

УДК 581.163 + 582.623.2

Е.В. Угольникова  
А.С. Кашин

E.V. Ugolnikova  
A.S. Kashin

ОСОБЕННОСТИ БИОЛОГИИ РАЗМНОЖЕНИЯ ВИДОВ РОДА *SALIX* L.  
В САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

PECULIARITIES OF REPRODUCTIVE BIOLOGY OF *SALIX* L. SPECIES FROM SARATOV REGION

В ходе цитоэмбриологического исследования и исследования семенной продуктивности растений видов рода *Salix*, произрастающих в различных районах Саратовской области, установлена способность к гаметофитному апомиксису в 12 популяциях 8 видов. Для исследованных видов этот способ размножения отмечен впервые.

Биология размножения цветковых издавна привлекает постоянное внимание ботаников. Размножение – присущая всем живым существам функция воспроизведения себе подобных, обеспечивающая непрерывность и преемственность жизни. В отличие от всех других жизненно важных функций организма, размножение направлено не на поддержание жизни отдельной особи, а на сохранение ее генов в потомстве и продолжение рода – тем самым на сохранение генофонда популяции, вида, семейства и т. д. (Мэйнард, 1981).

Специфика системы размножения вида, популяции или особи, в первую очередь, обусловлена тем, какой способ (или способы) репродукции используются для воспроизводства особей. В рамках системы семенного размножения возможна реализация, в том числе одновременная, двух разных способов образования семян: амфимиксиса и апомиксиса, которые приводят к различным генетическим последствиям (Кашин, Шишкинская, 1999). При амфимиксисе семена образуются на основе нормального полового процесса, включающего мейоз и оплодотворение; в случае же апомиксиса процесс оплодотворения выпадает из цикла семенного размножения. Сохраняя преимущества семенного размножения, каждый из них вносит специфический вклад в формирование генотипической структуры популяции и видов (Поддубная-Арнольди, 1964, 1976; Батыгина, 2000а, б). Оценка величины этого вклада, а следовательно, эволюционного значения амфи- и апомиксиса, далеко не однозначна (Кашин, Шишкинская, 1999).

Устойчивое апомиксическое размножение имеет известное преимущество по сравнению с обычным половым. По мнению известного шведского ботаника и генетика А. Мюнтцинга (1967), апомиксис служит прекрасным способом сохранения гетерозиготности в неограниченно длинном ряду поколений и благодаря этому – жизнеспособности. Любой биотип, обладающий при данных условиях среды способностью к апомиксису, может благодаря этому воспроизводиться в массовом количестве.

Как указывает далее Мюнтцинг (1967), апомикты, образующие семена, обычно имеют еще одно преимущество: регулярное образование большого числа семян, не зависящее от нарушений мейоза, трудностей опыления и других условий, которые могут снижать плодовитость у форм с половым размножением.

Таким образом, гаметофитный апомиксис имеет важное преимущество перед амфимиксисом в расселении, переживании неблагоприятных периодов, предотвращении вырождения клонов, сохранении возможности возврата к половому воспроизведению, стабилизации геномов (Кашин, 2006). В связи с этим, необходимо детально изучать особенности этого способа семенного воспроизводства в различных таксонах.

В целом цветковые растения изучены в отношении способа семенного размножения явно недостаточно, поэтому любые исследования их системы семенного размножения заслуживают внимания. Целью наших исследований было выявление апомиксиса в популяциях видов рода *Salix* (Salicaceae). Решение этого вопроса имеет не только большое теоретическое значение, но важно и для практики селекции ив.

У ив ранее отмечали случаи апомиксиса (Ikeno, 1922), при этом зародыши развивались или партеногенетически, или из клеток нуцеллуса (Сравнительная ..., 1983). Однако сведения об апомиксисе у рода *Salix* довольно фрагментарны. Работы, посвященные этому вопросу, датируются в основном 30–60-ми гг. прошлого столетия (Федорова-Саркисова, 1931; Бекетовский, 1932; Ikeno, 1922; Blackburn, Harrison, 1924; Nakansson, 1956; Nagaraj, 1952; Tralav, 1957; Корецкий, 1960а,б). В списках апомиксических видов, родов

и семейств последнего времени данный род вообще не указывается (Asker, Jerling, 1992; Carman, 1995, 1997).

У некоторых видов *Salix* обнаружена апогамия (Федорова-Саркисова, 1931) – возникновение зародыша без оплодотворения не из яйцеклетки, а из других клеток мегагаметофита (синергид или антипод). С.С. Хохлов с соавт. (1978) в списке апомиктичных видов указывают 4 вида ив (*S. aurita*, *S. phylicifolia*, *S. purpurea*, *S. viminalis*) и 7 типов межвидовых гибридов (*S. daphnoides*×*gmelini*, *S. phylicifolia*×*viminalis*, *S. longifolia*×*viminalis*, *S. purpurea*×*viminalis*, *S. purpurea*×*mollissima*, *S. viminalis*×*mollissima*, *S. viminalis*×*purpurea*), у которых отмечена способность к неуставленным формам автономного гаметофитного апомиксиса.

У ив также отмечена партенокарпия, как признак, косвенно указывающая на возможность размножения ими путем гаметофитного апомиксиса (Бекетовский, 1932).

**Материалы и методы.** Исследование проводилось в 2010–2012 гг. в 18 популяциях 10 видов рода *Salix*, два из которых занесены в «Красную книгу Саратовской области» (*S. rosmarinifolia*, *S. dasyclados*). Исследования проводили в ряде районов Саратовской области: Аткарском, Балашовском, Красноармейском, Краснокутском, Лысогорском, Марксовском, Новобураском, Петровском, Татищевском и Федоровском. Для ряда видов исследовали по две-три популяции, произрастающие в достаточно удаленных друг от друга районах области; кроме того, большинство популяций исследовали в течение 2–3 лет. Видовая принадлежность ив определена д.б.н., проф. Березуцким М.А.

Апомиксис у ив диагностировали на основе сравнительных данных о семенной продуктивности растений при свободном опылении и беспыльцевом режиме цветения. Возможность опыления и оплодотворения женских цветков предотвращали с помощью механической изоляции 30 соцветий с 30 женских особей случайной выборки. Частота завязываемости семян при свободном опылении или при беспыльцевом режиме цветения вычислялась как процентное отношение числа выполненных семян к общему числу цветков в соцветии (Угольников, Кашин, 2010).

Исследуемый материал подвергали дополнительному цитозембриологическому контролю. Структуру семязачатков и зародышевых мешков исследовали на микроскопических препаратах, приготовленных с использованием метода просветления семязачатков (Нерт, 1971). По каждой популяции исследованных видов было проанализировано в среднем по 400–500 семязачатков. О частоте апомиксиса судили по частоте встречаемости в семязачатке апоспорических инициалей или их производных, а также зародышевых мешков с признаками развития зародыша и (или) эндосперма без оплодотворения (Угольников, Кашин, 2010). В целом проанализировано 3582 семязачатка.

**Результаты и их обсуждение.** В таблице 1 приведены сравнительные данные о семенной продуктивности ив при свободном опылении и беспыльцевом режиме цветения за 2010–2012 гг.

У растений исследованных видов *Salicaceae* при свободном цветении в 2010–2011 гг. в популяциях в основном отмечена высокая семенная продуктивность: от 53 до 93%. Исключение составляют популяции 1а *S. acutifolia* (2011 г.), *S. caprea* (2011 г.) и *S. dasyclados*, частота завязываемости семян в которых составила 26.74±7.20, 6.62±2.59 и 35.61±7.10% соответственно. 2012 г., в сравнении с предыдущими, характеризуется общим снижением частоты завязываемости семян при свободном цветении, которая в основном составила от 0 до 55 %, хотя в отдельных случаях была на уровне 70–85%.

В условиях беспыльцевого режима семена завязались у растений 15 популяций 7 видов, а именно: *S. acutifolia*, *S. cinerea*, *S. fragilis*, *S. caspica*, *S. triandra*, *S. vinogradovii*, *S. rosmarinifolia*. Интересно, что 2010–2011 гг. в этом отношении характеризовались низкой семенной продуктивностью, а апомиктичные семена завязались лишь в 6 из 17 исследованных в эти годы популяций. При этом частота завязываемости семян отмечена на уровне от 0,64 до 7,15%. В большинстве же популяций семенная продуктивность при беспыльцевом режиме цветения была равна нулю. В этих случаях в соцветиях либо развитие останавливалось на стадии зрелых цветков (*S. caprea*, *S. dasyclados*, *S. fragilis* (популяция № 19, 2011 г.), *S. triandra* (популяция № 28; № 6, 2010 г.)), либо происходило формирование партенокарпических плодов (*S. rosmarinifolia* (популяция № 9, 2010 г.), *S. vinogradovii* (2010 г.), *S. cinerea* (2010–2011 гг.)).

Интересно отметить, что виды, у которых в 2012 г. наблюдалась тенденция к снижению семенной продуктивности при свободном цветении, образовали больший процент апомиктичных семян, чем в предыдущие годы. В 2012 г. частота завязываемости семян при беспыльцевом режиме цветения составила 7–44%. Наибольшее количество апомиктичных семян (более 10%) отмечено у растений *S. acutifolia* (по-

Таблица 1

Семенная продуктивность растений исследованных видов рода *Salix* в популяциях Саратовской области

№ популяции*	Название вида	Год исследования	Частота завязываемости семян, %	
			при свободном цветении	при беспыльцевом режиме цветения
1	<i>S. acutifolia</i> Willd.	2010	55.61±4.93	7.15±1.64
8	<i>S. acutifolia</i> Willd.	2011	26.74±7.20	0
		2012	86.01±3.48	43.96±7.12
12	<i>S. acutifolia</i> Willd.	2011	70.30±2.96	0
		2012	86.27±1.59	9.57±3.18
2	<i>S. caprea</i> L.	2010	82.70±3.55	0
17	<i>S. caprea</i> L.	2011	6.62±2.59	0
		2012	43.13±4.55	0
4	<i>S. cinerea</i> L.	2010	–	0
		2011	–	0
		2012	46.29±5.98	16.52±4.46
5	<i>S. vinogradovii</i> A. Skvorts.	2010	69.18±3.23	0
		2011	60.49±6.54	0.67±0.27
		2012	45.97±7.24	7.94±2.26
6	<i>S. triandra</i> L.	2010	–	0
		2011	92.83±3.79	1.24±0.41
		2012	85.16±4.50	9.95±2.62
28	<i>S. triandra</i> L.	2012	85.65±5.73	0
9	<i>S. rosmarinifolia</i> L.	2010	–	0
		2012	75.17±2.64	6.82±2.75
10	<i>S. rosmarinifolia</i> L.	2010	56.41±6.29	4.05±1.12
		2011	53.25±5.32	0.64±0.38
20	<i>S. rosmarinifolia</i> L.	2011	63.58±4.69	1.90±1.45
		2012	34.52±7.10	13.61±5.21
16	<i>S. dasyclados</i> Wimm.	2011	35.61±7.10	0
		2012	69.85±3.34	0
19	<i>S. fragilis</i> L.	2011	62.74±5.30	0
		2012	54.68±6.16	10.67±3.31
31	<i>S. fragilis</i> L.	2012	0.67±0.34	0
27	<i>S. caspica</i> Pall.	2012	36.98±6.59	28.12±6.51
30	<i>S. alba</i> L.	2012	17.60±5.68	0

**Примечание:** по незаполненным ячейкам данных нет; \* приведены условные номера популяций по полевому журналу.

пуляция № 8: 43.96±7.12%), *S. cinerea* (16.52±4.46%), *S. rosmarinifolia* (популяция № 20: 13.61±5.21%), *S. fragilis* (популяция № 19: 10.67±3.31%), *S. caspica* (28.12±6.51%).

Обращает на себя внимание тот факт, что ни в одной из двух популяций *S. caprea*, ни в популяции *S. dasyclados* не имела место завязываемость семян при беспыльцевом режиме цветения во все года исследования. Это указывает на то, что растения данных видов не воспроизводятся путем гаметофитного апомиксиса, либо им характерна его псевдогамная форма.

Для подтверждения данных по семенной продуктивности нами было проведено цитозембриологическое изучение структуры мегагаметофита и прилегающих областей семязачатка некоторых видов рода *Salix*. Результаты исследований представлены в таблице 2. В целом эти результаты подтвердили склонность к гаметофитному апомиксису у видов, у которых она была выявлена при изучении семенной продуктивности при беспыльцевом режиме цветения.

Цитоэмбриологические признаки гаметофитного апомиксиса у растений исследованных видов *Salix*

№ популяции	Название вида	Год исследования	Зародышевые мешки нормального строения, %	Дегенерировавшие ЗМ, %	Частота обнаружения признаков гаметофитного апомиксиса, %					
					развитие без оплодотворения			апоспорические инициалы	дегенерировавшие эуспорические ЗМ и апоспорические инициалы	всего
					проэмбрио	эндосперма	обоих структур			
1	<i>S. acutifolia</i>	2010	58.72	7.83	6.05	1.78	3.91	16.37	5.34	33.45
12	<i>S. acutifolia</i>	2011	94.18	0.0	0.0	0.0	0.0	5.82	0.0	5.82
8	<i>S. acutifolia</i>	2010	93.47	0.2	0.2	0.0	0.0	4.29	1.63	6.12
		2011	96.39	0.0	0.0	0.0	0.0	3.05	0.55	3.60
2	<i>S. caprea</i>	2010	86.56	1.65	0.0	0.0	0.0	7.08	4.72	11.80
		2011	91.74	3.81	0.0	0.0	0.0	4.03	0.42	4.45
6	<i>S. triandra</i>	2010	95.14	0.0	0.37	0.0	0.0	4.48	0.0	4.85
		2011	96.91	0.0	0.0	0.0	0.0	3.09	0.0	3.09
4	<i>S. cinerea</i>	2010	98.59	0.28	0.0	0.0	0.28	0.84	0.0	1.12
		2011	96.05	0.0	0.0	0.0	0.0	3.94	0.0	3.94
5	<i>S. vinogradovii</i>	2010	86.45	0.33	2.00	0.0	0.0	10.20	1.00	13.20
		2011	97.42	0.51	0.0	0.0	0.0	2.06	0.0	2.06
10	<i>S. rosmarinifolia</i>	2010	92.63	0.46	0.0	0.0	0.0	6.91	0.0	6.91
		2011	94.44	1.51	0.0	0.0	0.0	4.04	0.0	4.04
9	<i>S. rosmarinifolia</i>	2010	91.94	0.95	0.0	0.0	0.0	7.11	0.0	7.11
20	<i>S. rosmarinifolia</i>	2011	95.98	0.0	0.0	0.0	0.0	4.01	0.0	4.01
19	<i>S. fragilis</i>	2011	97.00	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	0.0	3.00
16	<i>S. dasyclados</i>	2011	99.62	0.0	0.0	0.0	0.0	0.38	0.0	0.38

У растений всех трех популяций *S. acutifolia* обнаружены цитоэмбриологические признаки гаметофитного апомиксиса. При этом максимальной их доля была выявлена в популяции 1 в 2010 г. (33.45%). Основным цитоэмбриологическим признаком гаметофитного апомиксиса было формирование в семязачатках апоспорических инициалей (с частотой более 21%), реже отмечалось развитие яйцеклетки без оплодотворения (преждевременная эмбриония) (с частотой более 6%), развитие эндосперма без оплодотворения (с частотой около 2%) и развитие обеих структур без оплодотворения (с частотой около 4%). В то же время, в 2011 г. у растений 12 популяции частота формирования в семязачатках рядом с эуспорическим зародышевым мешком или тетрадой мегаспор апоспорических инициалей отмечена лишь на уровне 5.82%, а остальные цитоэмбриологические признаки гаметофитного апомиксиса у растений не обнаружены.

У растений популяции 8 данного вида в оба года наблюдений частота встречаемости цитоэмбриологических признаков гаметофитного апомиксиса была относительно стабильной и близкой к той, что отмечена в популяции 12 в 2011 г. (3.55–5.94%). При этом из признаков гаметофитного апомиксиса в основном отмечено присутствие в семязачатках апоспорических инициалей. Лишь в 2010 г. обнаружены отдельные случаи преждевременной эмбрионии (0.2%).

Учитывая, что частота завязываемости семян у данного вида в разные года исследования составляла от 7 до 44%, растения *S. acutifolia* следует отнести к факультативно апомиктичным. При этом они характеризуются варьирующей частотой автономного апомиксиса, либо цитоэмбриологические признаки гаметофитного апомиксиса не всегда реализуются у них на уровне способа семенного воспроизводства и соответствующие структуры останавливаются в развитии на ранних стадиях.

Частота встречаемости цитоэмбриологических признаков апомиксиса выше 10% выявлена в 2010 г. в популяциях *S. caprea* (11.80%) и *S. vinogradovii* (13.20%). При этом в качестве единственного признака гаметофитного апомиксиса у *S. caprea* обнаружено формирование в семязачатках апоспорических инициалей (с частотой около 7%). Из них в более чем в 4% случаев в анализируемых семязачатках формирование апоспорических инициалей происходило в присутствии дегенерирующих эуспорических мегагаметофитов. В 2011 г. цитоэмбриологические признаки апомиксиса у растений *S. caprea* отмечены на уровне менее 5%. Близкий характер изменчивости имел место и у *S. vinogradovii*. Выше уже упоминалось о том, что при беспыльцевом режиме цветения у растений данных видов семена либо не завязывались (*S. caprea*), либо завязались с невысокой частотой (менее 8%) (*S. vinogradovii*) во все годы исследования. Это говорит о том, что либо у них апомиксис встречается лишь в псевдогамной форме, либо апоспорические инициали в части семязачатков останавливаются в развитии и на их основе не формируются семена.

Цитоэмбриологические признаки гаметофитного апомиксиса с более низкой частотой (в основном на уровне 5–7%) выявлены и у растений остальных трёх исследованных видов (*S. triandra*, *S. cinerea* и *S. rosmarinifolia*), причём у растений последнего вида они отмечены в обеих исследованных популяциях. При этом у растений всех трёх видов частота обнаружения цитоэмбриологических признаков апомиксиса была ниже, чем семенная продуктивность при беспыльцевом режиме цветения.

Характерно, что в большинстве исследованных на протяжении двух лет популяций видов, за исключением популяции *S. cinerea*, частота обнаружения цитоэмбриологических признаков гаметофитного апомиксиса в 2011 г. была существенно (в 1.6–6.4 раз) ниже, чем в 2010 г, что указывает на зависимость проявления этих признаков от погодных условий года. Как уже упоминалось, 2012 г. отличался от предыдущих гораздо большей частотой завязываемости апомиктичных семян у видов ив. При этом 2010–2011 гг. в Саратовской области характеризовались предельной засушливостью условий в течение всего вегетационного периода, начиная с апреля.

**Заключение.** Таким образом, установлена способность к факультативному гаметофитному апомиксису у растений 12 популяций 8 видов *Salix* (*S. acutifolia*, *S. caprea*, *S. cinerea*, *S. triandra*, *S. vinogradovii*, *S. rosmarinifolia*, *S. fragilis*, *S. caspica*). Для всех исследованных видов эта способность отмечена впервые. Максимальная частота цитоэмбриологических признаков гаметофитного апомиксиса обнаружена у растений *S. acutifolia* и *S. caprea*. Кроме того, для вербы отмечена максимальная частота завязываемости семян. Растениям всех исследованных видов свойственна апоспория.

Показано, что растениям *S. acutifolia*, *S. triandra*, *S. vinogradovii*, *S. rosmarinifolia*, хотя с варьирующей частотой, но свойственна способность к автономному апомиксису. *Salix caprea* и *S. cinerea*, скорее всего, – псевдогамные апомикты.

## ЛИТЕРАТУРА

- Батыгина Т.Б.** Амфимиксис // Эмбриология цветковых растений: Терминология и концепции, 2000а. – Т. 3. – С. 142–143.
- Батыгина Т.Б.** Апомиксис // Эмбриология цветковых растений: Терминология и концепции, 2000б. – Т. 3. – С. 143–146.
- Бекетовский А.Н.** К вопросу о партенокарпии *Salix alba* L., *S. caprea* L., *Populus alba* L., *Ulmus campestris* L. // Бот. журн., 1932. – Вып. 17. – С. 358–400.
- Кашин А.С.** Гаметофитный апомиксис как неустойчивая система семенного размножения у цветковых. – Саратов, 2006. – 310 с.
- Кашин А.С., Шишкинская Н.А.** Апомиксис. – Саратов: Изд-во Сарат. ун-та, 1999. – 104 с.
- Мэйнард Смит Дж.** Эволюция полового размножения. – М., 1981. – 272 с.
- Мюнтцинг А.** Генетика. – М.: Мир, 1967. – 558 с.
- Поддубная-Арнольди В.А.** Цитоэмбриология покрытосеменных растений. – М.: Наука, 1976. – 508 с.
- Сравнительная эмбриология цветковых. – Л.: Наука, 1981–1990. (1981. – Т. 1. – 264 с.; 1983. – Т. 2. – 364 с.; 1985. – Т. 3. – 285 с.; 1987. – Т. 4. – 392 с.; 1990. – Т. 5. – 332 с.).

- Угольникова Е.В., Кашин А.С.** Исследование частоты апомиксиса *Salix acutifolia* Willd. // Бюл. бот. сада, 2010. – Вып. 9. – С. 181–185.
- Федорова-Саркисова О.В.** Об апогамии у ив // Тр. ин-та исследований по лесному хозяйству и лесной промышленности, 1931. – Вып. 10. – С. 59–63.
- Хохлов С.С., Зайцева М.И., Курьянов П.Г.** Выявление апомиктических растений во флоре цветковых растений СССР. – Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 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.** Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, biploidy, tetrasploidy, and polyembryony // Biol. J. Linn. Soc., 1997. – Vol. 61. – P. 51–94.
- Carman J.G.** Gametophytic angiosperm apomicts and the occurrence of polysploidy and polyembryony among their relatives // Apomixis Newsletter, 1995. – № 8. – P. 39–53.
- Hakansson A.** Chromosome number and meiosis in *Salix (grandifolia × gracilistyla) × S. (silesiaca × argyptiaca)* // Hereditas, 1956. – Vol. 42. – P. 519–520.
- Herr J.M.** A new clearing squash technique for the study of ovule development in angiosperms // Amer. J. Bot., 1971. – Vol. 58. – P. 785–790.
- Ikeno S.** On hybridization of some species of *Salix* // Ann. Bot., 1922. – Vol. 36. – P. 175–191.
- Копецкий Ф.** Haploid *Populus alba* L. kiserletieloallitasa // Erdesz. Kutatasok., 1960a. – Vol. 56. – P. 151–158.
- Копецкий Ф.** Experimentelle Erzeugung von haploiden Weibpappeln (*Populus alba* L.) // Silvac. genet., 1960b. – Vol. 9. – P. 102–105.
- Nagaraj M.** Floral morphology of *Populus deltoides* and *P. tremuloides* // Bot. gaz., 1952. – Vol. 114, № 2. – P. 222–243.
- Tralav H.** Uber die haploid Form von *Populus tremula* L. Uppland // Bot. Not., 1957. – Vol. 110. – P. 481–483.

#### SUMMARY

During the cytoembriological investigation and the research of seed productivity of the species of *Salix* L. from different areas of Saratov region, the ability of gametophyte apomixis was found out in 12 populations of 8 species of willows. This way of seed reproduction of willows was noticed for the first time.