

УДК 581.3

ИССЛЕДОВАНИЕ ЧАСТОТЫ АПОМИКСИСА
У *SALIX ACUTIFOLIA* WILLD.

Е.В. Угольникова, А.С. Кашин

*Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского
410012, Саратов, ул. Астраханская, 83; e-mail: kashinas@sgu.ru*

В статье представлены результаты цитоэмбриологического исследования и исследования семенной продуктивности у растений популяции *Salix acutifolia* Willd., произрастающей в окрестностях с. Урицкое Лысогорского р-на Саратовской области. Для данного вида впервые установлен апомиктический способ размножения.

Ключевые слова: гаметофитный апомиксис, *Salix acutifolia* Willd.

Явление апомиксиса с давних пор вызывает большой интерес исследователей. Но виды, рода и семейства цветковых растений в целом изучены в этом отношении явно недостаточно, поэтому любые исследования системы семенного размножения покрытосеменных растений заслуживают внимания.

Известно, что у тополей нередки случаи полиэмбрионии, у ив – апомиксиса; зародыши развиваются или партеногенетически, или из клеток нуцеллуса (Поддубная-Арнольди, 1976). Однако сведения об апомиксисе у ивовых (*Salicaceae*) довольно фрагментарны. Работы, посвященные этому вопросу, датируются в основном 30–60-ми гг. прошлого столетия (Фёдорова-Саркисова, 1931; Бекетовский, 1932; Ikeno, 1922; Blackburn, Harrison, 1924; Nakansson, 1956; Nagaraj, 1952; Tralav, 1957; Корецкий, 1960a,b). В списках апомиктических видов, родов и семейств последнего времени данное семейство вообще не указывается (Asker, Jerling, 1992; Carman, 1995, 1997). В списке С.С. Хохлова с соавт. (1978) для трех видов *Populus* (*P. alba*, *P. tremula*, *P. trichocarpa*) указана способность к редуцированному партеногенезу, т.е. к нерегулярному апомиксису, и еще для 2 видов (*P. deltoids*, *P. tremuloides*) – способность к неуставленным формам гаметофитного апомиксиса, а для 4 видов *Salix* (*S. aurita*, *S. phylicifolia*, *S. purpurea*, *S. viminalis*) и 7 типов межвидовых гибридов (*S. daphnoides* x *Gmelini*, *S. phylicifolia* x *viminalis*, *S. longifolia* x *viminalis*, *S. purpurea* x *viminalis*, *S. purpurea* x *mollissima*, *S. viminalis* x *mollissima*, *S. viminalis* x *purpurea*) указана способность к неуставленным формам автономного гаметофитного апомиксиса.

Целью наших исследований является установление частоты и форм апомиксиса у видов семейства *Salicaceae*. В данной работе приводятся результаты исследования в этом отношении растений *Salix acutifolia* Willd. – ива остролистная, или верба. Способность к гаметофитному апомиксису у данного вида ранее не обнаруживалась.

Материал и методика

Исследование проводили в 2010 г. в популяции *S. acutifolia*, произрастающей в окрестностях с. Урицкое Лысогорского района Саратовской области. Идентификацию апомиксиса проводили по семенной продуктивности при беспыльцевом режиме цветения и по цитозэмбриологическим признакам.

Так как растения видов *Salix* характеризуются двудомностью, т.е. на растении находятся либо однополые мужские, либо однополые женские цветки, собранные в соцветия – сережки (Скворцов, 1981), для обеспечения беспыльцевого режима цветения возможность опыления и оплодотворения женских цветков предотвращали с помощью механической изоляции 30 соцветий с 30 женских особей случайной выборки. Такая изоляция обеспечивалась помещением до начала цветения соцветий под пергаментные изоляторы, под которыми они находились до полного созревания семян. Частота завязываемости семян при свободном цветении или при беспыльцевом режиме цветения вычислялась как процентное отношение числа выполненных семян к общему числу цветков в соцветии.

Способность *S. acutifolia* к апомиктичному способу размножения дополнительно подтверждали цитозэмбриологическими исследованиями. С этой целью с тех же 30 особей, у которых определяли семенную продуктивность при беспыльцевом режиме цветения и при свободном цветении, за 1–3 суток до начала цветения фиксировали в фиксаторе Кларка (3 части 96%-ного этанола : 1 часть ледяной уксусной кислоты) 30 соцветий, кроме того, срезали 30 веточек для темпоральной фиксации (в условиях лаборатории каждые 2–4 дня фиксировали по 1 соцветию с каждой ветки). Препараты зародышевых мешков готовили с использованием микропрепаровательных игл после мацерации семязачатков цитазой (Куприянов, 1982). Материал окрашивали 2%-ным ацетокармином в течение суток. О частоте апомиксиса судили по частоте встречаемости семязачатков с клетками, морфологически подобными апоспорическим инициалам, и зародышевых мешков с признаками развития зародыша и (или) эндосперма без оплодотворения.

В целом цитозэмбриологически исследованы семязачатки из 281 цветка.

Результаты и их обсуждение

О завязываемости семян у *S. acutifolia* можно судить по данным, приведенным в табл. 1 и 2, где показаны сравнительные данные о семенной продуктивности растений при свободном опылении и беспыльцевом режиме цветения. Из табл. 1 видно, что частота завязываемости семян при

Таблица 1. Семенная продуктивность *S. acutifolia*
при свободном цветении

№ особи	Кол-во выполненных семян в соцветии, шт.	Всего цветков в соцветии, шт.	Завязываемость семян, %
1	277	445	62.24
2	222	339	65.50
3	517	569	90.86
4	220	306	71.89
5	0	47	0
6	244	364	67.03
7	170	276	61.59
8	100	198	50.50
9	385	452	85.18
10	53	103	51.46
11	202	313	64.54
12	179	239	74.89
13	0	249	0
14	248	334	74.25
15	68	184	36.96
16	186	374	49.73
17	242	395	61.26
18	188	306	61.44
19	250	383	65.27
20	0	332	0
21	137	188	72.87
22	168	211	79.62
23	308	422	72.98
24	0	418	0
25	149	206	72.33
26	228	344	66.28
27	199	322	61.80
28	104	284	36.62
Частота завязываемости семян в популяции			55.61±4.93

свободном цветении у растений исследованной популяции составила 55.61±4.93%. При этом у отдельных особей она варьировала в широких пределах – от 0 до 90.86%.

Таблица 2. Семенная продуктивность *S. acutifolia*
при беспыльцевом режиме цветения

№ особи	Кол-во выполненных семян, шт	Кол-во щуплых семян, шт.	Завязываемость семян, %
1	85	18	29.10
2	25	8	8.56
3*	-	-	-
4	-	-	-
5	6	4	2.05
6	13	7	4.45
7	-	-	-
8	-	-	-
9	-	-	-
10	44	9	15.06
11	0	0	0
12	-	-	-
13	9	12	3.08
14	-	-	-
15	23	8	7.87
16	-	-	-
17	9	3	3.08
18	3	0	1.03
19	6	0	2.05
20	66	18	22.60
21	5	0	1.71
22	27	5	9.25
23	18	1	6.16
24	18	5	6.16
25	18	0	6.16
26	15	3	5.14
27	8	2	2.74
28	20	2	6.85
Частота завязываемости семян в популяции			7.15±1.64

Примечание: * прочерки с ячейках таблицы означают, что изолированные соцветия с соответствующих особей были потеряны.

Из табл. 2 следует, что завязываемость семян при беспыльцевом режиме цветения составила в среднем 7.15±1.64%. Очевидно, что при данном режиме цветения могут завязываться семена только путем апомиксиса.

Учитывая, что семенная продуктивность особей в исследованной популяции составила лишь чуть больше половины от потенциальной семенной продуктивности (см. табл. 1), оправданно полагать, что реальная частота завязываемости семян путем апомиксиса составляет около 15%, т.е. вдвое выше обнаруженной при беспыльцевом режиме цветения.

Результаты цитоэмбриологического контроля способности растений исследуемого вида к гаметофитному апомиксису приведены в табл. 3. Из нее следует, что клетки, морфологически подобные апоспорическим инициалам, встречаются в семязачатках с постоянной частотой на всех стадиях развития эуспорического зародышевого мешка, начиная с двухъядерной. Частота встречаемости таких клеток в семязачатках составила 21.71% от общего числа исследованных семязачатков. Наличие таких клеток говорит в пользу того, что растения исследуемого вида способны к апоспории как элементу гаметофитного апомиксиса, при котором развитие нередуцированного зародышевого мешка происходит из соматической клетки семязачатка (Кашин, Шишкинская, 1999). Интересно, что в 80.33% случаях апоспорические клетки располагались у микропиллярного конца зародышевого мешка, в 16.4% – в тапетуме семязачатка, в 3.28% – в интигументе семязачатка и вблизи халазального полюса эуспорического зародышевого мешка. Анализируя препараты зрелых зародышевых мешков (дифференцированные зародышевые мешки), было обнаружено, что более половины (58.72%) исследованных зародышевых мешков имели нормальное строение, морфологически соответствующее Polygonum-типу: 2 синергиды, яйцеклетка, вторичное ядро либо два полярных ядра в центральной клетке, 1–3 антиподы. В 6.05% зародышевых мешков отмечалось партеногенетическое развитие яйцеклетки, в 1.78% зародышевых мешков наблюдали эндосперм, развившийся из неоплодотворенной центральной клетки. Почти в 4% зародышевых мешков отмечено одновременное развитие яйцеклетки и центральной клетки. Проэмбрио чаще всего был представлен 2–8 ядрами или клетками, эндосперм тоже был ядерным или клеточным. Все это свидетельствует в пользу того, что растениям исследованного вида свойственны апозиготия и автономное развитие эндосперма.

Доля дегенерировавших зародышевых мешков (ЗМ) на момент исследования составляет 7.83%. Это говорит о том, что наличие эмбриологических признаков апомиксиса не всегда гарантирует его полную реализацию на уровне производства семян (Кашин, Шишкинская, 1999).

В семязачатках *S. acutifolia* выявлены цитоэмбриологические признаки способности к апомиксису. Они выражались в присутствии в семязачатке на разных стадиях развития зародышевого мешка клеток, морфологически подобных апоспорическим инициалам, а также преждевременной эмбрионией и эндоспермогенезом.

Таблица 3. Структура женских гаметофитов *S. acutifolia*, у которых обнаружен апомиксис

Название вида	ЗМ нормального строения, %	Дегенерировавшие ЗМ, %	Явление апомиксиса, %			
			Прозембрио	Эндосперм	Обе структуры	Клетки, подобные апоспорическим инициалам
<i>S. acutifolia</i>	58,72	7,83	6,05	1,78	3,91	21,71

Результаты исследования семенной продуктивности при беспыльцевом режиме цветения подтверждают способность растений вида *S. acutifolia* к автономному гаметофитному апомиксису как способу семенной репродукции.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 08-00-00319).

Список литературы

- Бекетовский А.Н. К вопросу о партенокарпии *Salix alba* L., *S. capreae* L., *Populus alba* L., *Ulmus campestris* L. // Бот. журн. СССР. 1932. Вып. 17. С. 358–400.
- Кашин А.С., Шишкинская Н.А. Апомиксис. Саратов, 1999. С. 30–31.
- Куприянов П.Г. Способ приготовления препаратов зародышевых мешков. А. с. № 919636 // Бюл. изобр. 1982. № 14. С. 7.
- Поддубная-Арнольди В.А. Цитоэмбриология покрытосеменных растений. М., 1976. 508 с.
- Скворцов А.К. Сем. *Salicaceae* Mirbel. – Ивовые // Флора европейской части СССР. Т. 5. Л., 1981. С. 10–36.
- Сравнительная эмбриология цветковых растений. *Phytolaccaceae* – *Thymelaeaceae*. Л., 1983. 364 с.
- Фёдорова-Саркисова О.В. Об апогамии у ив // Тр. Ин-та исследований по лесному хозяйству и лесной пром-ти. 1931. Вып. 10. С. 59–63.
- Хохлов С.С., Зайцева М.И., Куприянов П.Г. Выявление апомиктичных растений во флоре цветковых растений СССР. Саратов, 1978. 224 с.
- Asker S.E., Jerling L. Apomixis in Plants. Boca Raton, 1992. 298 p.
- Blackburn K.B., Harrison J.W.H. A preliminary account of chromosomes and chromosome behaviour in the *Salicaceae* // Ann. Bot. 1924. Vol. 38. P. 361–378.
- Carman J.G. Gametophytic angiosperm apomicts and the occurrence of polyspory and polyembryony among their relatives // Apomixis Newslett. 1995. № 8. P. 39–53.

Carman J.G. Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispory, tetraspory, and polyembryony // *Biol. J. Linn. Soc.* 1997. Vol. 61. P. 51–94.

Hakansson A. Chromosome number and meiosis *Salix (grandifolia x gracilistyla) x S. (silesiaca x argyptiaca)* // *Hereditas.* 1956. Vol. 42. P. 519–520.

Ikeno S. On hybridization of some species of *Salix* // *Ann. Bot.* 1922. Vol. 36. P. 175–191.

Kopecky F. Haploid *Populus alba* L. kiserleti eloallitasa // *Erdesz. Kutatasok.* 1960a. Vol. 56. P. 151–158.

Kopecky F. Experimentelle Erzeugung von haploiden Weibpappeln (*Populus alba* L.) // *Silvac. genet.* 1960b. Bd. 9. S. 102–105.

Nagaraj M. Floral morphology of *Populus deltoids* and *P. tremuloides* // *Bot. gaz.* 1952. Vol. 114, № 2. P. 222–243.

Tralav H. Uber die haploid Form von *Populus tremula* aus Uppland // *Bot. Not.* 1957. Bd. 110. S. 481–483.

УДК 581.331.2

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РАЗМЕРОВ ПЫЛЬЦЕВЫХ ЗЕРЕН РАЗНЫХ ЛИНИЙ И СОРТОВ ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЫ

В.В. Ульянова

*Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского
410026, Саратов, ул. Астраханская, 83; e-mail: UlyanovaVV@mail.ru*

В статье представлены размеры пыльцевых зерен линий 2098 и 2123, сортов Аннушка, Гордеиформе 432 и Саратовская золотистая твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf.) саратовской селекции. Найдены максимальные и минимальные значения размеров пыльцевых зерен, коэффициент вариации. Стандартные для каждой линии и сорта характеристики пыльцы могут использоваться в качестве критерия для отбора растений с отклонениями по данным показателям.

Ключевые слова: пыльцевое зерно, мужской гаметофит, твердая пшеница.

Строение, величина и форма пыльцы являются систематическими признаками. Они постоянны для каждого вида (Поддубная-Арнольди, 1976). Нередукция, анеуплоидия, дополнительные деления половых клеток, способ размножения (половой, апомиктический) могут приводить к формированию разных типов пыльцы (нередуцированной, редуцированной, гетероплоидной и с дополнительными спермиями), которые имеют разные размеры (Шишкинская и др., 2004). Известно, что полиплоидные