,2	30	34	45	67
<i>M.difalcata</i> , 2x	1985	5054,7	1613,6	1405,8	27	43	31	87
<i>M.quasi-falcata</i> , 2x	1985	7298,9	3202,9	2017,6	27	36	43	63
<i>M.caerulea</i> , 2x	1985	19347,2	4568,1	2422,3	12	32	24	53
<i>M.cancellata</i> , 6x	1985	2110,4	296,5	161,6	8	39	14	54
<i>Trifolium pratense</i> , 2x	1995	621,5	169,2	150,6	24	55	27	89
<i>T.medium</i> , 2x	1995	252,7	67,7	61,6	24	50	27	91
<i>T.repens</i> , 6x	1995	176,5	98,3	70,2	40	44	56	71
<i>Melilotus albus</i> , 2x	2000	5988,3	2044,1	1580,9	26	47	34	77
<i>M.officinalis</i> , 2x	2000	2744,7	473,7	394,8	14	26	17	83
<i>Vicia cracca</i>	2001	2049	-	409	20	84	-	-
<i>V. tenuifolia</i>	2001	4976	-	680	14	91	-	-

ПСП – потенциальная семенная продуктивность;

УРСП – условно-реальная семенная продуктивность;

РСП – реальная семенная продуктивность;

Кпр – коэффициент продуктивности (отношение РСП/ПСП);

С/с – процент семязачатков, давших семена;

Кс – коэффициент семяобразования (отношение УРСП/ПСП);

Ксзр – коэффициент созревания (отношение РСП/УРСП).

Сравнительный анализ семенной продуктивности диплоидных (*M. caerulea*, *M. difalcata*, *M. quasifalcata*) и тетраплоидных видов люцерны (*M. sativa*, *M. falcata*), показывает, что между диплоидными и тетраплоидными видами нет значительной разницы по коэффициентам продуктивности, семяобразования и созревания. У тетраплоидных видов люцерны в сравнении с диплоидными число цветков в соцветии существенно меньше, по остальным исследованным признакам и свойствам (размеры цветков, степень автотриппинга, ход распускания и опыления цветков, семенная продуктивность) они не отличаются. Значительно отличается гексаплоидный вид *M. cancellata*, у которого формируется малое число соцветий на побег, цветков в соцветии, семязачатков в завязи и соответственно исключительно низкая потенциальная и реальная семенная продуктивность.

Из трех видов клевера наибольшими потенциальными возможностями образования семян характеризуется *T. pratense*, в разные годы исследований ПСП его составила 508,7 и 742,2. Но коэффициент продуктивности *T. pratense* ниже, чем у *T. repens* (23-25% и 35-45% соответственно). Анализ семязачатков, давших семена, коэффициентов семяобразования и созревания, показывает, что основная доля повышения Кпр. *T. repens* связана с оплодотворением большего числа цветков соцветия по сравнению с *T. pratense*, где почти 50% цветков остаются неоплодотворенными, засыхают и опадают. В связи с этим для увеличения семенной продуктивности клевера одним из ведущих показателей для селекции должен быть процент завязавшихся бобов в соцветии.

По семенной продуктивности донника белого и донника лекарственного наблюдается сходная картина с другими исследованными нами видами. ПСП существенно превышает РСП. Снижение происходит при образовании бобов, почти 50% цветков остаются неоплодотворенными и в дальнейшем осыпаются. Следующий этап снижения ПСП состоит в том, что из оплодотворенных семязачатков лишь половина дает семена. В итоге потенциальные возможности семенной продуктивности реализуются лишь на 14-24%.

Анализ семенной продуктивности *Vicia* показывает, что, в отличие от остальных изученных в этом плане видов, доля семязачатков, давших семена, значительно больше (84-97%). По остальным показателям (коэффициентам продуктивности, семяобразования, созревания) картина сходная: только из 15-24% цветков образовались плоды.

Очевидно, что семенная продуктивность многолетних кормовых бобовых трав зависит от комплекса генетических и экологических факторов: соответствующие гены фенотипически проявляются на цитологическом и эмбриологическом уровнях. Они обуславливают стерильность пыльцы, аномалии развития семязачатков и их элементов, контролируют самонесовместимость. Также на семенную продуктивность влияют климатические и погодные условия, поражаемость вредителями и болезнями, наличие опылителей и др.

Обобщая результаты, полученные при изучении семенной продуктивности многолетних бобовых, следует отметить, что ПСП

значительно превышает УРСП и РСП. Коэффициент продуктивности варьирует от 8 до 30% у люцерны, от 20 до 45% у клевера, от 14 до 26% у донника.

Причины снижения семенной продуктивности следующие:

во-первых, происходит стерилизация части семязачатков до опыления. У разных видов люцерны она варьирует от 1 до 21%, у клевера – от 8 до 32%, у донника – от 0 до 13%. Стерилизация обусловлена как генетическими, так и физиологическими факторами; в верхушечных цветках соцветия, сформировавшихся позднее и в соцветиях, образовавшихся в более поздние сроки, процент стерильных семязачатков выше;

во-вторых, происходит гибель фертильных, оплодотворенных семязачатков. Чаще такие картины наблюдались у растений разных видов клевера (до 16%). У исследованных видов люцерны дегенерирует до 15% семязачатков, у видов донника – до 8%;

в-третьих, часть цветков остаются неопыленными и, соответственно, фертильные семязачатки – неоплодотворенными. Это может быть связано с неблагоприятными условиями среды, нехваткой опылителей, наличием цветущих одновременно других видов. В дальнейшем наблюдается дегенерация неоплодотворенных семязачатков. На этот этап приходится основная доля снижения семенной продуктивности у изученных растений видов люцерны (до 46% семязачатков) и донника (до 50%), в меньшей степени у видов клевера (до 32%). Этот период является определяющим для будущего урожая семян.

Следует отметить с одной стороны, что у видов, для которых характерно увеличенное число закладывающихся соцветий на генеративном побеге и цветков в соцветии, или обоих признаков одновременно, как правило коэффициент продуктивности, то есть реализация ПСП, ниже, чем у остальных видов. Например, у *Medicago caerulea* закладывается наибольшее число соцветий на побег и цветков в соцветии (107,4 и 17,9 соответственно), но коэффициент продуктивности составил всего 12% в отличие от 30% у *M. falcata* с наименьшим числом цветков в соцветии (6,5) или 27% у *M. difalcata* с меньшим числом соцветий на побег (61,7). Сходная картина наблюдается и у изученных клеверов. *Trifolium pratense* отличается наибольшим числом соцветий и цветков по сравнению с *T. repens*, но реализация его потенциальной семенной продуктивности составляет всего 23-25%, в то время как у *T. repens* она составила 35-45%. Вероятно, причина этого кроется в недостатке питательных веществ для развития полноценных семян при избыточно большом числе репродуктивных элементов. То есть отбор на увеличение этих показателей (число цветков в соцветии, семязачатков в завязи) не приведет к повышению семенной продуктивности.

С другой стороны фертильность семязачатков *M. falcata* несколько выше, чем у других исследованных видов люцерны и, соответственно, коэффициент продуктивности данного вида оказался самым высоким. Кроме того, исследованиями Е.Б. Казачковской, М.А. Вишняковой, Л.И. Орел (1991) показано, что при высокой стерилизации семязачатков в завязи, когда сохраняются фертильными только два-три, в дальнейшем, независимо

от имеющихся пыльцевых трубок, они остаются неоплодотворенными. Таким образом, отбор растений с высокой фертильностью семязачатков в завязи весьма эффективен.

7.2 Изменчивость морфо-биологических признаков у видов рода *Medicago* и *Trifolium*

Для выяснения корреляционных связей между признаками урожайности зеленой массы и семенной продуктивности была изучена изменчивость морфо-биологических признаков у разных видов люцерны и клевера.

Между признаками, влияющими на вегетативную массу (число побегов, высота, облиственность, длина и ширина листочка) и признаками, определяющими урожайность семян (число соцветий на генеративный побег, число цветков и бобов в соцветии), выявлена слабая взаимосвязь (коэффициент корреляции меньше 0,3), по ряду признаков она обратная (чем больше число генеративных побегов у исследованных видов люцерны, тем меньше число соцветий на побег). Селекция на одновременное сочетание высокой кормовой и семенной продуктивности, видимо затруднена.

В восьмой главе представлено обсуждение результатов исследований.

Обобщая результаты эмбриологических исследований, выполненные нами по 26 видам, относящимся к шести родам, а также литературные данные по другим, включенным в аннотированный список перспективных для селекции бобовых трав, 28 видам десяти родов семейства *Fabaceae*, следует отметить, что развитие репродуктивных органов бобовых протекает сходно. Пыльник четырехгнездный, стенка молодого пыльника четырехслойная. Тапетум одноядерный, секреторного типа. Стенка зрелого пыльника состоит из эпидермиса и эндотеция. Семязачатки кампилотропные красинуцеллятные, двупокровные. Зародышевый мешок *Polygonum* – типа. Антиподы эфемерны. Эндосперм нуклеарный, на стадии сердечковидного зародыша в микропилярной части клеточный.

Различия между видами семейства *Fabaceae* заключаются в следующих эмбриологических признаках: числе клеток археспория (одно-двух-трех клеточный или многоклеточный), строении зрелых пыльцевых зерен (двух или трехклеточная пыльца), строении суспензоров (однорядные длинные или многорядные короткие), типах развития зародыша (*Caryophyllad*, или *Solanad*, или *Onagrad* типы развития зародыша у разных видов).

Отличия наблюдались также по ряду количественных признаков. К таким признакам относятся число репродуктивных элементов: семязачатков в завязи и пыльцевых зерен в пыльнике и цветке. Установлена достоверная разница по данным признакам между видами семейства *Fabaceae*. Среди исследованных выявлены виды как с большим (*Medicago caerulea* (до 18), *Trifolium repens* (до 6)), так и с малым числом семязачатков в завязи (*M. cancellata* (до 7), *T. pratense* (2)). S.J. Bennett (2001) проанализировал число

пыльцевых зерен и семязачатков, приходящихся в среднем на один цветок, у пяти видов клевера. Он обнаружил сильную взаимосвязь ($r=0,9$) между отношением числа пыльцевых зерен к числу семязачатков в растении и способом опыления вида. Так у самоопыляющихся видов: *T. glomeratum*, *T. subterraneum*, *T. tomentosum*, число пыльцевых зерен в цветке равнялось 304, 889 и 320, а у перекрестноопыляющихся: *T. nigrescens* и *T. resupinatum*, – 5951 и 1017 соответственно. Отношение пыльца / семязачаток у *T. nigrescens* и *T. resupinatum* значительно превышало данный показатель у самоопыляющихся видов.

В.И. Коваленко с соавторами (1987), изучая количество семязачатков в завязях разных видов люцерны, предположили, что генетическая детерминация скорости роста пыльцевых трубок и повышение уровня аутбридинга в процессе филогенеза многолетних люцерн шли за счет снижения их потенциальной продуктивности (редукции числа семязачатков).

Также отличаются у разных видов размеры генеративных органов: цветков, пыльцевых зерен, семязачатков, зародышевых мешков. Эти показатели варьировали между растениями одного вида, также и между видами, что получено как нашими исследованиями, так и промерами пыльцевых зерен и семязачатков у видов рода *Medicago* рядом авторов (Куприянова, Алешина, 1972; Казачковская, 1991). Изучение растений с полной женской стерильностью (Орел, Казачковская, 1991) показало, что в завязях люцерны формируются семязачатки разной величины. Зародышевые мешки, длина которых не достигает 237 мкм, являются стерильными. Фертильные зародышевые мешки люцерны изменчивой и посевной достигают в длину 286 мкм.

Значительно варьируют темпы развития репродуктивных органов, продолжительность роста пыльцевых трубок, двойного оплодотворения, развития зародыша и эндосперма. Скорость протекания данных процессов в основном зависит от экологических факторов: температуры, влажности воздуха, продолжительности фотопериода, почвенных условий. Например, в условиях Узбекистана (Нам, 1971) пыльцевые трубки достигали завязи люцерны посевной через четыре-пять часов, а в условиях Пермской области (Неприна, 1956) – через 18-20 часов. По нашим данным, у двенадцати многолетних видов люцерны шаровидные зародыши наблюдались через трое суток после перекрестного опыления в условиях коллекционного участка Приаральской опытной станции и через восемь суток в условиях ботанического сада Пермского государственного университета.

Число и размеры генеративных органов, а также темпы их развития в большей или меньшей степени сопряжены с генетическими, экологическими факторами и системой размножения вида.

Размеры, число семязачатков в завязи и пыльцевых зерен в пыльнике генетически обусловлены. Исследованные нами виды люцерны, клевера, донника достоверно отличались по размерам и числу семязачатков в завязи. Эти признаки у растений одного вида слабо варьировали (V в среднем 10%) и были постоянными в разные годы исследований и в разных экологических условиях.

Экологические факторы, такие как температура, относительная влажность воздуха, освещенность, почвенный состав, густота травостоя, конкуренция с соседствующими растениями, болезни и вредители существенно влияют на показатели семенной продуктивности. Так Г.Ф. Крупновой (1955) было установлено влияние минерального питания на сроки осуществления процесса оплодотворения у красного клевера. Судя по нашим данным, размеры и темпы развития генеративных органов растений одного вида варьируют в зависимости от места их культивирования (Приаралье и Предуралье). Агротехническими приемами, внесением удобрений можно оказать положительное влияние на признаки, определяющие семенную продуктивность. Так по данным Ю.Н. Зубарева с соавторами (2001), предпосевная обработка семян клевера фундазолом в комплексе с ризотрофином увеличивает урожайность семян на 10% за счет образования большего числа семян на соцветие.

Для многолетних перекрестноопыляющихся растений характерно формирование большого числа семязачатков и пыльцы, длительный период цветения, сочетание семенного и вегетативного размножения. У самоопыляющихся видов нет необходимости в производстве избыточно большого числа репродуктивных органов. Такие виды преимущественно однолетние. Однолетний цикл развития и потеря способности к вегетативному размножению ставят существование вида в прямую зависимость от адаптации его системы размножения, главным назначением которой является обеспечение высокой семенной продуктивности.

При анализе систем репродукции зерновых бобовых культур М.А. Вишнякова (2004) указывает на тенденцию утраты у диких сородичей культурных растений перекрестного опыления в процессе окультуривания. При этом значительно снижается пластичность вида, но на смену ей приходит адаптация к определенным местам обитания и стабильное семенное возобновление.

Один из способов получения высоких урожаев семян – создание самофертильных сортов многолетних бобовых трав. В этом направлении уже ведутся работы, но как отмечалось выше, даже однократное самоопыление приводит к инбредной депрессии. При принудительном самоопылении растений многолетних видов люцерны возрастает число неоплодотворенных семязачатков в 2,6 раза и дегенерирующих оплодотворенных в 2,2 раза.

Наши исследования инбредных форм люцерны посевной с первого по пятое поколения показали, что аномалии в строении репродуктивных структур, а также сопряженная с ними низкая семенная продуктивность наиболее существенны во втором и третьем поколениях инбридинга. Уже к четвертому поколению из-за выпадения высокосамостерильных особей показатели выравниваются и приближаются к таковым у неинбредных образцов *Medicago sativa*. У растений пятого поколения инбридинга признаки депрессии в развитии репродуктивных органов не выявляются.

Таким образом, продуктивность сортовых популяций можно увеличить за счет выведения самофертильных форм, способных к самоопылению.

Другое направление исследований, результатом которых может быть повышение семенной продуктивности, состоит в выявлении всех причин незначительной реализации, даже в относительно благоприятные по погодным условиям годы, высоких потенциальных возможностей плодообразования. Существенное значение имеет учет критических этапов в ходе формирования репродуктивных органов.

Продуктивность, которая теоретически может быть достигнута, если бы все семязачатки растения образовали семена, считается потенциальной семенной продуктивностью (ПСП) данного вида, ее можно принять за 100%. Число семязачатков в завязи и цветков в соцветии у разных видов отличаются достоверно, признаки видоспецифичны. Но достичь верхнего предела семенной продуктивности, по-видимому, невозможно. Если даже опыление осуществилось и совместимая пыльца проросла до семязачатков, но оплодотворение может отсутствовать, из-за наличия некоторого числа стерильных семязачатков. Выявлена генетически детерминированная стерилизация части семязачатков, которые в дальнейшем не оплодотворяются, и это ведет к снижению урожая семян. Поэтому существует физиологический предел семенной продуктивности. Физиологический предел семенной продуктивности может быть достигнут, если семена образуют все фертильные семязачатки данного растения. По нашим данным, стерилизация семязачатков у растений разных видов варьировала от 1 до 21% (у видов люцерны), от 8 до 32% (у клевера), от 0 до 13% (у донника). Встречаются крайние случаи полной мужской или женской стерильности. После свободного опыления завязываемость семян (что соответствовало условно-реальной семенной продуктивности) составила у люцерны в среднем 30%, у клевера – 40% и у донника – 20%. На протяжении V – X этапов органогенеза наблюдается опадение репродуктивных органов, в итоге, число семян на боб не превышает 1 – 4 при закладывающихся 6 – 18 семязачатках, число бобов – 8–30 при формирующихся в соцветии 25–80 цветках.

Часть семязачатков дегенерируют после оплодотворения из-за аномалий развития зародыша или эндосперма. Эти процессы генетически детерминированы, но находятся под контролем разных генетических систем. Чаше такие картины наблюдались у клеверов (до 16%). У разных видов люцерны дегенерирует до 15% семязачатков. У донников этот показатель ниже – до 8%.

Некоторая часть оплодотворенных семязачатков погибает и не образует семян вследствие болезней, недостаточного питания, повреждения различными насекомыми. Среди причин низкой реализации потенциальной семенной продуктивности необходимо отметить, что имеет место разнокачественность цветков: закладывающиеся позднее верхние цветки в соцветии часто неполноценны. Образование большого числа побегов, соцветий, цветков приводит к тому, что они не могут быть полностью обеспечены питательными веществами. Асинхронность заложения и развития соцветий на побеге и цветков в соцветии приводит к снижению реализации потенциального плодообразования. По данным В.А. Ахундовой

(1994), отставание в развитии органов на два-три этапа органогенеза приводит в дальнейшем к их редукции.

Климатические условия вегетационного периода также могут служить причиной низкой реализации потенциальной продуктивности плодобразования. Высокая влажность воздуха и почвы приводит к вторичному росту, полеганию; закладываются соцветия и цветки, не успевающие образовать плоды и семена. Дождливая и прохладная погода способствует уменьшению лета опылителей и резкому снижению опыления бобовых трав. Даже в благоприятных погодных условиях обеспеченность опылителями составляет 5 – 15% от необходимого числа (Колясникова, Малышева, 1987; Малышева, 1990). Разница между числом фертильных семязачатков до опыления и оплодотворенных после опыления достигала у люцерны 46%, у клевера 32% и у донника 50%. Более высокая обеспеченность опылителями и оптимальные условия для опыления обеспечили бы существенное повышение семенной продуктивности.

Из-за недоразвития части оплодотворенных семязачатков, образования шуплых, неполноценных семян, вследствие гибели зародыша или эндосперма коэффициент продуктивности исследованных нами видов равнялся в среднем 19% у люцерны, 32% у клевера, 16% у донника.

Наши исследования семенной продуктивности клевера проводились в естественных условиях на дикорастущих растениях. Завязываемость семян у лучших сортов клевера (Орлик, и Ранний 2) при использовании агротехнических приемов (внесении удобрений, прополке, борьбе с вредителями и болезнями) составила 65% (Новоселов, 2000). Этот показатель все же не достиг уровня физиологического предела, определенного нами на основании анализа фертильных семязачатков в 85%. Итак, остается еще резерв для повышения семенной продуктивности. Основные усилия, по селекции на повышенную семенную продуктивность люцерны и клевера, должны быть направлены на отбор растений с высокой фертильностью семязачатков и самосовместимостью.

3 ВЫВОДЫ

1. Исследованные виды семейства *Fabaceae* характеризуются большим числом семязачатков в завязи и/или цветков в соцветии, растянутым периодом формирования соцветий и распускания цветков в них, приспособленных к аутбридингу и энтомофилии.

2. Ход распускания цветков у всех исследованных видов видоспецифичен, характеризуется одновершинной кривой и зависит от погодных условий. Между видами с разной окраской венчика цветка, с разной степенью плоидности разницы в динамике распускания не выявлено.

3. Ход опыления зависит от погодных условий, наличия опылителей и видовой принадлежности. У люцерны при температуре воздуха ниже 30°C кривая опыления одновершинная, при более высоких температурах – имеет два пика. Выявлено преимущество в опылении синецветковых видов

люцерны над желтоцветковыми, белоцветкового донника над желтоцветковым.

4. Реакция самонесовместимости у исследованных видов семейства *Fabaceae* проявляется в отсутствии прорастания пыльцы на рыльцах цветков, в торможении роста пыльцевых трубок в столбике и отсутствии вхождения пыльцевых трубок в семязачатки. Все исследованные виды частично самосовместимы. У полиплоидных видов люцерны рост пыльцевых трубок замедлен, в сравнении с диплоидными.

5. В цитозмбриологическом отношении изученные виды семейства *Fabaceae* обнаруживают большое сходство: двудольный тип развития стенки пыльника, двухклеточные зрелые пыльцевые зерна, кампилотропные двупокровные семязачатки, Polygonum-тип развития зародышевого мешка, нуклеарный эндосперм с цитокинезом в микропилярной части эндоспермального ценоцита.

Выявлены различия в развитии и строении репродуктивных структур у разных видов исследованных родов семейства *Fabaceae* в количестве клеток археспория, размерах пыльцы и семязачатков, строению суспензоров, типу развития зародыша.

6. Изучена инбредная депрессия у *Medicago sativa* с первого по пятое поколения инбридинга. Она выражается в возрастании нарушений в развитии зародышевого мешка, в появлении новых аномалий, увеличении амплитуды фертильности пыльцы и семязачатков, в дегенерации зародыша и эндосперма в некоторой части оплодотворенных семязачатков. В максимальной степени инбредная депрессия у люцерны посевной проявляется во втором и третьем поколениях инбридинга. В пятом поколении инбридинга признаки депрессии в развитии репродуктивных органов не выявляются.

7. Потенциальная семенная продуктивность (ПСП) многолетних бобовых значительно превышает условно-реальную (УРСП) и реальную семенную продуктивность (РСП). Коэффициент продуктивности составил 8-30% у люцерны, 20-45% у клевера, 14-26% у донника.

8. Причинами снижения семенной продуктивности являются:

- стерилизация части семязачатков до опыления, обусловленная как генетическими, так и физиологическими факторами. Процент стерильных семязачатков варьирует у люцерны от 1 до 21%, у клевера – от 8 до 32%, у донника – от 0 до 13%.

- неблагоприятные погодные условия и нехватка опылителей. Часть цветков остаются неопыленными и, соответственно, фертильные семязачатки – неоплодотворенными.

- гибель фертильных, оплодотворенных семязачатков, вызванная генетическими факторами. У разных видов клевера дегенерирует до 16% семязачатков, люцерны – до 15%, у донника – до 8%.

9. Для клевера и люцерны наиболее значимой для будущего урожая семян является стадия роста органов цветка, когда венчик выше чашелистиков на их длину. Именно в этот период перспективно использование экспресс-

методов определения фертильности семязачатков для селекции на высокую семенную продуктивность.

Список публикаций по теме диссертации:

Монография

1. Колясникова, Н.Л. Репродуктивная биология видов рода *Medicago* L. / В.А.Верещагина, Н.Л. Колясникова, Л.В. Новоселова. – Пермь: изд-во Перм. гос. ун-та, 2004. – 226 с.

Статьи

2. Колясникова, Н.Л. Эмбриология некоторых многолетних видов люцерны (*Medicago*, *Fabaceae*) / В.А.Верещагина, Н.Л. Колясникова // Ботан. журн. – 1990. – Т.75, № 5. – С. 604 – 614.
3. Колясникова, Н.Л. Репродуктивная биология некоторых многолетних видов *Astragalus* (*Fabaceae*) // Ботан. журн. – 2004. – Т.89, № 5. – С. 70 – 77.
4. Kolyasnikova, N.L. The systems of reproduction of annual and perennial of *Medicago* L. (*Fabaceae*) / V.A. Vereshchagina, L.V. Novoselova, N.L. Kolyasnikova // Czech. J. Genet. Plant Breed. (Special Issue). – 2003. – V.39. – P. 100 – 103.
5. Колясникова, Н.Л. Потенциальная и реальная семенная продуктивность завязей разных видов люцерны / В.А. Верещагина, Н.Л. Колясникова. // Сб. науч. тр. по прикладной ботанике, генетике и селекции / ВАСХНИЛ, ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова. – Л., 1986. – Т.99. – С. 23–27.
6. Колясникова, Н.Л. Суточный ритм распускания цветков дикорастущих видов люцерны и опыление их одиночными пчелами / Н.Л. Колясникова, Н.Ю. Малышева // Экология опыления цветковых. – Пермь, 1987. – С. 89 – 103.
7. Колясникова, Н. Л. О росте пыльцевых трубок в завязях люцерны в зависимости от типа опыления и возраста цветка // Экология цветения и опыления растений. – Пермь, 1989. – С. 89 – 94.
8. Колясникова, Н.Л. Оценка фертильности семян у некоторых многолетних видов люцерны // В.А.Верещагина, Н.Л. Колясникова // Проблемы репродуктивной биологии семенных растений. – Л., 1993. – Вып. 8. – С. 104 – 109.
9. Колясникова, Н.Л. Особенности строения зародышевого мешка у растений люцерны, не завязывающих семена / Н.Л. Колясникова, Е.Б. Казачковская / Вестн. Перм. ун-та. – 1995. – Вып.1: Биология. – С.37 – 41.
10. Колясникова, Н.Л. Эмбриологическое изучение инбредных форм люцерны посевной // Вестн. Перм. ун-та. – 1996. – Вып.2: Биология. – С. 114 – 115.
11. Колясникова, Н.Л. К эмбриологии астрагала Гельма и астрагала кунгурского / Н.Л. Колясникова, Е.Н. Аликина // Вестн. Перм. ун-та. – 1996. – Вып.2: Биология. – С.115–117.
12. Колясникова, Н.Л. Цветение и опыление однолетних и многолетних видов люцерны (*Medicago*, *Fabaceae*) / В.А. Верещагина, Н.Л.

Колясникова, Л.В. Новоселова // Вестн. Перм. ун-та. – 1997. – Вып.3: Биология. – С. 31 – 39.

13. Колясникова, Н.Л. Изучение влияния инбридинга на развитие репродуктивных органов люцерны посевной // Вестн. Перм. ун-та. – 1997. – Вып.3: Биология. – С. 40 – 45.
14. Колясникова, Н. Л. К репродуктивной биологии двух видов клевера (*Trifolium pratense* L., *T. medium* L.) // Вестн. Перм. ун-та. – 2000. – Вып.2: Биология. – С.40 – 44.
15. Колясникова, Н. Л. О росте пыльцевых трубок и оплодотворении у многолетних видов люцерны в зависимости от способа опыления // Пермский аграрный вестник: сб. науч. тр. – 2004. – Вып. 11. – С. 281 – 290.

Материалы и тезисы Международных симпозиумов, Всероссийских съездов, научных и научно-практических конференций и семинаров

16. Колясникова, Н.Л. Определение фертильности семян люцерны методом люминесцентной микроскопии // Совещание ботаников Урала : тез. докл. – Свердловск, 1985. – С.25.
17. Колясникова, Н. Л. Цитозембриологические особенности развития люцерны посевной в связи со степенью инбридинга // Ботанические исследования на Урале: информ. материалы / УрО АН СССР. – Свердловск, 1986. – С. 48.
18. Колясникова, Н. Л. Эмбриологическое изучение самосовместимых и самонесовместимых форм люцерны посевной / Н.Л. Колясникова, Л.В. Трубникова // Актуальные проблемы химико-биологических наук в исследованиях молодых ученых : тез. докл. межвуз. конф. молодых ученых. – Пермь, 1986. – С. 10.
19. Колясникова, Н. Л. Эмбриологическое изучение люцерны в связи с селекцией / В.А.Верещагина, Н.Л. Колясникова // Гаметогенез, оплодотворение и эмбриогенез семенных растений, папоротников и мхов: тез. докл. Всерос. совещ. по эмбриологии растений. – Кишинев, 1986. – С. 7.
20. Колясникова, Н.Л. Изучение фертильности семян люцерны у инбредных форм люцерны посевной // Проблемы размножения цветковых : тез. докл. Всесоюз. совещ. – Пермь, 1987. – С. 36.
21. Колясникова, Н. Л. Оценка фертильности семян разных видов люцерны / В.А. Верещагина, Н.Л. Колясникова // Тез. докл. 1 съезда ВОГиС. – М., 1987. – С.10.
22. Колясникова, Н.Л. Изучение реакции самонесовместимости у многолетних видов люцерны / В.А. Верещагина, Н.Л. Колясникова // Ботанические исследования на Урале: информ. материалы / УрО АН СССР. – Свердловск, 1988. – С. 16.
23. Колясникова, Н.Л. Эмбриология разных видов люцерны / В.А.Верещагина, Н.Л. Колясникова, Л.В. Новоселова // Актуальные вопросы ботаники в СССР : тез. докл. VIII делегат. съезда Всесоюз. ботан. о-ва, – Алма-Ата, 1988. – С. 346.
24. Колясникова, Н. Л. К эмбриологии дикорастущих видов люцерны / В.А.

- Верещагина, Н.Л. Колясникова, Л.В. Новоселова // Ботан. исследования на Урале: информ. материалы / УрО АН СССР. – Свердловск, 1990. – С. 15.
25. Колясникова, Н. Л. К изучению репродуктивной биологии *Medicago* / В.А. Верещагина, Н.Л. Колясникова // Эмбриология и репродукция семян: тез. докл. Междунар. симп. – Л., 1990. – С.182.
 26. Колясникова, Н. Л. Эмбриологическое изучение мужскистерильных растений инбредных форм люцерны посевной / В.А. Верещагина, Н.Л. Колясникова // Генетика развития: материалы совещ. – Ташкент, 1990. – Т.141. – С. 24 – 25.
 27. Колясникова, Н.Л. Эмбриология некоторых многолетних видов люцерны // Пермский университет - науке и производству. – Пермь, 1991. – С. 216 – 218.
 28. Колясникова, Н.Л. Оценка фертильности семяпочек у разных видов люцерны / Н.Л. Колясникова, Л.В. Новоселова // Материалы конф. молодых ученых и аспирантов. – Воронеж, 1991. – С.44.
 29. Kolyasnikova, N.L. To the studying of reproductive biology of *Medicago* L / V.A.Vereshchagina, N.L.Kolyasnikova // XI International Symposium Embriology and seed reproduction. – Leningrad, 1992. – P.592–593.
 30. Колясникова, Н.Л. Система размножения рода *Medicago* / В.А.Верещагина, Н.Л. Колясникова, Л.В. Новоселова // Проблемы репродуктивной биологии растений : тез. докл. симп. (Пермь, 4 - 6 июня 1996 г.). – Пермь, 1996. – С.17–19.
 31. Kolyasnikova, N.L. The fertility of ovules of annual and perennial species of *Medicago* L. / V.A. Vereshchagina, N.L.Kolyasnikova, L.V. Novoselova // Abstracts of Vth International symposium « Plant life in south – west and central Asia» (May 18-22, 1998, Tashkent, Uzbekistan). – Tashkent, 1998. – P. 171.
 32. Колясникова, Н. Л. Особенности репродуктивной биологии некоторых видов рода *Astragalus* (*Fabaceae*) // Проблемы ботаники на рубеже XX – XX1 века : тез. докл. 2(10) съезда Рус. ботан. о-ва. – СПб., 1998. – С.122.
 33. Kolyasnikova, N.L. The fertility of ovules of annual and perennial species of *Medicago* L. / V.A. Vereshchagina, N.L. Kolyasnikova, L.V. Novoselova // Abstracts of XV International Congress on Sexual Plant Reproduction. Wageningen, august, 16-21, 1998. – Wageningen , 1998. – P.113.
 34. База данных «Репродуктивная биология семейства *Fabaceae*» / В.А. Верещагина, Н.Л. Колясникова, Л.В. Новоселова, А.В. Сивков // Информационно-поисковые системы в зоологии и ботанике : тез. междунар. симп. // Тр. зоол. ин-та. – СПб, 1999. – Т.278. – С. 70.
 35. Колясникова, Н. Л. Изучение фертильности семяпочек некоторых видов рода *Astragalus* // Материалы Всерос. науч. конф. – Саратов, 2000. – С. 413 – 414.
 36. База данных «Репродуктивная биология видов семейства *Fabaceae*» / В.А. Верещагина, Н.Л. Колясникова, Л.В. Новоселова, А.В. Сивков // Проблемы создания ботанических баз данных : рабочее совещ., Новосибирск, 24-26 окт.2000 г. : тез. докл. – М., 2000. – С. 15 – 17.

37. Колясникова, Н. Л. Web – сервер по репродуктивной биологии видов семейства *Fabaceae* / В.А. Верещагина, Н.Л. Колясникова, Л.В. Новоселова // Экологическая ботаника : наука, образование, прикладные аспекты : тез. докл. междунар. науч. конф., посвящ. 25-летию каф. ботаники Сыктывкар. ун-та : программа и тез. докл. – Сыктывкар, 2002. – С.57 – 58.
38. Колясникова, Н. Л. К репродуктивной биологии рода *Astragalus* // Экологическая ботаника: наука, образование, прикладные аспекты : тез. докл. междунар. науч. конф., посвящ. 25-летию каф. ботаники Сыктывкар. гос. ун-та : программа и тез. докл. – Сыктывкар, 2002. – С.134 – 135.
39. Колясникова, Н. Л. К изучению ценопопуляций клевера лугового и клевера среднего в условиях Предуралья // Фундаментальные и прикладные проблемы популяционной биологии : тез. докл. VI Всерос. популяционного семинара. – Нижний Тагил, 2002. – С. 85 – 86.
40. Колясникова, Н.Л. Многолетние и однолетние виды *Medicago* – две системы размножения / В.А. Верещагина, Л.В. Новоселова, Н.Л. Колясникова // Ботанические исследования в азиатской России : материалы XI съезда Рус. ботан. о-ва (18 - 22 авг.2003 г., Новосибирск-Барнаул). – Барнаул, 2003. – Т.2. – С. 133 – 134.
41. Интернет – версия базы данных «Репродуктивная биология видов семейства *Fabaceae*» / В.А. Верещагина, Л.В. Новоселова, Н.Л. Колясникова, А.В. Сивков // Ботанические исследования в азиатской России : материалы XI съезда Рус. ботан. о-ва (18 - 22 авг.2003 г., Новосибирск-Барнаул). – Барнаул, 2003. – Т.2. – С. 135.
42. Kolyasnikova, N.L. The systems of reproduction of annual and perennial of *Medicago* L. (*Fabaceae*) / V.A. Vereshchagina, L.V. Novoselova, N.L. Kolyasnikova // Biodiversity and genetic resources as the bases for future breeding: Book of abstracts 25 EUCARPIA Fodder Crops and Amenity Grasses Section Meeting and 15 EUCARPIA *Medicago* spp. Group Meeting (September 1-4, 2003, Brno, Czech Republic). – Brno, 2003. – P.31.
43. Kolyasnikova, N.L. The Internet resources in reproductive biology of species of Family *Fabaceae* / V.A. Vereshchagina, L.V. Novoselova, N.L. Kolyasnikova // Information systems on biodiversity of species and ecosystems: Scientific program and abstracts of International Symposium (December 1-4, 2003, Zoological institute RAS, St. Petersburg, Russia). – St. Petersburg, 2003. – P. 94.
44. Колясникова, Н. Л. Интернет – ресурсы по репродуктивной биологии видов семейства *Fabaceae* / В.А. Верещагина, Л.В. Новоселова, Н.Л. Колясникова // Информационные системы по биоразнообразию видов и экосистем: науч. программа и тез. Междунар. симп. (1 - 4 дек. 2003 г., Зоол. Ин-т РАН, Санкт-Петербург). – СПб., 2003. – С. 95.
45. Колясникова, Н. Л. Взаимосвязь хозяйственно ценных признаков у *Trifolium pratense* // Вопросы экологии и природопользования в аграрном секторе: материалы конф. – Ижевск, 2003. – С. 241 – 246.
46. Колясникова, Н.Л. Особенности репродуктивной биологии *Trifolium*

pratense L. и *T. medium* L. // Вопросы охраны окружающей среды. Актуальные проблемы непрерывного экологического образования: материалы конф. – Орск, 2004. – С. 54 – 56.

47. Колясникова, Н.Л. Изучение фертильности у клевера лугового, клевера гибридного и козлятника восточного / Н.В. Ротарь, Н.Л. Колясникова (науч. рук.) // Фундаментальные и прикладные исследования в биологии и экологии: материалы студ. науч. конф. (11-15 апреля 2005 г.). – Пермь, 2005. – С. 22 – 24.
48. Колясникова, Н.Л. Особенности репродуктивной биологии *Melilotus albus* Medik. и *M. officinalis* (L.) Pall. // Проблемы озеленения городов и развития лесного комплекса : сб. науч. тр. науч.-техн. конф., посвящ. 165 – летию Ф.А. Теплоухова. – Пермь, 2005. – С. 259 – 263.

Электронная публикация

49. The Internet resources in reproductive biology of species of Family *Fabaceae* : / V.A. Vereshchagina, L.V. Novoselova, N.L. Kolyasnikova, A.V. Sivkov // Information systems on biodiversity of species and ecosystems: [Electronic resource]: Scientific program and abstracts of International Symposium (December 1-4, 2003, Zoological institute RAS, St. Petersburg, Russia). – Electron. dan. and progr. – St. Petersburg, 2003. – 1 electron. opt. disc (CD-ROM). – Систем. требования : ПК 486 и выше; Windows 95; 4x CD-ROM дисковод. – Загл. с экрана.

Электронная база данных и ее Интернет-версия

50. «Репродуктивная биология видов семейства *Fabaceae*». [Электронный ресурс] / В.А. Верещагина, Л.В. Новоселова, Н.Л. Колясникова, А.В. Сивков.- Электрон. дан. - Пермь, 1999. – Режим доступа: http://www.psu.ru/db_plant). – Загл. с экрана.

Методическое пособие

51. Колясникова, Н.Л. Генетические факторы размножения и закономерности наследования признаков у культурных растений. – Пермь, 2004. – 99с.

Отпечатано с оригинал-макета на ризографе
Подписано в печать 21.04.05. Усл. печ. л. 3,06. Уч.-изд. л. 3,15
Формат 60x84 1/16. Бумага ВХИ.
Тираж 150 экз. Заказ №101
ИПЦ «ПрокростЪ»
Пермской государственной сельскохозяйственной академии
им. академика Д.Н. Прянишникова,
614000, Россия, г. Пермь, ул. Коммунистическая, 23.
тел: 10-35-34 E-mail: pgsha@permregion.ru

№ 19848

РНБ Русский фонд

2006-4
17532