

О. Г. Бутузова

Проблема покоя семян с недоразвитым зародышем

O. G. Butuzova

Problem of dormancy in seeds with underdeveloped embryo

Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург
tb_batygina@mail.ru

Дан краткий обзор истории изучения явления до-развития зародыша — одного из факторов покоя семян. В Ботаническом институте им. В. Л. Комарова РАН традиционно проводилось изучение различных аспектов этого явления: физиологического, структурного, экологического, эволюционного и др. На основе разработанного комплексного подхода были выявлены особенности формирования семени с недоразвитым зародышем до и после диссеминации, а также некоторые механизмы действия температурного и гормонального факторов на эти процессы.

Ключевые слова: покой семян, доразвитие зародыша, морфо-физиологические корреляции, *Ranunculaceae*, *Liliaceae*.

Биологическое разнообразие цветковых растений определяется различными репродуктивными стратегиями. Одной из таких стратегий может служить сохранение в эволюции семян, зародыш которых на момент диссеминации дифференцирован не полностью, и дальнейшее его развитие происходит в отрыве от материнского организма.

Наличие в семенах недоразвитого зародыша впервые было отмечено у представителей примитивных групп голосеменных растений (Strasburger, 1872) и некоторых цветковых (Hegelmaier, 1878; Goebel, 1898; и др.). На присутствие в зрелом семени несформированного зародыша обращали внимание многие крупные ботаники (Комаров, 1949; Тахтаджян, 1964; и др.), которые учитывали этот признак при описании вида и высказывались в пользу первичности его в эволюции.

И. В. Грушвицкий (1961), долгое время работавший в Ботаническом институте им. В. Л. Комарова (БИН) РАН, одним из первых оценил этот признак как явление, широко распространенное в растительном мире. Так, если А. С. Мартин (1946) в обзоре строения семян покрытосеменных выделил 5 семейств, в которых преобладают виды с «недоразвитым» зародышем: *Aquifoliaceae*, *Araliaceae*, *Magnoliaceae*, *Ranunculaceae*, *Papaveraceae*, — то Грушвицкий увеличил число таких семейств до 38. Согласно сведениям А. В. Попцова и др. (1981), таких семейств насчитывается 91 (24 из однодольных, 67 из двудольных). В настоящее время этот список постоянно пополняется. В одних случаях это явление характерно для таксонов какого-либо ранга в целом (род, семейство, порядок), в другом — лишь для

отдельных представителей. Размеры и степень дифференциации зародыша на момент диссеминации также могут быть различными.

Явление доразвития долгое время не находило должного внимания со стороны исследователей. Согласно Грушвицкому, причина состоит в том, что процесс доразвития зародыша оказывается «в «нейтральной зоне» между позициями эмбриологов, изучающих этапы эмбриогенеза вплоть до созревания семени, и морфологов в узком смысле слова, которые исследуют этапы онтогенеза лишь с момента прорастания семян» (Грушвицкий, 1961, с. 10). Кроме того, доразвитие зародыша, как и прорастание семян, является температурозависимым, поэтому изначальной задачей является установление оптимальных температурных режимов для этих процессов.

Под руководством Грушвицкого в БИНе начались экспериментальные исследования семян с доразвитым зародышем у представителей разных семейств, изучались особенности их прорастания под воздействием температурного и гормонального факторов (Цингер, Иванова, Иоффе, Николаева и др.). В работе «Роль недоразвития зародыша в эволюции цветковых растений» (1961) И. В. Грушвицкий обобщил все имеющиеся в литературе и оригинальные данные и первым дал оценку эволюционной значимости этого явления.

Поскольку это явление характерно для покрытосеменных, находящихся преимущественно в основании филогенетического древа, оно может рассматриваться как первичное. Как считает Грушвицкий, в ходе эволюции явление доразвития зародыша наряду и в сочетании с физиологическим покоем семян приобрело адаптивное значение, как приспособление к переменному климату, и явилось одним из необходимых условий в освоении растениями новых местообитаний. Проводя параллель с животным миром, он сравнил эту группу растений с рептилиями и птицами, у которых развитие эмбриона происходит в яйце вне материнского организма.

Грушвицкий также выделил ряд особенностей биологии развития таких семян: наличие в эндосперме особой полости, содержащей продукты гидролиза запасных веществ, чрезвычайно медленный рост зародыша и прорастание семян, являющиеся следствием низкой активности ферментов, микроскопические размеры зародыша на фоне массивного эндосперма, общность химического состава запасных веществ в заро-

дышах этой группы, наличие надежной защиты семян в виде твердой оболочки.

Группа физиологов БИНа изучала явление до-развития зародыша с позиций проблемы покоя семян. Оно послужило одним из критериев выделения двух типов покоя семян (классификация Николаевой, 1977) — морфологического, обусловленного лишь недоразвитием зародыша на момент диссеминации, и морфо-физиологического, основанного на сочетании недоразвития зародыша с физиологическим механизмом торможения (ФМТ) прорастания. Было выявлено, что для снятия морфологического покоя достаточно теплой стратификации, при которой происходит завершение эмбриогенеза и прорастание семени. Для снятия морфо-физиологического покоя, различающегося по степени глубины, необходимо воздействие низких положительных температур, а нередко — неоднократная смена тепла и холода.

В природных условиях процесс прорастания семян с морфо-физиологическим типом покоя является чрезвычайно длительным и затягивается на несколько месяцев и даже лет. Затрудненное прорастание также является следствием адаптации видов к условиям переменного климата, способствуя созданию почвенного банка семян, однако значительно осложняет интродукцию таких растений. Поэтому выявление оптимальных для доразвития зародыша температур, а также механизмов действия факторов, нарушающих морфо-физиологический покой семян, является основой для управления этим процессом и его ускорения.

Физиологами БИНа проводился ряд экспериментов по проращиванию семян представителей разных семейств под воздействием температурного и гормонального факторов для выявления оптимальных условий их прорастания (Николаева, 1956–1992 гг.; Грушвицкий, Лимарь, 1965 г.; Иванова, 1967 г.; Разумова, 1978–1994 гг.; Поздова, 1994–2008 гг. и др.). Среди гормонов, оказывающих влияние на эти процессы, наиболее изученными являются гиббереллины (ГК₃), менее — ауксины и цитокинины (Николаева, 1983).

Новый этап изучения проблемы морфологического покоя семян был связан с анатомическими исследованиями структурных изменений в зародыше, происходящих в процессе его доразвития (Лодкина, 1966; Ляшук, 1972). Большое значение в этом процессе придавалось формированию особых клеточных комплексов в области коры гипокотила и зародышевого корня. Однако без анализа всех морфо-физиологических изменений и корреляций в развитии зародыша и окружающих структур семени невозможно понимание механизмов, лежащих в основе данных типов покоя семян, а также выявления способов его преодоления.

В связи с этим закономерным было объединение усилий физиологов и эмбриологов в решении этой проблемы. С 1994 г. в лаборатории эмбриологии и репродуктивной биологии совместно с группой семеноведения БИНа начались работы по изучению процесса формирования семян с недоразвитым зародышем до и

после диссеминации в норме и под воздействием температурного и гормонального факторов (Титова, Поздова, Бутузова, 1994–2009 гг.).

Работа проводилась на модельных объектах, относящихся к двудольным — *Ranunculaceae* (*Aconitum soongaricum* Stapf, *Helleborus niger* L., *Pulsatilla vulgaris* Mill., *Nigella sativa* L.) и однодольным — *Liliaceae* (*Fritillaria pallidiflora* Schrenk), контрастирующих по ряду признаков: экологической нише, срокам цветения и созревания семян, наличию/отсутствию доразвития зародыша, степени его дифференциации на момент диссеминации, типу покоя семени и др.

В результате был разработан комплексный подход, позволивший установить ряд морфогенетических и морфо-физиологических корреляций в развитии зародыша и окружающих его структур семени при оптимальном температурном режиме и установить характер их нарушений при действии неблагоприятных температур и гормонального (ГК₃) фактора (Butuzova et al., 1997; Поздова и др., 1999; Бутузова, 1999).

Выявлен ряд особенностей эмбриогенеза и формирования семени, которые обеспечивают нормальное осуществление всех процессов.

1. Все виды с доразвитием зародыша характеризуются наличием **особой эндоспермальной полости**. Ее наличие отмечалось ранее (Грушвицкий, 1961; Цингер, 1951), но ее генезис и связь с окружающими структурами прослежены не были. Особый характер этой полости заключается в ее крупных размерах и в способе ее образования — путем увеличения степени вакуолизации клеток эндосперма, прилегающих к зародышу, постепенного разрушения цитоплазмы и клеточных стенок. У *Aconitum* и *Fritillaria* эндоспермальная полость имеет двойственное происхождение, возникая в результате объединения первичной полости вокруг зародыша с центральной вакуолью, сохраняющейся вследствие незавершенности процесса клеткообразования в эндосперме. В результате образуется так называемая вторичная эндоспермальная полость.

2. Образование эндоспермальной полости сопряжено с развитием **специфической зональности в строении эндосперма** по структуре клеток и характеру распределения в них запасных питательных веществ. Она проявляется в организации четких рядов клеток, ориентированных в направлении от периферии к центру, и в поляризации их протопластов, а также в заполнении клеток преимущественно срединных слоев запасными веществами.

3. Виды с доразвитием характеризуются **ранним отложением запасных питательных веществ в клетках зародыша и эндосперма** (на сердечковидной и даже глобулярной стадии развития зародыша).

4. Наблюдается **ранняя** (на стадии раннего проэмбрио) **специализация элементов интегументальной части семенной кожуры**, что, возможно, связано с необходимостью защиты зародыша при длительном прохождении эмбриогенеза в неблагоприятных условиях.

5. Было отмечено необычайно **продолжительное функционирование специализированных структур микропилярной** (нуцеллярный колпачок и связанные с ним клетки суспензора зародыша) **и халазальной** (гипостаза, подиум, постамент, антиподы) **частей семени**. Эти структуры сохраняются вплоть до диссеминации у всех видов с доразвитием, а у *A. soongaricum* функционирование структур халазальной части семени наблюдается вплоть до окончания доразвития, причем клетки антипод к моменту диссеминации, утрачивая передаточную функцию, становятся резервуаром запасных веществ.

6. Все виды характеризуются необычно **высокой степенью гисто- и органогенной дифференциации зародыша на момент завершения его доразвития**, что проявляется в значительном увеличении размеров, формировании апекса побега с заложением на нем зачатка первого листа, дифференциацией элементов протоксилемы и протофлоэмы проводящей системы, развитием комплексов табличчатых клеток, окруженных общей оболочкой, и т. п.

Полученные данные свидетельствуют о том, что у всех исследованных видов после диссеминации происходит доразвитие не только зародыша, но и окружающих структур семени (т. е. семя на момент диссеминации не является зрелым). Низкая степень дифференциации зародыша в сочетании с покоем приводит к изменению пространственно-временной координаты в развитии зародыша и окружающих структур семени. Это связано с определенными источниками питательных веществ: до диссеминации преобладает транспорт метаболитов из тканей материнского спорофита, связанный с функционированием халазальных и микропилярных структур семени (звенья апикального и базального путей транспорта метаболитов), после диссеминации питательные вещества поступают главным образом из эндосперма, через эндоспермальную полость, при этом у некоторых видов значение базального и апикального путей транспорта не утрачивается.

Было показано, что действие неблагоприятных температур влияет главным образом на темпы прохождения процесса доразвития зародыша и характер его коррелятивных отношений с окружающими структурами семени, в первую очередь с эндоспермом. Это проявляется в нарушении процесса мобилизации запасных веществ в последнем и распределении некоторых метаболитов в структурах семени. Так, при температуре 20–22 °С доразвитие зародыша останавливается вследствие прекращения функционирования структур микропилярной и халазальной частей семени и накопления в эндосперме продуктов промежуточного распада крахмала — декстринов. Это может быть связано с низкой активностью ферментов, участвующих в процессе мобилизации запасных веществ, о чем высказывались другие авторы (Цингер, 1951; Грушвицкий, 1961). Интересно, что при пограничной температуре (9–10 °С) доразвитие завершается, но прорастания семян не происходит. При этом у *A. soongaricum* на-

блюдается появление патологических изменений в структуре семядолей (образование полостей лизигенной природы, внедрение в них участков эндосперма), очевидно, вызванное нарушением во взаимодействии эндосперм/зародыш. Предварительная обработка семян ГК₃ при данной температуре нормализовала этот процесс и приводила к прорастанию семян.

В настоящее время проводится исследование семян видов рода *Paeonia* (Бутузова, Жинкина, 2014), обладающих затрудненным прорастанием, связанным с несколькими аспектами развития. Особенностью этого рода является последовательное формирование двух типов зародышей: полового, не дифференцированного на органы, который уступает место соматическому, дифференцированному на органы (Batygina, Bruchin, 1994). Для многих видов характерен морфо-физиологический эпикотильный покой, требующий двухэтапной стратификации — для преодоления покоя корня (преимущественно высокие температуры) и апекса побега (преимущественно низкие температуры) (Грушвицкий, Лимарь, 1965; Иванова, 1969).

Асинхронность в морфогенезе частей зародыша пиона может быть связана с его соматической природой. Предположительно, развитие апексов побега и зародышевого корня происходит по отдельным морфогенетическим подпрограммам жизненного цикла пиона. Возможно, эти структуры имеют разную энергию прорастания, а их развитие скоррелировано с активностью различных гормонов. Семена *Paeonia*, находящиеся в одной листовке, также отличаются разной степенью дифференциации, глубиной покоя и сроками прорастания, что служит доказательством их генетической и физиологической гетерогенности.

Таким образом, изучение явления доразвития зародыша невозможно без системного комплексного подхода, при котором затрагиваются эмбриологический, физиологический, эволюционный, экологический и другие аспекты этой проблемы. В настоящее время накоплен большой материал, касающийся в основном физиологического и экологического аспектов, по разным видам покрытосеменных, который обобщен в работах С. С. Baskin и J. M. Baskin (2001). Однако до сих пор исследования по выявлению морфогенетических и морфо-физиологических корреляций в развитии зародыша и окружающих структур семени в ходе обоих этапов эмбриогенеза (до и после диссеминации) практически не проводятся.

Изучение данного явления при установлении соотношения семенного и вегетативного размножения видов и условий их реализации имеет значение для определения репродуктивных стратегий цветковых растений, а также для решения таких глобальных проблем, как происхождение и эволюция цветковых растений. Это, несомненно, важно для характеристики примитивного типа зародыша и семени покрытосеменных и в систематике при установлении филогенетических связей между родами, семействами и более крупными группами. Еще одна часть работы может быть по-

священа выявлению значимости явления доразвития в системе современных цветковых растений и степени пластичности этого признака.

Наряду с этим, выявление способов влияния температурного и гормонального факторов на процесс доразвития зародыша и прорастания семян будет способствовать решению вопроса о механизмах возникновения и снятия морфо-физиологического типа покоя. Это имеет важный практический аспект, т. к. позволяет разрабатывать методы ускоренного проращивания семян данного типа и служит основой для оптимизации семенного размножения редких и исчезающих видов.

Благодарности

Работа выполнена по плановой теме лаборатории эмбриологии и репродуктивной биологии БИН РАН № 01201255606, при поддержке гранта Президента РФ «Ведущие научные школы РФ» № НШ-52.2014.4 (руководитель Т. Б. Батыгина).

Список литературы

- Бутузова О. Г. Формирование семени в связи с явлением доразвития зародыша на примере семейства *Ranunculaceae* Juss.: Дис. ... канд. биол. наук. СПб., 1999. 250 с.
- Бутузова О. Г., Жинкина Н. А. Оптимизация семенного размножения у видов рода *Paeonia* в связи с проблемой покоя семян // VI междунар. конф. «Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного мира», октябрь 2014, Ялта, Крым (в печати).
- Грушевицкий И. В. Роль недоразвития зародыша в эволюции цветковых растений. М.; Л., 1961. 48 с. (Комаровские чтения. Вып. 14).
- Грушевицкий И. В., Лимарь Р. С. Влияние гиббереллина на доразвитие и прорастание семян с недоразвитым зародышем // Ботан. журн. 1965. Т. 50, № 2. С. 215–217.
- Иванова И. А. О внутреннем строении семян лютиковых // Бюл. Гл. ботан. сада. 1966. Вып. 4. С. 72–79.
- Иванова И. А. О биологии прорастания семян пиона // Бюл. Гл. ботан. сада. 1969. Вып. 74. С. 35–40.
- Иоффе М. Д. Развитие эндосперма и зародыша у *Anemone nemorosa* L. // Ботан. журн. 1971. Т. 56, № 11. С. 1582–1592.
- Комаров В. Л. Введение в ботанику. М.; Л., 1949. 324 с.
- Лодкина М. М. Развитие зародыша бересклета европейского в период стратификации семян // Ботан. журн. 1966. Т. 51, № 5. С. 649–659.
- Ляшук А. И. Анатомия зародышей *Fraxinus excelsior* L. и *Acer tataricum* L. в процессе стратификации семян: Автореф. дис. ... канд. биол. наук Л., 1972. 18 с.
- Николаева М. Г. Физиология глубокого покоя семян. Л., 1977. 206 с.
- Николаева М. Г. Покой семян и способы его преодоления // Онтогенез. 1983. Т. 24, № 24. С. 85–86.
- Николаева М. Г., Разумова М. В., Гладкова В. Н. Справочник по проращиванию покоящихся семян. Л., 1985. 347 с.
- Поздова Л. М., Бутузова О. Г., Тутова Г. Е. Развитие зародыша в семенах с морфофизиологическим типом покоя на примере *Aconitum soongaricum* (*Ranunculaceae*) // Ботан. журн. 1998. Т. 83, № 11. С. 63–74.
- Поздова Л. М., Разумова М. В. Покой и прорастание некоторых редких растений семейства *Liliaceae* // Ботан. журн. 1994. Т. 79, № 6. С. 69–73.
- Попцов А. В., Некрасов В. И., Иванова И. А. Очерки по семеноведению. М., 1981. 112 с.
- Разумова М. В., Николаева М. Г. Действие гиббереллинов и цитокининов на прорастание семян с разным типом покоя // Роль температуры и фитогормонов в нарушении покоя семян. Л., 1981. С. 56–75.
- Тахтаджян А. Л. Основы эволюционной морфологии покрытосеменных. М.; Л., 1964. 236 с.
- Тахтаджян А. Л. Происхождение и расселение цветковых растений. Л., 1970. 146 с.
- Цингер Н. В. О причинах медленного прорастания семян пионов // Тр. Гл. ботан. сада. 1951. Т. 2. С. 103–145.
- Baskin C. C., Baskin J. M. Seeds. Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. San Diego (CA), 2001. 666 p.
- Bruchin V. B., Batygina T. B. Embryo culture and somatic embryogenesis in culture of *Paeonia anomala* // Phytomorphology. 1994. Vol. 44, № 3–4. P. 231–233.
- Butuzova O. G., Titova G. E., Pozdova L. M. Peculiarities of seed development completed beyond maternal plant (the phenomenon of “underdeveloped embryo”) // Bull. Polish Acad. Sci. 1997. Vol. 45, № 2–4. P. 267–275.
- Martin A. C. The comparative internal morphology of seeds // Amer. Midl. Naturalist. 1946. Vol. 36, № 3. P. 513–660.