

УДК 582.711.712

ОСОБЛИВОСТІ НАСІННОГО РОЗМНОЖЕННЯ *ALCHEMILLA DEYLIi PLOCEK*.

Попович Г.Б.

Особливості насінного розмноження *Alchemilla deylii* Plocek. – Г. Б. Попович. – Вивчено ембріональні процеси у *Alchemilla deylii* Plocek. Жіночий археспорій багатоклітинний. Кількість мегаспороцитів варіює від двох до трьох. Запліднення яйцеклітини не виявлено. Розвиваються апоспоричні зародкові мішки. Ендосперм нуклеарного типу. Зародок розвивається партеногенетично за типом *Asterad* var. *Geum*.

Ключові слова: археспорій, спорогенні клітини, зародковий мішок, апоміксис, зародок, ендосперм.

Адреса: Ужгородський національний університет, вул. Волошина, 32, Ужгород, 88000

The peculiarities of seed reproduction in *Alchemilla deylii* Plocek. – H. Popovich. – The embryological study has been studied in *Alchemilla deylii* Plocek. The female archesporium is multicellular. The amount of megasporocytes varies from two to three. Ovicell fertilization has not been revealed. Develops the aposporous embryo sacs. The endosperm is nuclear. The embryo develops parthenogenetically according to the type *Asterad* var. *Geum*.

Key words: archesporium, sporogenous cells, embryo sac, apomixis, embryo, endosperm.

Address: Uzhgorod National University, 32, A. Voloshyn St., Uzhhorod, 88000.

Вступ

Рід *Alchemilla* L. входить до складу родини Rosaceae. Поліморфність видів роду *Alchemilla* зумовлена складною генетичною системою, в основі якої лежить широкий і варіабельний діапазон плоідності та апоміктичний спосіб розмноження.

Дослідники Вёос (1917, 1920, 1924) [6-8] та Hjelmqvist (1959) [11] наслідуючи Mürbeck (1901a) [13] вважали, що представники *Eualchemilla* облигатні апомікти. Hjelmqvist (1956) [10] у африканських видів підроду *Eualchemilla* (*A. argyrophylla* Oliv., *A. elgonensis* Mildbr., *A. johnstoni* Oliv.) вказував на відсутність апоміксису. Дослідження К.П. Глазунової (1981, 1983) [1, 3] показали, що для видів роду *A. heptagona* Juz. і *A. glaucescens* Wallg. характерно статеве відтворення, тоді як для *A. baltica* G. sam. ex Juz. – апоміктичне.

Отже, одні види можуть бути статевими, інші апоміктичними, або у одного і того ж виду може відбуватися апоміксис і статеве розмноження.

Вивчення цитоембріології видів роду *Alchemilla* є недостатнім. В основному дослідники звертали увагу на розвиток жіночого археспорію [6, 13-16]. Не вивченими залишаються мікроспорогенез, формування та життєздатність пилкових зерен, наявність статевого розмноження чи апоміксису та визначення його форми, розвиток зародка і ендосперму.

Завданням нашої роботи було: встановити фертильність пилкових зерен, вивчити структуру та функціонування спорогенного комплексу, з'ясувати шляхи розвитку зародкових мішків – еуспорія,

диплоспорія або апоспорія, дослідити наявність апоміксису та визначити його форми.

Матеріал і методика досліджень

Об'єктом дослідження є *Alchemilla deylii* Plocek., що природньо зростає на території Українських Карпат (г. Говерла, 1500-2000 м н.р.м.). Фіксацію матеріалу проводили в період від утворення бутонів до цвітіння та формування насіння, протягом 2005-2006 років. Використовували фіксатор Навашина (хромова кислота: формалін: льодяна оцтова кислота – 10:4:1).

Препарати фарбували за Фельгеном та Гейденгайном із підфарбуванням цитоплазми світлим зеленим та еритрозином.

Для вивчення поліморфності, стерильності та фертильності пилкових зерен використовували ацетокармінову методику. Життєздатність визначали шляхом пророщування пилкових зерен на штучному поживному середовищі.

Результати досліджень та їх обговорення

Сформовані пиляки чотиригнізді, гнізда зближені попарно у дві теки. Розвиток гнізда пиляка поділяється на премейотичний, мейотичний і постмейотичний періоди.

У премейотичному періоді внаслідок мітотичних поділів відбуваються початкові етапи розвитку стінки пиляка. Із субепідермальних клітин мікроспорангія диференціюється первинний археспорій, внаслідок периклінальних поділів якого утворюється первинний паріетальний шар та

вторинні археспоріальні клітини. Первинний паріетальний шар формує стінку мікроспорангія, а внаслідок мітотичного поділу вторинних археспоріальних клітин виникають клітини спорогенного комплексу, які трансформуються у мікроспороцити.

Під час мейотичного періоду відбувається розвиток та активне функціонування стінки пиляка, утворюються тетради мікроспор.

У постмейотичному періоді відбувається проростання тетрад мікроспор у двоклітинні пилкові зерна – чоловічий гаметофіт.

Формування стінки мікроспорангія відбувається за типом дводольних [9]. Первинний паріетальний шар поділяється периклінально на вторинний паріетальний шар і тапетум. Вторинний паріетальний шар шляхом мітозу утворює середній шар і ендотецій. Середній шар при поділі може утворювати два-три середні шари. Отже, сформована стінка пиляка складається з епідерми, ендотеція, двох-трьох середніх шарів і тапетума.

Процес мікроспорогенезу супроводжують декілька критичних етапів: 1) спорогенний; 2) мікроспороцитний; 3) мікроспоровий; 4) гаметофітний. На першому етапі відбувається дегенерація спорогенних клітин. Однак більшість з них трансформуються в мікроспороцити і тут гинуть до чи протягом стадії синапсису першого поділу мейозу. Частина мікроспороцитів проходить мейоз і виникають тетради мікроспор. На мікроспоровому етапі проявляються аномалії, виникають поліади – аномальні карликові та гігантські абортивні пилкові зерна. На цьому етапі при утворенні мікроспор більша частина мікроспор дегенерує, не досягаючи двоклітинного пилкового зерна.

Для *A. deyllii* спостерігалось значне варіювання діаметра пилкових зерен. Чим більше варіювання розмірів, тим менший процентний склад морфологічно нормального пилку, який складає близько 30 %.

У видів роду *Alchemilla* насінний зачаток потужний – красинуцелятний. Розвинений один інтегумент, кінці якого на верхівці нуцелуса зростають між собою, тому мікропіле практично відсутнє. У мікропілярній частині нуцелуса шляхом периклінальних поділів клітин епідерми розвивається п'яти-семи шаровий нуцелярний ковпачок.

Для представників родини Rosaceae притаманно наявність багатоклітинного жіночого археспорія [4, 5]. На початкових стадіях розвитку насінного зачатку в центральній частині нуцелуса диференціюється чотири-п'ять первинних археспоріальних клітин. Кожна з них шляхом поділу периклінальними перегородками дає дві клітини – покривну, обернену в бік епідерми, і вторинну археспоріальну (спорогенну) клітину, обернену в глибину нуцелуса. Покривні клітини шляхом поділів утворюють покривний комплекс.

Серед вторинних археспоріальних клітин виділяють центральну, латеральні та паріетальні клітини – похідні первинного археспорія. В залежності від місцеположення вони знаходяться на різних етапах диференціювання. Кількість мегаспороцитів незначна (2-3).

Перетворитися у мегаспороцити, або ж дати початок апоміктичним диплоспоричним зародковим мішкам, мають здатність всі похідні вторинних

археспоріальних клітин. При формуванні мегаспороцита із центральної клітини чи її похідних, латеральні клітини до мейозу не приступають.

Для видів роду *Alchemilla* притаманна властивість утворення і диплоспоричних, і апоспоричних апоміктичних зародкових мішків. Латеральні спорогенні клітини, внаслідок мітотичних поділів, здатні розвиватися у апоміктичні диплоспоричні зародкові мішки – диплоспорія, які досягають дво- чи чотириядерної стадії, дегенерують, або ж розвиваються і витісняють нормальні зародкові мішки.

Апоспоричні апоміктичні зародкові мішки утворюються із соматичних клітин нуцелуса в зоні халази ще на стадії бутонізації у *A. deyllii* виникають три-п'ять апоспоричних ініціальних клітин, які шляхом мітозу утворюють апоспоричні диплоїдні зародкові мішки – апоспорія.

Повного диференціювання досягають апоміктичні зародкові мішки апоспоричного характеру. Еуспоричні гаплоїдні зародкові мішки нормального – *Polygonum* типу утворюються зрідка.

У видів роду *Alchemilla* зародок утворюється партеногенетично із яйцеклітини. Вхідження пилкової трубки в зародковий мішок, злиття спермія з ядром центральної клітини або з одним із полярних ядер не виявлено. Запліднення не спостерігалось.

Першим до розвитку приступає зародок. Ядро центральної клітини поділяється, коли зародок сягає 10-12 клітинної стадії. Ендосперм нуклеарного типу, розвивається без потрібного злиття. Ембріогенез відбувається за класифікацією Д. Джогансена (1950) по типу *Asterad* var. *Geum*.

Отже, досліджуваний нами вид є автономним апоміктом, коли першою до поділу приступає яйцеклітина, партеногенетично розвивається у зародок і є стимулом до розвитку ендосперма.

S. Murbeck [13, 14] вивчав стерильність пилкових зерен у скандинавських і середньоевропейських видів *Alchemilla*. Дослідження життєздатності пилкових зерен у *A. alpina* L., *A. sericata* Rchb., *A. pubescens* Lam. і *A. vestita* L. показали, що дегенерація мікроспорангіїв відбувається на ранній стадії розвитку, коли пилкові зерна ще не сформувалися. Спорогенні клітини можуть поділятися, утворюючи тетради, однак вони піддаються дегенерації. У *A. alpina* L., *A. sericata* Rchb. і *A. plicata* Bus. дегенерація вмісту пилкових зерен проходить на стадії спорогенної тканини, у *A. spesiosa* Bus. утворюються нормальні пилкові зерна, але вони не проростають – дегенерують.

Дослідження Е. Strasburger [16] показали, що у південноамериканських та африканських видів *Alchemilla* утворюються нормальні пилкові зерна, які здатні проростати на приймочці маточки, а отже, ці види можуть мати статевий спосіб репродукції. Статеве відтворення є вихідним і, мабуть, існує в умовах високогір'я Південної Америки та Африки.

Автор відмітив, що південно- і центральноамериканські й африканські види мають статеве відтворення, але в них відкриваються тільки пиляки з нормальними пилковими зернами.

G. Vöös [6] за гербарними зразками південно- і центральноамериканських видів *Alchemilla* виявив наявність в них різного процента морфологічно нормальних пилкових зерен.

Вивчення Н. Hjelmquist [10] мікроспорогенезу африканських видів показало, що мейоз проходить нормально, розвиток пилкових зерен сягає утворення генеративної клітини, а далі їх життєздатність втрачається. Автор зробив висновок про наявність у африканських видів статевого відтворення.

Дослідження К.П. Глазунової і А.І. Пермякова [2], К.П. Глазунової [1, 3] східноєвропейських видів роду *Alchemilla* показали, що у *A. glaucescens* Wallr і *A. hirsuticaulis* Lindb. fil. пилкові зерна повністю стерильні, у *A. acutiloba* Opiz. стерильні на 23-27%, а у *A. filicaulis* Bus. - на 14-52%. На штучному поживному середовищі проростання пилкових зерен незначне.

К.П. Глазунова [3] вказує на те, що ступінь фертильності пилкових зерен східноєвропейських видів *Alchemilla* залежить від висотної і широтної зональності. В одних і тих же умовах можуть зростати види, що мають різну ступінь фертильності пилкових зерен.

G. Böös [6-8] досліджуючи південно-американські види *A. orbiculata* Ruiz. et Pav і *A. vulcanica* Cham. et Sohl. зробив висновок, що види партеногенетичні. Запліднення не відбувалося.

Н. Hjelmquist [10] досліджуючи *A. argyrophylla* Oliv., *A. elgonensis* Mildbr., *A. johnstonii* Oliv. відмічає, що вони партеногенетичні. Ендосперм розвивається із ядра центральної клітини. Спочатку відбувається розвиток ендосперму, далі розвивається зародок, а це свідчить про статевість виду. Африканським видам притаманний менший зв'язок з апоміксічним способом репродукції, ніж північноєвропейським.

Дослідження К.П. Глазунової [1, 3] таких видів як *A. baltica* G. sam. ex Juz., *A. heptagona* Juz. показали, що їм притаманне статеве відтворення, для *A. glaucescens* – статеве відтворення і псевдогамія, у *A. filicaulis* виявлена псевдогамія.

Р. Ismailow [12], вивчаючи види *Alchemilla*, що зростають в Карпатському регіоні на території

Польщі виявила у всіх досліджуваних видів (*A. aculimarina* Pawl., *A. babigorensis* Pawl., *A. eugenii* Pawl., *A. firma* Pawl., *A. fissa* Gunth et Schumn., *A. giewontica* Pawl., *A. gorcensis* Pawl., *A. incisa* Buser., *A. jasiewiczii* Pawl., *A. pseudothmari* Pawl., *A. sericoneuroides* Pawl.) автономний партеногенез і одночасно вказує про наявність нуцелярної адвентивної ембріонії.

S. Murbeck [13, 14] вперше вказує на апоміксис та адвентивну нуцелярну ембріонію.

Аналізуючи спосіб репродукції слід відзначити про агамність видів роду *Alchemilla*, незважаючи на наявність тетрад мегаспор та нормальних зародкових мішків, які з часом дегенерують [1, 3, 5, 6-8, 10, 11, 13-15].

Згідно наших досліджень спочатку розвивається зародок, тим самим стимулює розвиток ендосперма, що є ознакою агамності виду. Р. Ismailow [12] вказує на автономний партеногенез Карпатських видів *Alchemilla* на території Польщі, що узгоджується з нашими результатами.

Висновки

1. Дослідження розвитку чоловічого гаметофіту вказує на значний поліморфізм пилкових зерен спричинений аномаліями в процесі мейозу при мікроспорогенезі і є чинником високої ступені їх стерильності.

2. У *Alchemilla deylii* багатоклітинний жіночий археспорій. Спорогенний комплекс дво-три ярусний. Розвиваються диплоїдні апоспоричні та значно рідше диплоспоричні зародкові мішки.

3. Зародок розвивається партеногенетично з яйцеклітини без запліднення. ендосперм утворюється автономно без потрійного злиття. Розвиток зародка передують утворенню ендосперма. Для *A. deylii* характерний гаметофітний апоміксис: апоспорія – партеногенез, можлива диплоспорія – партеногенез.

1. Глазунова К.П. Мікроспорогенез *Alchemilla glaucences* Wallr. // Вестн. МГУ. Сер. 16. Биология. – 1981. – 4. – с. 31-35.
2. Глазунова К.П., Пермяков А. И. Об особенностях пыльцы некоторых видов рода *Alchemilla* L. В связи с апомиксисом // Науч. докл. высшей школы. Биол. науки. – 1980. – 5. – С. 54-59.
3. Глазунова К.П. Апомиксис у восточноєвропейских представителей рода *Alchemilla* L.: Автореф. дисс. ...к-та биол. наук.- М., 1983. - 17 с.
4. Кордюм Е. Л. Эволюционная цитоембриология покрытосеменных растений. – К.: Наук. думка, 1978. – 220 с.
5. Мандрик В. Ю. Особенности семенной репродукции видов сем. Rosaceae в природных популяциях (на примере флоры Карпат): Автореф. дисс. ...д-ра биол. наук.- Л., 1990. - 48 с.
6. Böös G. Über Partenogenesis in der Gruppe *Aphanes* der Gattung *Alchemilla* nebst einiger in Zusammenhang damit stehenden Fragen // Lunds. univ. Arsskr. / - 1917/ - 13, N 4. - P. 1-37.
7. Böös G. Neue embryologische Studien über *Alchemilla arvensis* (L.) Scop. // Ibid. – 1924. - P. 209-250.
8. Böös G. Der experimentelle Nachweis der Partenogenesis in der Gruppe *Aphanes* der Gattung *Alchemilla* // Bot. Notis. – 1920. - P. 145-150.
9. Davis G. Z. Systematic embryology of the Angiosperms. – New York: Wiley, 1966. – 528 p.
10. Hjelmquist H. The embryology of African *Alchemilla* species // Bot. Notis. – 1956. – 109, N 1. - P. 21-32.
11. Hjelmquist H. Studien über Embryologie und Variabilität bei einigen *Aphanes*-Arten // Ibid. – 1959. – 112, № 1. – P. 17-64.
12. Ismailow R. Cyto-embryological studies on *Alchemilla* L. /Species Calycinae Buser/. 1. Microsporangium and microsporangogenesis // Ibid. – 1984. - 26. - P. 1-17.
13. Mürbeck S. Partenogenetische Embryobildung in der Gattung *Alchemilla* // Lunds. univ. Arsskr. – 1901a. – 36, N 7. - S. 1-41.
14. Mürbeck S. Das Verhalten des Polenschlauches bei *Alchemilla arvensis* (L.) Scop. und das Wesen der Chalasogamie // Ibid. – 1901b. – 36, № 9. – P. 1-18.
15. Mürbeck S. Anomalien in Baue des Nucells und des Embryosackes bei partenogenetischen Arten der Gattung *Alchemilla* // Ibid. – 1902, № 2. – P. 1-10.
16. Strasburger E. Die Apogamie der *Eualchemillen* und allgemeinen Gesichtspunkte, die sich aus ihr ergeben // Jahrb. Wiss. Bot. – 1905. – 41. – P. 88-164.

Отримано: 10 жовтня 2007 р.

Прийнято до друку: 12 травня 2008 р.