

УДК 581.3582

ОСОБЛИВОСТІ РОЗВИТКУ ЧОЛОВІЧИХ РЕПРОДУКТИВНИХ СТРУКТУР У ДЕЯКИХ ВИДІВ РОДУ *CRATAEGUS* L.

Я.С. Гасинець

Особливості розвитку чоловічих репродуктивних структур у деяких видів роду *Crataegus* L. — Я.С. Гасинець. — Досліджено розвиток чоловічих репродуктивних структур у тетраплоїдних видів *Crataegus monogyna* Jacq., що зростає в околицях м. Ужгорода та *C. monogyna* і *Crataegus corallina* hort. з ботанічного саду Ужгородського національного університету. Стерилізація пилкових зерен у *C. monogyna* та *C. corallina* з території ботанічного саду УжНУ, на відміну від *C. monogyna* з околиць м. Ужгорода, обумовлена аномаліями в мейозі при мікроспорогенезі, а також при розвитку чоловічого гаметофіта. Життєздатність пилкових зерен у *C. monogyna* з околиць м. Ужгорода 95% з 98% морфологічно нормальних пилкових зерен, у *C. monogyna* з ботанічного саду УжНУ — 6% з 38%, у *C. corallina* з ботанічного саду УжНУ — 28% з 69%.

Ключові слова: мікроспороцити, мікроспори, мейоз, мікроспорогенез, чоловічий гаметофіт

Адреса: Ужгородський національний університет, кафедра ботаніки, вул. А. Волошина, 32, м. Ужгород, 88000, Україна, E-mail: hasinets@mail.ru

Features of development of male reproductive structures in some types of *Crataegus* L. genus. — Ya. Hasynets. — Development of male reproductive structures has been studied on the tetraploid species of *Crataegus monogyna* Jacq., that grows on the outskirts of the city Uzhhorod and *C. monogyna* and *C. corallina* hort. from the botanical garden of the Uzhhorod National University. The sterilization of pollen grains in *C. monogyna* and *C. corallina* from the territory of botanical garden of UzNU unlike *C. monogyna* from the outskirts of Uzhhorod is caused by the abnormalities of meiosis during microsporogenesis as well as in the development of the male gametophyte. Viability of pollen grains in *C. monogyna* from the outskirts of Uzhhorod is 95% from 98% of morphologically normal pollen grains, in *C. monogyna* from the botanical garden of UzNU — 6% from 38%, in *C. corallina* from the botanical garden of UzNU — 28% from 69%.

Key words: microsporocytes, microspores, meiosis, microsporogenesis, male gametophyte

Address: Uzhhorod National University, Dept. of Botany, 32, A. Voloshyn Str., Uzhhorod, 88000, Ukraine, E-mail: hasinets@mail.ru

Crataegus L. належить до складних для вивчення родів під родини *Maloideae* з основним числом хромосом $n=17$, зрідка $n=16$ [11]. Генезис видів роду *Crataegus* пов'язаний з процесами ало- та автополіплоїдії [11, 14, 23].

Поєднання ало- і автополіплоїдії сприяло інтенсивному видоутворенню в межах роду *Crataegus*, широкому розповсюдженню видів та вплинуло на спосіб їх репродукції [123].

Діагностування видів за певними морфологічними ознаками, які б могли слугувати критерієм для визначення й надання статусу виду в межах роду *Crataegus*, утруднюється міжвидовою гібридизацією, наслідком якої є внутрішньовидова мінливість, що, як правило, створює труднощі і навіть унеможливує диференціювання великої кількості гібридного матеріалу на конкретні види в межах роду.

Рід *Crataegus* представлений диплоїдними, триплоїдними й тетраплоїдними видами. Літературні відомості [12-15, 17] вказують на наявність у видів роду *Crataegus* як статевого, так і апоміктичного способу репродукції.

Цитоембріологічні дослідження видів роду *Crataegus* [7-9, 12-18, 21] стосуються в основному розвитку жіночого археспорія та способів насінної репродукції. Недостатньо вивчений мікроспорогенез та формування пилкових зерен в роду *Crataegus*.

Наведемо кілька відомостей з історії питання. Так, L.M. Standish [22] вказує на те, що гібридизація і поліплоїдія призводять до стерильності видів роду *Crataegus*. H.W. Rickett [20] експериментально довів, що для диплоїдів характерне статеве розмноження, а для поліплоїдів — апоміксис.

A. Longley [10] встановив, що у триплоїдних і тетраплоїдних видів *Crataegus* у процесі мікроспорогенезу спостерігаються відхилення в мейозі, внаслідок яких фертильність пилкових зерен незначна. Триплоїдні і тетраплоїдні види *Crataegus*, в яких пилкові зерна є стерильними автор вважає гібридними. Такі гетерозиготні форми характеризуються наступними особливостями: нерівномірним розходженням хромосом у анафазі мейозу при мікроспорогенезі, утворенням багатоядерних

мікроспор, виникненням поліад і, як наслідок, стерильних пилкових зерен.

К. Ptak [17] досліджувала процес утворення мікроспор у видів *Crataegus monogyna* Jacq., *C. oxyacantha* L. і *C. curvisepala* Lindm. Результати робіт показали, що мікроспорогенез у диплоїдних видів проходить без відхилень, а у тетраплоїдного *C. curvisepala* аномалії в мейозі призводять до утворення стерильних пилкових зерен.

М. Muniyamma, J.B. Phipps [15], Т.А. Dickinson, J.B. Phipps [8] вказують на те, що в диплоїдних видів роду *Crataegus* при мікроспорогенезі здійснюється нормальний хід мейозу та утворюються фертильні пилкові зерна. У триплоїдних *Crataegus* відбуваються порушення в процесі мейозу, спостерігається повна чи часткова стерилізація пилкових зерен [8, 12-14, 18, 19, 21]. У окремих випадках у триплоїдів фертильність пилкових зерен є такою ж високою як у диплоїдів чи тетраплоїдів [21]. У тетраплоїдних видів *Crataegus* виявлено переважно фертильний пилок [8, 15, 21].

Матеріали і методика досліджень

Нами досліджувався розвиток чоловічих репродуктивних структур у тетраплоїдних видів *Crataegus monogyna* – зібраного з околиць м. Ужгорода та *C. monogyna* і *C. corallina* hort.– з території ботанічного саду Ужгородського національного університету.

Для цитоембріологічних досліджень темпоральну фіксацію матеріалу проводили в період від початкових стадій розвитку насінних зачатків до завершення цвітіння та утворення ендосперму і зародка. Фіксатором була хром-оцтвово-формалінова суміш за Навашиним (10:4:1) [3, 4]. Зрізи фарбували за Фельгеном та залізімом гематоксилином за Гейденгайном, підфарбовуючи цитоплазму світлим зеленим та 0,5%-ним водним розчином еритрозину.

Для встановлення стерильності пилкових зерен використовувалась ацетокармінова методика [5].

Життєздатність пилкових зерен вивчалась шляхом пророщування їх на поживному середовищі агар-агар з концентраціями глюкози 15 та 20 відсотків. Підрахунок пророслих пилкових зерен проводився для кожного виду на 15 тимчасових препаратах у п'яти полях зору мікроскопа.

Дані, які отримані при дослідженні фертильності пилкових зерен, були оброблені статистичними методами обробки інформації, згідно загальноприйнятих методик [1].

Результати досліджень

Під епідермісом пиляка видів *Crataegus*, на місцях майбутніх мікроспорангіїв, закладаються первинні паріетальні клітини.

При подальшому розвитку мікроспорангіїв, три-чотири клітини первинного археспорія в результаті периклінальних поділів, утворюють первинні паріетальні та вторинні археспоріальні клітини. Первинний паріетальний шар, шляхом поділу клітин в периклінальному напрямі, дає початок тапетуму та вторинному паріетальному шару. Наступні периклінальні поділи клітин вторинного паріетального шару призводять до утворення ендотеції і середнього шару, що здатні повторно поділитись, внаслідок чого утворюються три середні шари.

Генезис стінки мікроспорангіїв здійснюється у відцентровому напрямі. Тапетум є похідним паріетального шару. Отже, розвиток стінки пиляка відбувається за типом дводольних [6].

У видів *Crataegus* тапетальний шар повторно поділяється і стає двошаровим. У подальшому здійснюється його поліплоїдизація. Таким чином, стінка пиляка у *Crataegus* складається з семи шарів клітин: епідерми, ендотеції (фіброзного шару), трьох середніх і двох шарів тапетуму.

Тапетум секреторного типу. Найбільшою функціональною активністю тапетум набуває в період поліплоїдності його клітин. Дегенерація тапетуму починається в кінці формування тетрад мікроспор і повністю завершується на стадії двоклітинного пилкового зерна.

Мікроспорогенез у *C. monogyna* з території ботанічного саду УжНУ та *C. corallina*, на відміну від *C. monogyna* з околиць м. Ужгорода, відбувається з значними порушеннями, які проявляються у відсутності кон'югації окремих хромосом, що в профазі першого поділу мейозу призводить до утворення, поряд з бівалентами, унівалентів. У анафазі I унівалентні хромосоми затримуються в межах мітотичного веретена, іноді виходять за його межі, що в телофазі обумовлює утворення ядер різних розмірів. Така багатоядерність, при цитокінезі призводить до утворення поліад, мікроспори яких містять декілька ядер.

Найбільш критичною у видів *C. monogyna* та *C. corallina* з території ботанічного саду УжНУ є стадія розвитку мікроспор у чоловічий гаметофіт (двоклітинне пилкеве зерно), оскільки мікроспори, у яких набір хромосом містить бі- та уніваленти не здатні в результаті мітотичного поділу утворювати функціонуючу генеративну клітину. Незначна життєздатність пилкових зерен, очевидно, може бути обумовлена наявністю в них анеуплоїдних ядер. Аномалії при розвитку чоловічого гаметофіта полягають у наступному: 1) ядро мікроспори не зміщується до стінки і не приступає до мітозу; 2) ядро мікроспори займає пристінне положення, але послідовно відбуваються два-три мітози і утворюється кілька дрібних ядер; 3) пилкові зерна дегенерують на стадії виникнення вегетативного і генеративного ядер.

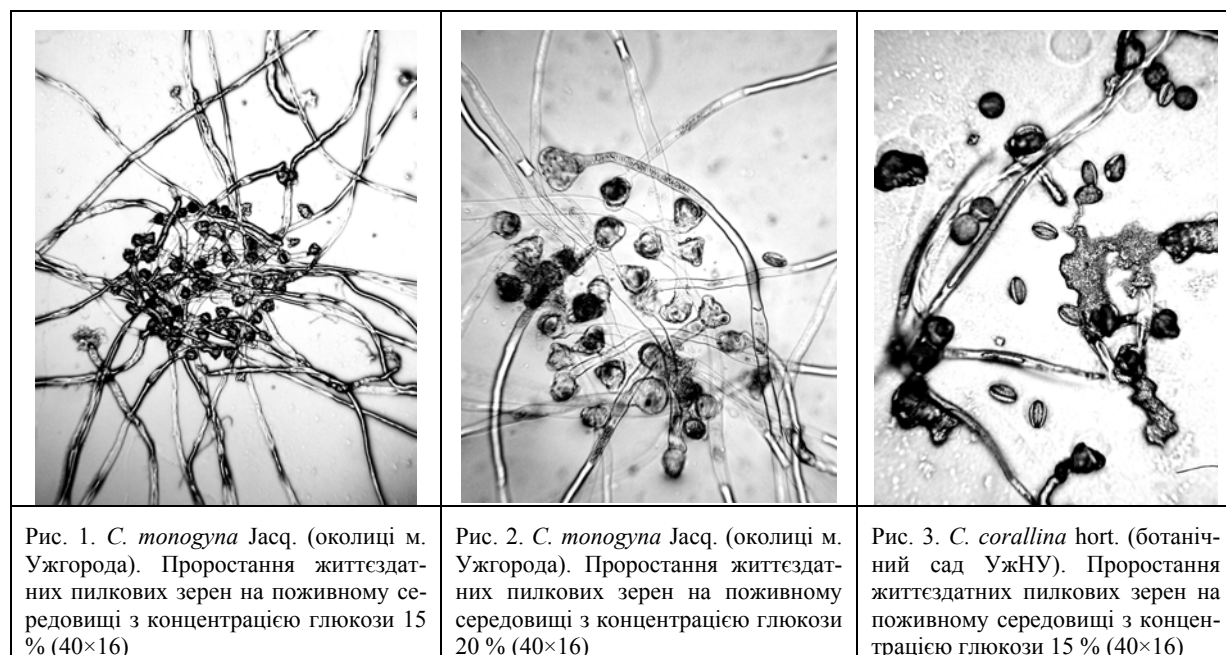
Вищезгадані аномалії призводять до зниження кількості морфологічно нормальних пилкових зе-

рен у *C. monogyna* з території ботанічного саду УжНУ – до 38 %, *C. corallina* – до 68 %, з яких відсоток пилкових зерен, які проростають на штучному поживному середовищі відповідно дорівнює: у *C. monogyna* з території ботанічного саду УжНУ при концентрації глюкози 15% – 5,23%, 20% – 5,61% та в *C. corallina* – 26,51% та 27,68%.

Що стосується *C. monogyna* з околиць м. Ужгорода, то загальна кількість морфологічно нормальних пилкових зерен сягає 98%, з яких відсоток пилкових зерен, що проростають на штучному поживному середовищі становить при концентрації глюкози 15% – 94,51%, а при 20% – 70,45% (табл. 1, рис. 1-3).

Таблиця 1. Морфологічно нормальні та життєздатні пилкові зерна видів роду *Crataegus*.

№ п/п	Назва виду	Місце-зростання	Концентрація глюкози (%)	Типи пилкових зерен	
				Морфологічно нормальні (фертильні)	Життєздатні (пророслі)
1.	<i>Crataegus monogyna</i> Jacq.	околиці м. Ужгорода	15	96,95	94,51
			20	98,18	70,45
				97,57	82,48
2.	<i>Crataegus monogyna</i> Jacq.	бот. сад УжНУ	15	37,77	5,23
			20	35,14	5,61
				36,46	5,42
3.	<i>Crataegus corallina</i> hort.	бот. сад УжНУ	15	67,44	26,51
			20	68,36	27,68
				67,9	27,10



У *C. monogyna* з території ботанічного саду УжНУ довжина пилкової трубки більша при концентрації глюкози 15% і дорівнює 148,32 мкм, а при 20% – 98,25 мкм. У *C. corallina* пилкова трубка довша при 20% і становить 174,70 мкм, при 15% – 76,67 мкм. Довжина пилкової трубки в *C. monogyna* з околиць м. Ужгорода при концентрації 15% рівна 340,50 мкм, а при 20% – 299,96 мкм (рис. 1-3).

Пилкові зерна у видів *Crataegus* різні за розмірами, а саме: гігантські (середній діаметр = 45,79±1,44 (*C. monogyna* з території ботанічного

саду УжНУ), 77,84±4,27 (*C. corallina*), 56,96±0,57 (*C. monogyna* з околиць м. Ужгорода)); карликові (середня величина екваторіального діаметра = 21,03±1,13 та полярної вісі 32,19±1,81 (*C. monogyna* з території ботанічного саду УжНУ), 27,31±1,37 та 32,24±1,13 (*C. corallina*), 20,15±4,65 (*C. monogyna* з околиць м. Ужгорода)); морфологічно нормальні (середнє значення діаметра = 30,76±1,11 (*C. monogyna* з території ботанічного саду УжНУ), 47,29±1,66 (*C. corallina*), 34,92±1,00 (*C. monogyna* з околиць м. Ужгорода)) (табл. 2, рис. 4-6).

Таблиця 2. Середнє арифметичне діаметра пилку в видів роду *Crataegus* (мкм).

№ п/п	Назва виду	Місце-зростання	Нормальні пилкові зерна	Аномальні пилкові зерна		
				Гігантські пилкові зерна	Карликові пилкові зерна	
					Екваторіальний діаметр	Полярна вісь
1.	<i>C. monogyna</i> Jacq.	околиці м. Ужгород	34,92±1,00	56,96±0,57	20,15±4,65	
2.	<i>C. monogyna</i> Jacq.	бот. сад м. Ужгорода	30,76±1,11	45,79±1,44	21,03±1,13	32,19±1,81
3.	<i>C. corallina</i> hort.	бот. сад м. Ужгорода	47,29±1,66	77,84±4,27	27,31±1,37	32,24±1,13



Рис. 4. *C. corallina* hort. (ботанічний сад УжНУ). Життєздатні та дефектні пилкові зерна (40×16)

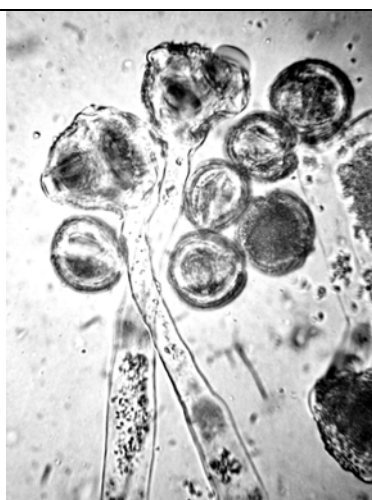


Рис. 5. *C. corallina* hort. (ботанічний сад УжНУ). Життєздатні та дефектні пилкові зерна (40×16)

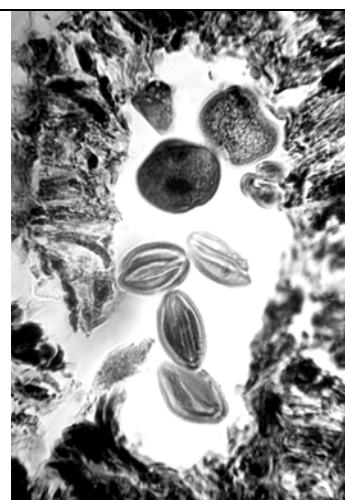


Рис. 6. *C. monogyna* Jacq. (ботанічний сад УжНУ). Нормальні та дефектні пилкові зерна (40×16)

Аналіз результатів досліджень *C. corallina* свідчить про те, що з 68 % морфологічно нормальних (фертильних) пилкових зерен проростає 28%, які і є життєздатними. Тетраплоїдний вид *C. corallina* вважається гібридним видом [10]. Очевидно, можна зробити припущення про гібридне походження і *C. monogyna* з території ботанічного саду УжНУ, оскільки з 38 % морфологічно нормальних пилкових зерен проростає лише 6 % порівняно з дикорослим *C. monogyna* з околиць м. Ужгорода. В останнього відсоток фертильних пилкових зерен становить 98, з них пророслих – до 95% (при концентрації глюкози 15%).

Таким чином, мікроспорогенез у *C. monogyna* та *C. corallina* з території ботанічного саду УжНУ, в порівнянні з дикорослим *C. monogyna*, проходить із значними порушеннями, що призводять до виникнення нежиттєздатних пилкових зерен, або дегенерації спорогенного комплексу мікроспорангіїв у цілому.

С.С. Хохлов та ін. [5] вказував на те, що в виді у природі завжди присутній певний відсоток дефектних – стерильних пилкових зерен. П.Г. Курпріанов, В.Г. Жолобова [2] встановили відсоткову межу дефектності – 11%. До цієї межі стериль-

ність пилкових зерен для статевих видів слід вважати нормою.

Для *C. monogyna* та *C. corallina* з території ботанічного саду УжНУ етап розвитку мікроспор у чоловічий гаметофіт, очевидно, є найбільш критичним і пов'язаний з плоідністю ядер мікроспор, а також з ранньою дегенерацією поліплоїдної тапетальної тканини.

А.Е. Longley [10], досліджуючи мікроспорогенез у інших видів *Crataegus*, виявив значні відхилення в ході мейозу, але він не згадує про послідовні порушення, що здійснюються при утворенні двоклітинних пилкових зерен. Автор відмічає, що у три- і тетраплоїдних видів *Crataegus* розвиток мікроспороцитів у мікроспорангіях іноді протікає до стадії тетрад, але найчастіше відбувається їх вакуолізація і тетради не утворюються. Висловлюється думка, що причиною такого явища може бути гібридне походження видів і гетерозис.

Наші дослідження *C. monogyna* та *C. corallina* з території ботанічного саду УжНУ узгоджуються з даними автора.

К. Ptak [17] у тетраплоїдного *C. curvisepala* також відмічала аномалії в мейозі, що призводять до утворення стерильних пилкових зерен.

У цілому автори літературних джерел з вивчення питань мікроспорогенезу, фертильності пилкових зерен та причин їх стерильності вбачають у генетичному факторі. Видоспецифічність фертильності і стерильності пилкових зерен, очевидно, залежить від генетичного фактора, а на фертильність пилкових зерен та можливість здійснювати ними запилення впливають екологічні фактори, що й визначають насінну продуктивність виду.

Отже, наявність фертильного пилку в *C. corallina* та *C. monogyna* з різних місць зростає свідчить про те, що здійснення статевого процесу можливе епізодично.

Висновки

1. Стінка мікроспорангія у видів *Crataegus* формується за типом дводольних. Тип тапетума секреторний. Мікроспорогенез у *C. monogyna*, *C. corallina* з території ботанічного саду УжНУ, на відміну від *C. monogyna* з околиць м. Ужгорода, супроводжується аномаліями при мейозі, що проявляються в утворенні уні- та тетравалентних хро-

мосом, які в анафазі першого поділу мейозу нерівномірно розходяться до полюсів. Наслідком цих аномалій є утворення поліад – мікроспор, що містять мікро- та макроядра з різною кількістю хромосом, що призводить до зниження кількості морфологічно нормальних та утворення нежиттєздатних пилкових зерен.

2. У *C. corallina* з 68 % морфологічно нормальних пилкових зерен проростає 28 %. У *C. monogyna* з території ботанічного саду УжНУ відсоток фертильних пилкових зерен складає 38, з них пророслих – 6 %. У *C. monogyna* з околиць м. Ужгорода з 98 % фертильних пилкових зерен, при концентрації глюкози 15% життєздатними виявилось 95 %.

3. Аналіз фертильності пилкових зерен та їх життєздатність, очевидно, свідчить про гібридне походження видів *C. monogyna* та *C. corallina*, що зростають на території ботанічного саду УжНУ.

4. Дикорослий *C. monogyna* є тетраплоїдним видом, мейоз у якого здійснюється без відхилень, а життєздатність пилкових зерен досягає верхньої межі 95%.

1. Колде Я.К. Практикум по теории вероятностей и математической статистики. – М.: Высшая шк., 1991. – 157 с.
2. Куприянов П.Г., Жолобова В.Г. Уточнение понятий нормальная и дефектная пыльца в анморфологическом методе // Апомиксис и цитоэмбриология растений. – Саратов. – 1975. – С. 47-52.
3. Наумов Н.А., Козлов В.Е. Основы ботанической микротехники. – М.: Сов. наука, 1954. – 307 с.
4. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. – М.: Колос, 1974. – 288 с.
5. Хохлов С.С., Зайцева М.И., Куприянов П.Г. Выявление апомиктических форм во флоре цветковых растений СССР. – Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 1978. – 224 с.
6. Davis G.Z. Systematic embryology of the Angiosperms. – New York: Wiley, 1966. – 528 p.
7. Dickinson T.A., Phipps J.B. Studies in *Crataegus* L. (Rosaceae: Maloideae) XIII. Degree and pattern of variation in *Crataegus* section *Crus-galli* in Ontario // Syst. Bot. – 1985. – 10. – P. 322-337.
8. Dickinson T.A., Phipps J.B. Studies in *Crataegus* L. (Rosaceae: Maloideae) XIV. The breeding system of *Crataegus crus-galli* sensu lato in Ontario // Amer. J. Bot. – 1986. – 73. – P. 116-130.
9. Dickinson T.A., Belaoussoff S., Love R.M., Muniyamma M. North American black-fruited hawthorns. Variation in floral construction, breeding system correlates, and their possible evolutionary significance in *Crataegus* sect. *Douglasii* Loudon // Folia Geobotanica & Phytotaxonomica. – 1996. – 31. – P. 355-371.
10. Longley A.E. Cytological studies in the genus *Rubus* and *Crataegus* // Amer. natur. – 1923. – 57. – P. 568-569.
11. Longley A.E. Cytological studies in the genus *Crataegus* // Amer. J. Bot. – 1924. – 11. – P. 295-317.
12. Muniyamma M., Phipps J.B. Cytological proof of apomixis in *Crataegus* (Rosaceae) // Amer. J. Bot. – 1979. – 66, № 2. – P. 149-155.
13. Muniyamma M., Phipps J.B. Meiosis and polyploidy in Ontario species of *Crataegus* in relation to their systematics // Canad. J. Genet. Cytol. – 1979. – 21. – P. 231-241.
14. Muniyamma M., Phipps J.B. Studies in *Crataegus* XI. Further cytological evidence for the occurrence of apomixis in North American hawthorns // Canad. J. Bot. – 1984. – 62. – P. 2316-2324.
15. Muniyamma M., Phipps J.B. Studies in *Crataegus*. XII. Cytological evidence for sexuality in some diploid and tetraploid species of North American hawthorns // Ibid. – 1985. – 63. – P. 1319-1324.
16. Pechoutre F. Contribution a l'étude du developpement de l'ovule et de la graine des Rosacées // Ann. sci. natur. bot. – 1902. – 16. – P. 1-158.
17. Ptak K. Cyto-embryological investigations of the Polish representatives of the genus *Crataegus* L. I. Chromosome numbers; embryology of diploid and tetraploid species // Acta Biol. Crac. Ser. Bot. – 1986. – 28. – P. 107-122.
18. Ptak K. Cyto-embryological investigations on the Polish representatives of the genus *Crataegus* L. II. Embryology of triploid species // Ibid. – 1989. – 31. – P. 97-112.
19. Ptak K. Cyto-embryological investigation of the Polish representatives of the genus *Crataegus* L. II. Embryology of triploid species // Ibid. – 1990. – 31. – P. 97-112.
20. Rickett H.W. Forms of *Crataegus pruniosa* // Bot. Gaz. – 1936. – 97. – P. 788-793.
21. Smith G.L. (P.G.), Phipps J.B. Studies in *Crataegus* (Rosaceae, Maloideae), XIX. Breeding behavior in Ontario *Crataegus* series *Rotundifoliae* // Canad. J. Bot. – 1988. – 66. – P. 1914-1923.
22. Standish L.M. What is happening to the Hawthorns // Hereditas. – 1916. – 7. – P. 266-269.
23. Stebbins G.L. The inviability, weakness and sterility of interspecific hybrids // Adv. Genet. – 1958. – 9. – P. 147-215.

Отримано: 10 листопада 2007 р.

Прийнято до друку: 25 травня 2008 р.