

УДК 581.3582

РОЗВИТОК ЧОЛОВІЧИХ РЕПРОДУКТИВНИХ СТРУКТУР У *FRAGARIA VIRIDIS* DUCH.

Гасинець Я. С.

Розвиток чоловічих репродуктивних структур у *Fragaria viridis* Duch. — Я. С. Гасинець. — Досліджено розвиток чоловічих репродуктивних структур у популяціях *Fragaria viridis* Duch., що зростають в околицях м. Ужгорода та с. Оноківці. Мікроспорогенез в основному проходить без відхилень, проте в окремих гніздах пиляків спостерігаються аномалії при мейозі, які призводять до утворення незначної кількості стерильних пилкових зерен. У популяції *F. viridis* з Оноківців близько 89% пилкових зерен є морфологічно нормальними (фертильними), тоді як у популяції з Ужгорода цей показник становить 82%. Пилкові зерна обох популяцій *F. viridis* на штучному поживному середовищі проростають краще при концентрації глюкози 15%.

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

Development of male reproductive structures in *Fragaria viridis* Duch. — Ya. Hasynets. — Development of male reproductive structures has been studied on the populations *Fragaria viridis* Duch., that grows on the outskirts of the city Uzhhorod and the village Onokivci. The process of microsporogenesis mainly happens without deviations, however in the separate locules of anthers anomalies occur at meiosis, which result in formation of insignificant quantity of sterile pollen grains. In populations of *F. viridis* from Onokivci about 89% pollen grains are morphologically normal (fertiliti), while in populations from Uzhhorod this index is 82%. The pollen grains of both populations of *F. viridis* on an artificial nourishing medium germinate better with the 15% concentration of glucose.

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

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

Вступ

Рід *Fragaria* L. належить до підродини *Rosoideae*. З восьми дикорослих видів *Fragaria*, поширених у Європі й Північній Америці, в Україні зустрічається чотири, а саме: *Fragaria vesca* L., *F. moschata* (Duch.) Weston, *F. viridis* Duch., *F. campestris* Stev. [13]. Найбільш поширеними дикорослими видами в умовах Українських Карпат є *F. vesca* та *F. viridis*.

Ембріологію *F. viridis*, на відміну від *F. vesca* [2, 6], раніше майже не вивчали. Посилання на даний вид здебільшого знаходимо в працях [10–12, 17], які пов'язані з генетико-селекційними роботами.

F. viridis широко використовується як вихідний матеріал для підбору батьківських пар при міжвидовому схрещуванні в межах роду *Fragaria* та є цінною у господарському значенні рослиною.

Карпатські популяції *F. viridis* не досліджені, а ембріологічні відомості відсутні. Тому завданням нашої роботи було вивчити мікроспорогенез та формування пилкових зерен у *F. viridis* в умовах Закарпаття.

Матеріал та методи досліджень

Об'єкт дослідження – *Fragaria viridis*. Матеріал був зібраний у двох популяціях передгірної зони Закарпатської області в діапазонах висот 140–300 м н.р.м.

Темпоральну фіксацію проводили від початку закладання пуп'янків до завершення цвітіння і початкових стадій утворення насіння. Фіксатором була хромово-формалінова суміш за Навашиним (10:4:1) [7, 8]. Препарати фарбували гематоксиліном за Гейденгайном, підфарбовуючи цитоплазму еритрозином.

Для встановлення стерильності пилкових зерен використовувалась ацетокармінова методика [14].

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 та їх обговорення

В субепідермальному шарі пиляків *F. viridis*, у зоні майбутніх мікроспорангіїв, закладається від трьох до п'яти первинних археспоріальних клітин, які на відміну від інших соматичних клітин пиляка, характеризуються більшими розмірами, щільністю цитоплазми та величиною ядер.

У результаті тангентального поділу первинних археспоріальних клітин утворюються зовнішній парієтальний шар, що розміщується ближче до епідерми, і внутрішній – вторинний археспорій. Парієтальний шар внаслідок подальшого тангентального поділу дає початок зовнішньому – середньому шару та внутрішньому – тапетуму. Середній шар, поділяючись, утворює два шари: зовнішній – ендотецій та внутрішній – середній.

Отже, стінка мікроспорангія в *F. viridis* формується у відцентровому напрямі та складається з таких шарів клітин: епідерми, ендотецію, двох середніх шарів і тапетуму.

Зовнішній тапетум є похідним парієтального шару, на відміну від внутрішнього, який утворюється з паренхімних клітин пиляка. Таким чином, розвиток стінки пиляка відбувається за типом дводольних [16].

Сформована стінка мікроспорангія, який функціонує до початку мікроспорогенезу вкрита епідермою. Під епідермою розташований ендотецій. Диференціація клітин ендотецію призводить до утворення фіброзного шару. Середні шари ефемерні і до часу дозрівання пилоквіткових зерен повністю дегенерують.

Тапетум секреторного типу, його клітини – двота багатоядерні. Найбільшої функціональної активності тапетум набуває в період поліплоїдності його

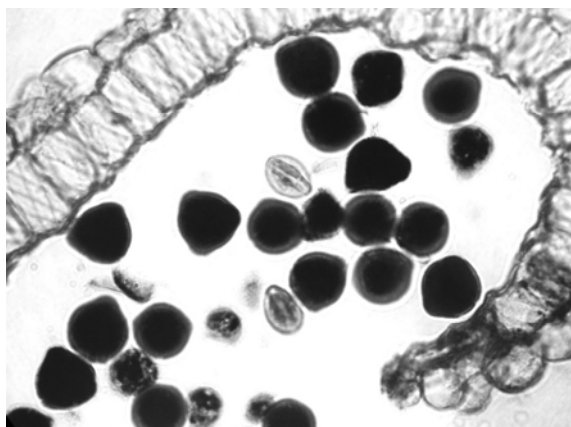


Рис. 1. *Fragaria viridis* L. Фертильні та стерильні пилкові зерна (40×16)

Наші дослідження свідчать, що фертильність пилоквіткових зерен знаходиться в корелятивній залежності від їх діаметра (табл. 1, 2). Так, у популяції *F. viridis* з Ужгорода близько 82% пилоквіткових зерен мають середній показник діаметра $16,77 \pm 0,64$ мкм, що вважається для даного виду нормою і такі пилкові зерна фертильні. Тільки 18% мають діаметр, середнє арифметичне яких для гігантського пилку становить $23,49 \pm 1,33$ мкм, для карликового – екваторіальний діаметр – $12,40 \pm 0,68$ мкм, полярна вісь – $19,48 \pm 1,30$ мкм (табл. 1, 2). Вони дають негативну реакцію на ацетокармін, припиняють подальший розвиток і відносяться до абортівних пилоквіткових зерен.

У *F. viridis* з Оноківців виявлено біля 89% морфологічно нормальних пилоквіткових зерен (табл. 1).

клітин. Дегенерація тапетуму починається в кінці формування тетрад мікроспор і повністю завершується на стадії двоклітинного пилоквіткового зерна.

Клітини вторинного археспорію внаслідок міотичних поділів формують спорогенний комплекс. Після припинення мітозів спорогенні клітини трансформуються в мікроспороцити (материнські клітини мікроспор) і вступають у мейоз. Мікроспорогенез відбувається за симультанним типом. Мейоз у межах одного мікроспорангія здійснюється асинхронно.

В статевому виді *F. viridis* мейоз при мікроспорогенезі здійснюється в основному без особливих відхилень від норми. Формуються тетради мікроспор та розвиваються фертильні пилоквіткові зерна (рис. 1, 2). Чоловічий гаметофіт двоклітинний – поділ генеративної клітини здійснюється в пилоквітковій трубці.

Поряд з нормальним ходом мікроспорогенезу, в окремих гніздах пиляків, спостерігаються відхилення, які проявляються в утворенні унівалентів та нерівномірному розходженні їх до полюсів в анафазі першого поділу мейозу. Внаслідок таких аномалій виникають ядра з незбалансованим числом хромосом. У результаті поруч із морфологічно нормальними пилоквітковими зернами утворюються карликові і гігантські (рис. 1, 2).

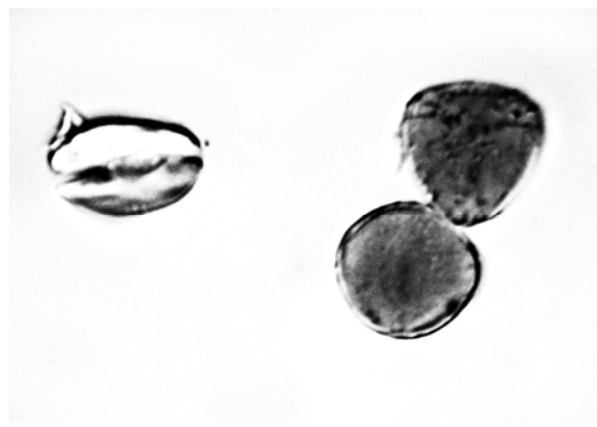


Рис. 2. *Fragaria viridis* L. Фертильні та стерильні пилкові зерна (40×16)

Таким чином, у популяції *F. viridis* з Ужгорода спостерігалась більша кількість поліморфних і стерильних пилоквіткових зерен – до 18%, в той час як у популяції з Оноківців цей показник сягав 11%. Дегенеративні процеси в окремих особин протікають і при мікроспорогенезі.

Проростання пилоквіткових зерен на штучному поживному середовищі, при концентрації глюкози 15% та 20%, краще проходить при 15% в обох популяціях *F. viridis* (табл. 1, рис. 3, 4). Так, у популяції з Ужгорода на штучному поживному середовищі при концентрації глюкози 15% життєздатними виявилось 48,9% із 82,5% морфологічно нормальних пилоквіткових зерен, а у популяції з Оноківців – 53,5% із 88,6%.

Середня арифметична довжини пилкової трубки в популяції з Оноківців більша при концентрації глюкози 15% і дорівнює 103,65 мкм, а в популяції з Ужгорода при 20% концентрації і становить 73,77

мкм, хоча пилкові зерна останньої проростають краще при 15% концентрації глюкози на штучному поживному середовищі (рис. 3, 4).

Таблиця 1. Морфологічно нормальні та життєздатні пилкові зерна у *Fragaria viridis* L.

Назва виду	Місце-зростання	Концентрація глюкози, %	Типи пилкових зерен	
			Морфологічно нормальні (фертильні)	Життєздатні (пророслі)
<i>Fragaria viridis</i> L.	Ужгород	15	82,5	48,9
		20	82,2	39,3
	Оноківці	15	88,6	53,5
		20	89,9	45,9

Таблиця 2. Середнє арифметичне діаметра пилку в *Fragaria viridis* L. (мкм)

Назва виду	Місце-зростання	Нормальні пилкові зерна	Аномальні пилкові зерна		
			Гігантські пилкові зерна	Карликові пилкові зерна	
				Екваторіальний діаметр	Полярна вісь
<i>Fragaria viridis</i> L.	Ужгород	16,77±0,64	23,49±1,33	12,40±0,68	19,48±1,30
	Оноківці	16,37±0,66	23,61±0,83	11,92±0,19	21,97±0,80



Рис. 3. *Fragaria viridis* L. Проростання життєздатних пилкових зерен на поживному середовищі з концентрацією глюкози 15% (40×16)



Рис. 4. *Fragaria viridis* L. Проростання життєздатних пилкових зерен на поживному середовищі з концентрацією глюкози 20% (40×16)

Аналіз результатів досліджень *F. viridis* свідчить про досить великий відсоток морфологічно нормальних (фертильних) пилкових зерен у популяціях з Ужгорода (~ 82 %) та Оноківців (~ 89 %). Ці дані підтверджуються Мандрик В.Ю. і Костак Г.І. [6], які досліджували карпатські популяції *F. vesca* та вказували на утворення однорідного фертильного пилку в гніздах пиляків, який добре проростає на приймочках маточок.

С.С. Хохлов та ін. [14] вказували на те, що у видів у природі завжди присутній певний відсоток дефектних – стерильних пилкових зерен. П.Г. Купріянов, В.Г. Жолобова [3] встановили відсоткову межу дефектності – 11%. До цієї межі стерильність пилкових зерен для статевих видів слід вважати нормою.

Р.Е. Bauer [15], Н. Kihara [17], С.Ф. Rudloff [18], Л.А. Лукіна [4, 5] вказують на те, що утворення унівалентів у *Fragaria* є наслідком гібридизації. Так, для

міжвидових гібридів *F. vesca* × *F. ananassa* Duch. різної плоідності, за даними Л.А. Лукіної [5], мейоз відбувається з великими порушеннями, що проявляються в зменшенні числа бівалентів, у появі уні- та полівалентів і нерівномірному розходженні їх до полюсів. Автор вказує, що вивчення мейозу в ряду віддалених гібридів має істотне значення для встановлення філогенетичних зв'язків і шляхів формоутворення в роду *Fragaria*.

Згідно наших досліджень, поряд з нормальним ходом мікроспорогенезу в окремих гніздах пиляків у двох популяціях *F. viridis*, мейоз супроводжувався аномаліями: утворенням унівалентів у профазі першого поділу мейозу та нерівномірним розходженням хромосом до полюсів в анафазі I, що призводило до утворення макро- і мікроядер з незбалансованою кількістю хромосом, поліад, величезних і карликових пилкових зерен. Такий пилко є стерильним, причому більша кількість гнізд пиляків з поліморфним пил-

ком виявлена в популяції з Ужгорода, в той час як у популяції з Оноківців відсоток стерильності пилоквих зерен був у межах норми.

С.С. Хохлов та ін. [14] відмічають, що рід *Fragaria* у цілому належить до апоміктичних родів родини *Rosaceae*.

Д.Ф. Петров та ін. [9] вказують на можливість апоміксису для *Fragaria orientalis* Losinsk.

По відношенню до ступеня фертильності пилоквих зерен досліджуваній нами вид *F. viridis* можна віднести до видів для яких характерний статевий спосіб репродукції.

Висновки

1. Стінка пиляка у *F. viridis* формується за типом дводольних. Тип тапетума секреторний. Утворення мікроспор проходить в основному без відхилень. В окремих гніздах пиляків спостерігаються аномалії при мейозі, що проявляються в утворенні унівалентів, які в анафазі I нерівномірно розходяться до полюсів. Наслідком цих аномалій є утворення поліад – мікроспор, що містять мікрота макроядра з незбалансованою кількістю хромосом, що призводить до зниження кількості морфо-

логічно нормальних та утворення нежиттєздатних (дефектних) пилоквих зерен.

2. У популяції *F. viridis* з Оноківців близько 89% пилоквих зерен є морфологічно нормальними (фертильними), тоді як у популяції з Ужгорода – 82%. Відповідно ступінь стерильності пилоквих зерен у популяції *F. viridis* з Оноківців становить 11%, що допустимо для статевих видів. Одночасно, в популяції *F. viridis* з Ужгорода стерильність пилоквих зерен сягає 18%, що, очевидно, можна розглядати як певне відхилення від норми характерної для популяцій статевих видів.

3. Пилкові зерна обох популяцій *F. viridis* на штучному поживному середовищі проростають краще при концентрації глюкози 15%. У популяції з Ужгорода при концентрації глюкози 15 % життєздатними виявилось 48,9% із 82,5% морфологічно нормальних пилоквих зерен, а у популяції з Оноківців – 53,5% із 88,6%.

4. Для *F. viridis* характерний статевий спосіб розмноження, в той час як по відношенню до фертильності пилоквих зерен популяції варіабельні.

1. Колде Я.К. Практикум по теории вероятностей и математической статистики. – М.: Высшая шк., 1991. – 157 с.
2. Крич Х.Л. Особенности насінневої репродукції у деяких видів триби Potentilleae (Rosaceae) в умовах Українських Карпат // Природні екосистеми Карпат в умовах посиленого антропогенного впливу: Матеріали Міжнародної науково-практичної школи для молодих вчених та спеціалістів (Ужгород – 4–7 жовтня). – Серія біологія. – 2001. – № 9. – С. 216–218.
3. Куприянов П.Г., Жолобова В.Г. Уточнение понятий нормальная и дефектная пыльца в антморфологическом методе // Апомиксис и цитозембриология растений. – Саратов. – 1975. – С. 47–52.
4. Лукина Л.А. Цитологическое изучение экспериментально полученных полиплоидных форм *Fragaria* // Цитология и генетика культурных растений. – Новосибирск. – 1972. – С. 178–185.
5. Лукина Л.А. Изучение мейоза у некоторых межвидовых гибридов *Fragaria* // Цитология и генетика культурных растений. – Новосибирск. – 1972. – С. 186–197.
6. Мандрик В.Ю., Костак Г.І. Ембріологічне дослідження *Fragaria vesca* L. (Rosaceae) // Укр. ботан. журн. – 1980. – Т. 36, № 1. – С. 26–31.
7. Наумов Н.А., Козлов В.Е. Основы ботанической микротехники. – М.: Сов. наука, 1954. – 307 с.
8. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. – М.: Колос, 1974. – 288 с.
9. Петров Д.Ф., Санкин Л.С., Сухарева Н.Б., Лукина Л.А. О редуцированной псевдогамии у автополиплоидной восточной земляники. – В кн.: Проблемы апомиксиса у растений и животных. – Новосибирск: Наука, 1973. – С. 88–95.
10. Сухарева Н.Б. Элементы апомиксиса у земляники // Апомиксис и селекция. – М. – 1970. – С. 116–120.
11. Сухарева Н.Б. Об апомиксисе у земляники // Апомиксис и его значение для эволюции и селекции. – Новосибирск. – 1976. – С. 152–164.
12. Сухарева Н.Б. Значение нередукции гамет у *Fragaria* // Апомиксис у растений и животных. – Новосибирск. – 1978. – С. 118–128.
13. Флора УРСР. – К.: Вид-во АН УРСР, 1954. – Т. 6. – 301 с.
14. 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.
15. Bauer R.E. Grundlagen und Methoden der Züchtung bei Gartenerdbeere (*Fragaria ananassa* Duch.) // Zeitschr. Pflanzenzücht. – 1961. – 44, № 1. – P. 73–100.
16. Davis G.Z. Systematic embryology of the Angiosperms. – New York: Wiley, 1966. – 528 p.
17. Kihara H. Kariologische Studien an *Fragaria* mit besonderer Berücksichtigung der Geschlechts chromosomen // Cytologia. – 1930. – 1, № 4. – P. 345–357.
18. Rudloff C.F. Entwicklungsphysiologische Studien in der Gattung *Fragaria* L. // Planta. – 1930. – 3. – P. 79–100.

Отримано: 17 грудня 2010 р.

Прийнято до друку: 25 січня 2011 р.