

УЖГОРОДСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На прееах рукопису

КОЛЕСНИК Олег Борисович

**ЕМБРІОЛОГІЯ ВИДІВ ТРИБИ SANGUISORBEAE
(ROSACEAE)**

03.00.01.-ботаніка

Автореферат

*дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук*

Ужгород-1996

Дисертацією є рукопис

Робота виконана на кафедрі ботаніки Ужгородського державного університету

Науковий керівник: доктор біологічних наук, професор
В.Ю.Мандрик

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор
Є.Л.Кордюм

кандидат біологічних наук, доцент
М.М.Барна

Провідна установа: Інститут клітинної біології та
генетичної інженерії НАН України

Захист відбудеться "31" травня 1996 року о 11 год. на засіданні спеціалізованої ради К. 15.01.01 по присудженню наукового ступеня кандидата біологічних наук в Ужгородському державному університеті за адресою: м. Ужгород, вул. Волошина, 54.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотечі Ужгородського державного університету (м. Ужгород, вул. Капітульна, 9)

Автореферат розіслано "27" вересня 1996 року.

Вчений секретар
спеціалізованої ради, кандидат
біологічних наук

П.І.Голінка

ЛННБ України ім.В.Стефаніка



00751612 (M)

Голінка

ВСТУП

Актуальність теми. Вивчення розвитку та функціонування репродуктивних структур, що зобумовлюють утворення насіння і насінну продуктивність видів в цілому, має значення для встановлення статевого чи апоміктичного способу репродукції, для збереження дикорослих видів у місцевому генофонді та використання їх у генетико-селекційних роботах.

Триба *Sanguisorbeae* об'єднує у своєму складі представників з різними способами репродукції: амфіміктів, факультативних та облигатних апоміктів. Зустрічаються різні форми апоміксису: апоспорія-партеногенез, диплоспорія-партеногенез та адвентивна ембріонія. В межах родини *Rosaceae* триба *Sanguisorbeae* в ембріологічному плані малодосліджена /Schnarf, 1929; Поддубная-Арнольди, 1982/.

Роди *Agrimonia* L., *Sanguisorbeae* L. та *Poterium* L. майже не вивчалися. Літературні відомості, що торкаються інших родів, мають фрагментарний характер і висвітлюють тільки певні етапи біології розмноження /Schnarf, 1929, 1931; Nordborg, 1963, 1967, 1969; Phelouzat, 1965/.

Дослідженню ембріології роду *Alchemilla* L., в зв'язку з наявністю апоміктичного способу репродукції, приділялася значна увага, але переважна більшість праць присвячена вивченню функціонування археспоріального комплексу та способів утворення зародкового мішка /Murbeck, 1901 a,b, 1902; Strasburger, 1905; Böss, 1917, 1920, 1924; Hjelmquist, 1956, 1959; Rutishauser, 1976; Мандрик, 1976; Глазунова, 1977, 1978, 1983, 1986; Izmailow, 1984, 1986, 1994/, в той час як диференціація і функціонування чоловічої генеративної сфери, розвиток ендосперма та зародка вивчені недостатньо.

При дослідженні насінної репродукції важливим є комплексний підхід до питання розвитку і функціонування чоловічих та жіночих генеративних структур, шляхів утворення ендосперма та зародка як в онтогенетичному і філогенетичному аспектах, так і в питаннях прикладного характеру - використання даних ембріологічних досліджень для генетико-селекційних робіт.

Мета і завдання дослідження. Метою роботи було вивчити ембріональні процеси у видів триби *Sanguisorbeae* та з'ясувати особливості насінного розмноження - статевого відтворення або апоміктичного способу репродукції.

ЛНБ ім. В. Стефаника
АН України

Для досягнення поставленої мети до завдань роботи входило:

1. Вивчити мікроспорогенез та з'ясувати причини, що призводять до утворення стерильних і дефектних пилкових зерен.
2. Дослідити диференціацію і функціонування багатоклітинного археспорія та соматичних клітин нуцелуса. Встановити їх родову специфіку, в залежності від способів розвитку зародкових мішків - еуспорії, диплоспорії, апоспорії.
3. З'ясувати особливості репродукції, пов'язані із статевим відтворенням, та встановити наявні форми апоміксису.
4. Визначити тип розвитку зародка та проаналізувати функціонування зв'язаної системи "ендосперм-зародок" у статевих та апоміктичних видів.

Наукова новизна роботи. Вперше вивчено ембріологію *Agrimonia eupatoria* L. та *Poterium sanguisorba* L.. Отримані нові дані щодо розвитку та функціонування репродуктивних структур у *Sanguisorba officinalis* L. та *Alchemilla monticola* Opiz. Встановлені критичні етапи мікроспорогенезу і розвитку чоловічого гаметофіта та причини стерилізації пилкових зерен.

З'ясовано деякі спірні питання, що торкаються розвитку і функціонування багатоклітинного жіночого археспорія та соматичних клітин нуцелуса в зв'язку із формою апоміксиса.

Вперше було досліджено розвиток зародка за типом *Solanad* var. *Nicotiana* для представників триби *Sanguisorbeae*.

Дана порівняльно-ембріологічна характеристика видів триби *Sanguisorbeae* у зв'язку з особливостями насінної репродукції.

Практичне значення і реалізація результатів роботи. Одержані дані про особливості репродукції у видів триби *Sanguisorbeae* та ступені фертильності пилкових зерен можуть бути використані при проведенні генетико-селекційних робіт, з метою введення дикорослих лікарських видів в культуру, а також для відновлення їх природних популяцій та збереження в місцевому генофонді.

Отримані результати можуть бути застосовані при уточненні систематики та філогенії триби *Sanguisorbeae*.

Апробація роботи. Основні положення дисертації доповідалися на: XXX Міжнародній науковій студенській конференції (Новосибирськ, 1992), науково-практичній конференції молодих вчених та спеціалістів (Нижні Ворота, 1993), конференції "Актуальні питання сучасної ботаніки" (Ялта, 1993), міжнародних конференціях,

присвячених вивченню онтогенезу видів природних та культурних флор (Київ, 1993, 1994), конференціях Ужгородського держуніверситету (Ужгород, 1994, 1995, 1996), на Міжнародно-регіональній конференції "Стійкий розвиток сільського господарства та збереження біорізноманіття" (Ужгород, 1996).

Публікації. За матеріалами досліджень опубліковано 10 наукових праць (2 статті, 2 матеріали конференції, 6 тез наукових доповідей).

Конкретна особиста участь автора в отриманні наукових результатів. Усі наукові результати одержані особисто автором при безпосередній його участі у зборі і обробці матеріалу. Наукові положення, що виносяться на захист, отримані здобувачем самостійно.

Об'єм і структура роботи. Дисертація складається із вступу, 5 розділів, висновків (139 сторінок основного тексту), списку використаної літератури (89 джерел, із них 44 іноземних). Праця ілюстрована 2 таблицями, 65 малюнками.

Основні положення, які виносяться на захист:

1. Розгорнута ембріологічна характеристика послідовних етапів репродуктивного розвитку деяких видів родів триби Sanguisorbeae.

2. В процесі розвитку гнізд пиляків виникають критичні етапи, що супроводжуються аномаліями в мікроспорогенезі та розвитку чоловічого гаметофіта і охоплюють премейотичний, мейотичний та постмейотичний періоди розвитку пиляків.

3. Особливості диференціації та функціонування багатоклітинного археспорія і його похідних у видів триби Sanguisorbeae, обумовлені місцеположенням первинних археспоріальних клітин у нуцелусі, а згодом спорогенних клітин в межах спорогенного комплексу.

4. Насінне розмноження видів триби Sanguisorbeae відбувається шляхом статевого відтворення та апоміктичного способу репродукції. Аспоспорія-партеногенез є домінуючою формою апоміксиса. Утворення аспоспоричних зародкових мішків є специфікою гаметофітного апоміксиса таксонів триби Sanguisorbeae. Аспоспорія тісно пов'язана з дегенерацією мегаспороцитів, їх похідних та спорогенного комплексу в цілому, що розглядається як явище сприятливе для розвитку аспоспоричних зародкових мішків.

5. У деяких видів триби *Sanguisorbeae*, поряд з розвитком зародка за типом *Asterad* var. *Geum*, спостерігається тип *Solanad* var *Nicotiana*.

Розділ 1.

МАТЕРІАЛИ, МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ТЕРМІНОЛОГІЯ

Вихідний матеріал: Для цитоембріологічного дослідження було обрано по одному виду з чотирьох родів триби *Sanguisorbeae*, що природно зростають на території Закарпатської області:

1. *Agrimonia eupatoria* L.
2. *Sanguisorba officinalis* L.
3. *Poterium sanguisorba* L.
4. *Alchemilla monticola* Opiz.

Для дослідів, пов'язаних з ізоляцією кастрованих квіток у *A.eupatoria*, досліджувані особини висаджувалися на дослідних ділянках поблизу с.Цеглівка.

Методика: Для цитоембріологічних досліджень матеріал фіксували на різних стадіях розвитку від закладання квіткових примордіїв, до утворення стиглого насіння. Матеріал фіксували хроматоформаліновою сумішшю за Навашиним (10:4:1) та алкогольацетоформаліновим за Чемберленом (90:5:5) /Паушева, 1974, 1980/. Подальша обробка здійснювалася за загальноприйнятою ембріологічною методикою. Товщина мікротомних зрізів складала 5-15 мікрон, в залежності від фази розвитку. Препарати фарбували залізним гематоксиліном за Гейденгаймом з підфарбовуванням цитоплазми 0.5% розчином еозину /Паушева, 1980/, та галлоціанінхромовими квасцями за Ейнарсоном /Пирс, 1962/.

Фертильність пилкових зерен визначали шляхом пророщування на поживному середовищі з додаванням сахарози у концентрації 5, 10, 20%. Пророслі пилкові зерна фарбували ацетокарміном з підфарбовуванням світлим зеленим 2Ж.

Для визначення морфологічної дефектності пилкових зерен застосували ацетокармінову методику /Хохлов, Зайцева, Купріянов, 1978/.

Кастрацію квітів проводили за одну-три доби до розкриття бутонів. Видаляли верхівкові бутони суцвіть, а також квітки, що розкрилися. Кастровані квіти ізолювали за допомогою целофанової плівки. Фіксацію квітів здійснювали через 15 днів після кастрації.

Отримані цифрові дані опрацьовані статистично, згідно загальноприйнятих методик /Лакін, 1990; Колде, 1991/.

Малюнки виконані за допомогою мікроскопу CARL ZEISS-JENA та рисувального апарату PA-3.

Термінологія: В розділі дається тлумачення основних термінів і понять, що використовуються у роботі.

Розділ 2 РОЗВИТОК ТА ФУНКЦІОНУВАННЯ ЧОЛОВІЧИХ ГЕНЕРАТИВНИХ СТРУКТУР

Квіти *Agrimonia eupatoria*, *Sanguisorba officinalis* та *Alchemilla monticola* - двостатеві. У *Poterium sanguisorba*, в межах одного суцвіття, розвиваються як двостатеві, так і одностатеві жіночі та чоловічі квіти.

У всіх видів триби *Sanguisorbeae* пиляк чотиригніздий, гнізда з'єднані попарно в дві теки. У субепідермальному шарі майбутнього гнізда пиляка закладається первинний археспорій, який на поперечному зрізі має 3-5 клітин.

Первинні археспоріальні клітини, внаслідок периклінальних поділів, дають початок вторинним археспоріальним (спорогенним) та первинним паріетальним клітинам. Первинні паріетальні клітини, поділяючись периклінально, утворюють тапетум та вторинний паріетальний шар. Вторинний паріетальний шар ділиться периклінально, внаслідок чого виникає середній шар і ендотецій. Середній шар поділяється на два середні шари.

Одже, стінка пиляка у видів триби *Sanguisorbeae* утворюється у відцентровому напрямі і складається із тапетума, двох середніх шарів, ендотеція та епідерми.

Поліплоїдизація клітин тапетума починається тоді, коли мікроспороцити приступають до мейозу, і полягає в тому, що клітини тапетума поділяються один раз мітотично без утворення клітинної стінки. Таким чином, клітини тапетума стають двоядерними. Дегенерація їх спостерігається на стадії відокремлення мікроспор. Протягом всього періоду своєї функціональної активності тапетум одношаровий, має клітинну будову і відноситься до секреторного типу.

Клітини вторинного археспорія деякий час мітотично діляться, що призводить до збільшення кількості клітин спорогенного комплексу.

Клітини спорогенного комплексу трансформуються у мікроспороцити, про що свідчить стадія синапсису.

Мейоз в мікроспороцитах в межах пиляків однієї квітки у всіх вивчених видів відбувається синхронно. Мікроспорогенез відбувається за симультанним типом. Чоловічий гаметофіт двоклітинний.

У статевих видів *A. eupatoria*, *S. officinalis* та *P. sanguisorba* мейоз при мікроспорогенезі здійснюється без особливих відхилень від норми. В анафазі першого поділу мейозу спостерігається правильне розходження хромосом до полюсів.

Особливістю мікроспорогенезу *A. eupatoria* є те, що у верхівкових квітках суцвіття в гніздах пиляків спорогенні клітини, не трансформуючись у мікроспороцити, дегенерують.

У *P. sanguisorba* аномалії під час мейозу не виявлені. Пиляки чоловічих квіток досягають швидше, ніж у двостатевих. Кількість дефектних пилькових зенен незначна.

У апоміктичного виду *A. monticola* спостерігається як нормальне проходження мікроспорогенезу і утворення нормальних тетрад мікроспор, так і значні відхилення. Відхилення полягають: у нерівномірному розходженні хромосом до полюсів в анафазі першого поділу мейозу, в утворенні мікро- і макроядер з незбалансованим числом хромосом, у виникненні поліад. Аномалії можуть спостерігатись і при розвитку мікроспор в чоловічий гаметофіт.

Розглядаючи хід мейозу у тісному взаємозв'язку з розвитком гнізда пиляка, можна виділити наступні критичні етапи, на яких весь подальший хід диференціації мікроспорангію може припинитись: 1) спорогенний; 2) мікроспороцитний; 3) мікроспорний; 4) гаметофітний.

У *A. eupatoria* спостерігається спорогенний та гаметофітний; для *S. officinalis* та *P. sanguisorba* частково характерний гаметофітний; для *A. monticola* у різних гніздах пиляків спостерігаються всі вищевказані критичні етапи розвитку на яких розвиток припиняється.

Кількість дефектних пилькових зерен для *A. eupatoria* в середньому складає 16,3%, при пророщуванні на поживному середовищі при 10% концентрації сахарози в перші 6 годин проростає 61,7% пилькових зерен; у *S. officinalis* відповідно 12,3 і 65,4; у *P. sanguisorba* - 14,3 і 73,6; у *A. monticola* - 68,6%, на поживному середовищі пилькові зерна не проростають.

Види триби *Sanguisorbeae*, за рівнем фертильності пилькових зерен, можна поділити на дві чіткі групи.

Перша характеризується високою фертильністю пилкових зерен і низьким ступенем варіювання цієї ознаки. До цієї групи належать види, для яких характерне виключно статеве відтворення: *A.eupatoria*, *S.officinalis*, *P.sanguisorba*. Abortивні пилкові зерна утворюються переважно внаслідок дегенеративних явищ на гаметофітній стадії розвитку у невеликій кількості.

Для другої групи властивим є утворення значної кількості abortивних пилкових зерен і висока ступінь варіювання цієї ознаки. Ця група включає види, для яких характерний апоміктичний спосіб репродукції - *A.monticola* та інші види роду *Alchemilla*. Дегенеративні явища в чоловічій генеративній сфері відбуваються на різних стадіях розвитку як в премейотичній, так і в мейотичній та постмейотичній стадіях розвитку.

Розділ 3.

ЖІНОЧІ РЕПРОДУКТИВНІ СТРУКТУРИ

Для видів триби *Sanguisorbeae* характерний апокарпний гінецей, який складається з двох (*Agrimonia eupatoria*, *Poterium sanguisorba*), або однієї (*Sanguisorba officinalis*, *Alchemilla monticola*) маточок з одним насінним зачатком. Гінецей оточений більш або менш склерифікованим гіпантієм.

Насінний зачаток красинуцелятний з одним інтегументом. У *A.eupatoria*, *S.officinalis* і *P.sanguisorba* він звислий анатропного типу, а у *A.monticola* - боковий гемітропний. Інтегумент щільно змикається, не утворюючи мікропіле.

Провідна система насінних зачатків усіх видів представлена єдиним нерозгалуженим судинним пучком, який проходить через фунікулус і доходить до гіпостазі.

Археспорій багатоклітинний. Кількість первинних археспоріальних клітин, а також подальша диференціація і функціонування їх похідних - спорогенних клітин - дуже варіює. Покривний комплекс двошаровий. Спорогенний комплекс - одно- і багатоярусний.

В межах триби *Sanguisorbeae* можна виділити три способи утворення спорогенного комплексу: 1) вторинні археспоріальні клітини стають спорогенними і безпосередньо трансформуються у мегаспороцити; 2) вторинні археспоріальні клітини, мітотично поділяючись, утворюють дво-чотиришаровий спорогенний комплекс; 3) вторинні археспоріальні клітини, за винятком центральної, діляться

мітотично на дочірні спорогенні клітини, а центральна клітина безпосередньо трансформується у мегаспороцит.

Перший спосіб утворення спорогенного комплексу дуже рідко спостерігається у *A. monticola*; другий є характерним для всіх видів триби, третій – має місце у деяких насінних зачатках *A. monticola*.

Першими до мейозу приступають центральні спорогенні клітини. Пізніше мегаспороцитами стають суміжні з ними латеральні клітини. Таким чином, трансформація спорогенних клітин в мегаспороцити здійснюється в напрямі від центру до периферії. Всі спорогенні клітини потенційно здатні трансформуватися у мегаспороцити. Кількість мегаспороцитів у *A. eupatoria*, *S. officinalis*, та *P. sanguisorba* коливається в межах від трьох до п'яти, рідко буває більше, а у *A. monticola* - від одного до п'яти, в залежності від кількості шарів клітин спорогенного комплексу.

Спостерігається певна кореляція між кількістю мегаспороцитів і способом репродукції. У видів із стійким статевим відтворенням кількість мегаспороцитів більша, ніж у апоміктів.

Мейоз здійснюється тільки в одному, рідше у двох мегаспороцитах насінного зачатка. Для всіх вивчених нами видів характерна лінійна тетрада мегаспор. У *Alchemilla monticola* зрідка спостерігаються Т-подібні тетради. Іноді утворюються дві тетради мегаспор. Друга тетрада виникає з латерального мегаспороцита.

Кількість тетрад в межах насінного зачатка у різних видів варіює: у *A. eupatoria* - одна (рідко дві); *S. officinalis* - дві (зрідка одна або три); у *P. sanguisorba* - дві (рідше одна або три); у *A. monticola* - одна (рідше дві).

У вивчених нами видів зародкові мішки моноспоричні Polygonum-типу, розвиваються із наступних мегаспор тетради: у *A. eupatoria* - з халазальної, дуже рідко з епіхалазальної; у *S. officinalis* - з халазальної, рідше з епіхалазальної, субмікропілярної або декількох одночасово; у *P. sanguisorba* - з субмікропілярної, рідше з мікропілярної; у *A. monticola* - з халазальної або епіхалазальної.

У *A. eupatoria*, *P. sanguisorba* і *A. monticola*, при наявності в межах одного насінного зачатку декількох тетрад, зародковий мішок, як правило, розвивається з мегаспори центральної тетради, а інші - дегенерують.

У *S. officinalis*, в межах одного насінного зачатку, утворюється декілька зародкових мішків з мегаспор як однієї, так і декількох тетрад, але повної диференціації досягає тільки один з них, в окремих випадках – два.

В єдиному процесі диференціації спорогенного комплексу можна виділити чотири етапи: 1) утворення первинного археспорія із апікальних субепідермальних клітин нуцелуса; 2) збільшення

кількості клітин спорогенного комплексу за рахунок мітотичних поділів клітин вторинного археспорія та його похідних; 3) трансформація спорогенних клітин в мегаспороцити; 4) мегаспорогенез.

В літературі /Hjelmquist, 1959; Rutishauser, 1967/ вказується, що при наявності багатоклітинного археспорія у апоміктів виникають труднощі при визначенні таких форм апоміксису як диплоспорія та апоспорія. Це пояснюється не завжди чіткими відміними в ознаках між спорогенними та соматичними клітинами в латеральних та халазальних зонах нуцелуса.

У видів триби *Sanguisorbeae*, для яких характерне утворення апоміктичних зародкових мішків, дуже важко провести межу між латеральними і халазальними клітинами археспорія та соматичними клітинами нуцелуса. Це призводить до певних труднощів при визначенні межі між диплоспорією та апоспорією. Перш за все це стосується видів роду *Alchemilla*.

Діагностичними критеріями для встановлення походження апоміктичних зародкових мішків – диплоспоричних чи апоспоричних є: 1) кількість закладених первинних археспоріальних клітин; 2) розташування і форма паріетальних клітин; 3) форма і розташування клітин-ініціалей апоміктичних зародкових мішків.

В основу поділу диплоспорії і апоспорії закладені також і цитологічні ознаки клітин ініціалей зародкових мішків:

- диплоспоричні ініціали представлені великими, але видовженими клітинами з вакуолізованою зернистою цитоплазмою, яка містить велике ядро. Виникають такі ініціали з спорогенних клітин;

- апоспоричні ініціали утворюються із соматичних клітин нуцелуса халазальної зони. Насамперед, вони збільшуються за розмірами, але до початку диференціації спорогенних клітин зберігають ізодіаметричну форму. Коли центральні і деякі латеральні спорогенні клітини стають мегаспороцитами, апоспоричні ініціали набувають округлої форми. Цитоплазма таких клітин щільна, зерниста, з великою вакуолею під ядром.

A. eupatoria і *S. officinalis* проявляють дуже слабу тенденцію до утворення апоміктичних зародкових мішків, а *P. sanguisorba* - виключно статевий вид.

У *A. eupatoria* рідко спостерігається утворення апоспоричних ініціалей зародкових мішків з клітин нуцелуса халазальної зони. В окремих випадках вони розвиваються до двоядерної стадії.

У *S. officinalis* диплоспоричні зародкові мішки іноді розвиваються з латеральних археспоріальних клітин, але вони досягають тільки дво- або чотириядерної стадії.

На відміну від попередніх видів, у *A. monticola* спостерігається значна тенденція до утворення диплоспоричних зародкових мішків із клітин спорогенного комплексу. Кількість таких клітин може бути від однієї до трьох. Розвиваючись, вони відтісняють гаплоїдні зародкові мішки, які дегенерують.

Аспоспоричні зародкові мішки у *A. monticola* розвиваються із соматичних клітин халазальної зони нуцелуса. Розвиток їх починається дещо пізніше за моноспоричні і диплоспоричні зародкові мішки. Кількість аспоспоричних ініціалей варіює від одної до десяти. Згодом аспоспоричні зародкові мішки витісняють спорогенний комплекс та його похідні (мегаспороцити, тетради мегаспор та гаплоїдні зародкові мішки) і сприяють їх повній дегенерації.

У апоміктичного виду *A. monticola* інтенсивний розвиток аспоспоричних ініціалей зародкових мішків здійснюється паралельно з дегенерацією клітин спорогенного комплексу і його похідних, що розглядається як явище сприятливе для аспоспорії.

Зародкові мішки у *A. monticola* бувають моноспоричні, диплоспоричні і аспоспоричні. Переважають і повністю диференціюються аспоспоричні зародкові мішки.

Розвиток диплоспоричних зародкових мішків у видів триби *Sanguisorbeae* здійснюється шляхом заміни мейоза мітозом, що відповідає типу *Antenaria*. Аспоспоричні зародкові мішки розвиваються за типом *Hieracium* /Gustafson, 1946/.

Розділ 4 НАСІННА РЕПРОДУКЦІЯ

За способом насінної репродукції види триби *Sanguisorbeae* можна поділити на статеві і агамні.

До статевих відносяться види із сталим статевим відтворенням, а також ті, які проявляють тенденцію до апоміксису, але репродукція у них здійснюється статевим шляхом. Виключно статевим видом є *Poterium sanguisorba*. Для *Agrimonia eupatoria* і *Sanguisorba officinalis* характерні елементи апоміксису, які проявляються в утворенні зародкових мішків як диплоспоричного, так і аспоспоричного походження.

До агамних - апоміктичних видів слід віднести ті види, у яких збереглися репродуктивні структури, пов'язані із статевим відтворенням, але у функціональному відношенні вони знаходяться у депресивному стані і витісняються структурами, властивими агамоспермному способу

репродукції, а саме апоміктичними зародковими мішками (диплоспорія, апоспорія). Сюди відноситься *Alchemilla monticola*.

У всіх досліджених видів диференційований зародковий мішок, як еуспоричний, так і апоміктичний - семиклітинний. Злиття полярних ядер в часі дуже варіює. Центральне ядро розташовується у мікропілярній зоні центральної клітини поблизу від яйцевого апарату.

Канал стовпчика маточки у всіх представників триби закритий. Пилкова трубка проходить через провідникову тканину та зону мікропіле, виливає свій вміст в одну з синергід, яка дегенерує. Зародковий мішок, на момент входження пилкової трубки, представлений яйцевим апаратом та центральною клітиною, антиподи на цій стадії дегенерують.

Злиття спермія з центральним ядром у статевих видів здійснюється до запліднення яйцеклітини. Процес запліднення у *A.eupatoria* та *P.sanguisorba* відбувається за премітотичним типом. Для *S.officinalis* характерний як премітотичний, так і проміжний типи запліднення.

Диференційовані зародкові мішки у *A.monticola* переважно апоспоричні. Розвиток еуспоричних зародкових мішків (з мегаспор) до початку функціонування апоспоричних ініціалей свідчить, що статеве відтворення деяких видів роду *Alchemilla* може здійснюватися епізодично.

На більш пізніх стадіях розвитку насінного зачатка еуспоричні зародкові мішки дегенерують і витісняються зародковими мішками апоспоричного походження.

У видів триби *Sanguisorbeae*, як і у інших представників родини *Rosaceae* /Czapik, 1985/, спостерігається велика варіабельність щодо поведінки полярних ядер, та способів утворення первинного ядра ендосперма.

Для *A.eupatoria* властиві три способи утворення первинного ядра ендосперма: 1) злиття спермія з центральним ядром; 2) злиття спермія з верхнім або нижнім полярним ядром; 3) одночасне - потрійне злиття спермія з полярними ядрами.

У *S.officinalis* полярні ядра майже ніколи не зливаються у центральне ядро. Спермій зливається з одним із полярних ядер або відбувається потрійне злиття.

Маточки у верхівкових - жіночих квіток суцвіття *P.sanguisorba* розвиваються скоріше ніж у середніх - двостатевих. Полярні ядра перед заплідненням контактують у мікропілярній зоні центральної клітини. Спермій зливається з верхнім або нижнім полярним ядром. Одночасне злиття спермія з полярними ядрами спостерігається рідко.

В апоспоричних зародкових мішках *A. monticola* запліднення відсутнє. Вхід пилкової трубки в зародковий мішок не спостерігався. Розвиток зародка та ендосперма ще в закритих квіткових бутонах при повній стерильності пилкових зерен дає можливість припустити, що для даного виду характерний апоміктичний спосіб репродукції. Зародки розвиваються шляхом неіндукованого партеногенезу. Полярні ядра зливаються у центральне ядро, яке функціонує як первинне ядро ендосперма і, відразу після утворення, поділяється мітотично. Факультативний індукований апоміксис (псевдогамія) у *A. monticola* нами не спостерігався.

Для *A. monticola* характерно утворення яйцеклітиноподібних синергід, які довгий час зберігають життєздатність і здатні розвиватися у зародки (апогаметія).

Аналіз способів репродукції у вивченої нами *A. monticola* та інших видів *Alchemilla* /Murbeck, 1901 a, b; Böös, 1920, 1924; Hjelmquist, 1956; Глазунова, 1983/ свідчить, що незважаючи на збереження у них характерних для статевого відтворення генеративних структур – тетрад мегаспор та еуспоричних зародкових мішків, які з часом дегенерують, види роду *Alchemilla* переважно є агамними. Про агамність *A. monticola* свідчить і утворення багатоклітинних зародків при відсутності запліднення та потрійного злиття.

Для *A. monticola* характерний гаметофітний апоміксис. Аналіз форм гаметофітного апоміксиса вказує на те, що специфічною формою апоміксису для видів роду *Alchemilla*, як і для інших представників *Rosaceae*, є апоспорія - партеногенез. Така форма апоміксису створює гетерофазний цикл репродукції рослин із зміною поколінь спорофіт – гаметофіт. Адвентивна нуцелярна ембріонія, як гомофазна, і тільки спорофітна репродукція, зустрічається у *Alchemilla monticola* дуже рідко /Izmailov, 1986, 1994; Мандрик, 1990/.

Розділ 5

РОЗВИТОК ЕНДОСПЕРМА І ЗАРОДКА

У представників триби *Sanguisorbeae* ендосперм нуклеарного типу. Ядерна фаза ендосперма у статевих видів починається з першого поділу первинного ядра ендосперма. Утворені ядра розходяться відповідно у мікропілярну та халазальну зони центральної клітини. Між ними виникає вакуоля. У видів триби *Sanguisorbeae* в халазальній зоні ендосперма утворюється ендоспермальний гаусторій. Розвиток халазального гаусторія характерний і для інших представників родини *Rosaceae* /Smith, 1963; Czepak, 1985, 1987/.

Згідно наших досліджень, у *A.eupatoria*, *S.officinalis* та *P.sanguisorba* халазальна частина центральної клітини видовжується і утворює ендоспермальний гаусторій. На наступних етапах ценоцитної стадії розвитку ендосперма синхронність поділів ядер порушується, а в халазальній зоні активність мітотичних поділів зростає. У *A.monticola* ендоспермальний гаусторій менш розвинений.

Спільним для видів триби *Sanguisorbeae* є тривала ценоцитна фаза ендосперма. Цитокінез відбувається в напрямках від периферії до центру і від мікропіле до халази. У халазальній та центральній зонах ценоцитна фаза більш тривала.

Кількість ядерць в ядрах ендосперма *A.eupatoria* варіює від одного до трьох, що, можливо, залежить від способу утворення первинного ядра ендосперма. На ценоцитній стадії розвитку ендосперма *A.eupatoria*, *S.officinalis* та *P.sanguisorba* відбувається поліплоїдизація ендоспермальних ядер, а кількість ядерць в них може зростати до семи. Найбільш інтенсивна поліплоїдизація проходить у мікропілярній зоні та у ядрах гаусторія.

Розвиток ендосперма знаходиться в корелятивній залежності від ступеня розвитку зародка. Особливо чітко це спостерігається на більш пізніх стадіях, коли зародок набуває кулеподібної форми і виникає ембріодерма. В цей період у всіх досліджених видів триби *Sanguisorbeae* ендосперм заповнює мікропілярну, халазальну та латеральні зони центральної клітини і досягає целюлярної фази розвитку. Клітини ендосперма сильно вакуолізуються.

При диференціації зародка на стадії сім'ядолей ендосперм представлений плівкою дегенеруючих клітин.

У *A.monticola* поділ яйцеклітини може передувати поділу первинного ядра ендосперма.

Ембріогенез у представників родини *Rosaceae* вивчався багатьма дослідниками /Soueges, 1922, 1923, 1935; Lebeque, 1952; Smith, 1963; Juget, Lebeque, 1965/.

У досліджених нами представників триби *Sanguisorbeae* ембріогенез здійснюється згідно ембріогенічної класифікації за R.Soueges /1939/ за типом Geum. Тип Geum належить до першого періоду ембріогенічної класифікації до серії В яка характеризується утворенням поперечної перетинки в базальній клітині і похилої в апікальній, а також утворенням епіфізи, що є характерною ознакою розвитку зародка за типом *Asterad var. Geum* згідно класифікації D.A.Johansen /1950/.

Варіація Geum полягає в тому, що похідні апікальної клітини - *ca* утворюють сім'ядолі та точку росту стебла. Базальна клітина *cb* - гіпокотиль, ініціальну клітину центрального

циліндра кореня, ініціальну клітину кори кореня, кореневий чолик і підвісок. Відповідно за формулою:

$$ca = pco + pvt$$

$$cb = phy + icc + iec + co + s$$

Диференційований зародок має дві сім'ядолі, конус наростання стебла та зачаток первинного корінця.

У деяких насінних зачатках *A.eupatoria* та *S.officinalis* поділ апікальної клітини відбувається поперечно, що характерно для типу *Solanad* /Johansen, 1950/.

Згідно типу *Solanad var. Nicotiana* поділ апікальної і базальної клітин відбувається впоперек одночасно, або поділ апікальної клітини передре поділу в базальній. Внаслідок таких поділів виникає лінійний чотиріклітинний проембріо.

Згідно до ембріогенічної класифікації зародків за *R.Soueges* /1939/, розвиток такого зародка слід віднести до п'ятого мегархитипу першого періоду класифікації зародків серії *C* підсерії *e*, який характеризується тим, що похідні апікальної клітини *ca* утворюють точку росту стебла, сім'ядолі, гіпокотиль, центральний циліндр та кору кореня. Базальна частина *cb* - приймає незначну участь в утворенні зародка, з неї виникає колеориза та підвісок. Відповідно за формулою:

$$ca = pco + pvt + phy + icc + iec$$

$$cb = co + s$$

У *A.eupatoria* зародки розвиваються переважно за типом *Asterad*; тип *Solanad* спостерігається рідко. Для *S.officinalis* характерний розвиток зародків як за *Asterad*, так і *Solanad* типом, але перший тип домінує. У *P.sanguisorba* і *A.monticola* зародки розвиваються виключно за типом *Asterad*.

У *A.monticola* зародки утворюються шляхом автономного партеногенезу. Додаткові зародки у цього виду розвиваються із синергід, що за будовою подібні до яйцеклітини. У випадку поліембріонії, частіше тільки один зародок досягає повної диференціації, а другий - дегенерує.

ВИСНОВКИ

1. Розвиток стінки пиляка у видів триби *Sanguisorbeae* відбувається за типом дводольних. Тапетум секреторний, без реорганізації. Сформована стінка пиляка складається з епідерми, ендотечія, двох середніх шарів і тапетума, мікроспорогенез відбувається за симультанним типом. Чоловічий гаметофіт двоклітинний.

2. Аномалії в ході мікроспорогенезу відбуваються в премейотичному, мейотичному та постмейотичному періодах розвитку

гнізд пиляків, що призводить до утворення стерильних пилкових зерен. Результатом таких відхилень є: а) утворення мікро- і макроядер з незбалансованим числом хромосом; б) виникнення поліад, поліморфних одноядерних та двоядерних мікроспор; в) подальший аномальний розвиток мікроспор, що призводить до стерилізації пилкових зерен. Для видів із статевим способом репродукції (*Agrimonia eupatoria*, *Sanguisorba officinalis*, *Poterium sanguisorba*) характерний незначний відсоток (14-16) стерильних пилкових зерен. У апоміктів (*Alchemilla monticola*) стерильність пилкових зерен сягає 70%.

3. Насінний зачаток у досліджених видів триби *Sanguisorbeae* анатропний (у *A. monticola* - геміатропний), красинуцелярний з одним інтегументом. Археспорій багатоклітинний, нуцелярний ковпачок масивний.

4. Місцеположення первинних археспоріальних клітин в нуцелусі, а згодом спорогенних клітин в межах спорогенного комплексу, обумовлює час їх диференціації та спосіб функціонування. Диференціація клітин в межах спорогенного комплексу відбувається від центру до периферії, у такому ж напрямі згасає і їх мейотична тенденція. Мегаспороцитами стають три- п'ять спорогенних клітин. Завершують мейоз один- два мегаспороцити. Повної диференціації досягає один зародковий мішок. Зародковий мішок *Polygonum*-типу. У *Agrimonia eupatoria* та *Alchemilla monticola* зародковий мішок розвивається із халазальної, рідше епіхалазальної, мегаспори; у *Poterium sanguisorba* - з мікропілярної або субмікропілярної; у *Sanguisorba officinalis* всі мегаспори потенційно здатні розвиватися в зародковий мішок.

5. Місцеположення клітин первинного археспорія дає можливість орієнтовно встановити межі спорогенного комплексу як в латеральній, так і в халазальній зонах нуцелуса. Визначення меж спорогенного комплексу є основою ідентифікації таких форм апоміксису, як диплоспорія і апоспорія.

6. За способом репродукції види триби *Sanguisorbeae* можна поділити на: а) види із статевим відтворенням (*P. sanguisorba*); б) статеві види з деякими елементами апоміксису (*A. eupatoria*, *S. officinalis*); в) апоміктичні види роду *Alchemilla*.

7. Елементи апоміксису проявляються: а) у вигляді виникнення ініціалей зародкових мішків диплоспоричного походження, коли зародкові мішки утворюються із спорогенних клітин шляхом випадання мейозу і повної заміни його мітозом; б) у вигляді функціонування ініціалей апоспоричних зародкових мішків, що виникають із соматичних клітин халазальної зони нуцелуса. Повної диференціації такі зародкові мішки у статевих видів не досягають.

8. Для *Alchemilla monticola* характерний автономний гаметофітний апоміксис, домінуючою формою якого є апоспорія-партеногенез, що створює повний гетерофазний цикл репродукції із зміною поколінь спорофіт - гаметофіт.

9. Ендосперм нуклеарного типу з халазальним гаусторієм. Розвиток зародка у видів триби *Sanguisorbeae* відбувається за типом *Asterad var. Geum*. Поряд з цим типом, у *Sanguisorba officinalis*, а іноді і у *Agrimonia eupatoria*, спостерігається утворення зародка за типом *Solanad var. Nicotiana*.

Список робіт, опублікованих за матеріалами дисертації:

1. Колесник О.Б. Некоторые аспекты цитозембриологии репейника лекарственного (*Agrimonia eupatoria* L.) //Материалы XXX МНСК. Биология.- Новосибирск: НГУ, 1992.- С. 46-50.

2. Колесник О.Б. До питання агротехніки вирощування парила звичайного на Закарпатті //Наукові розробки агропромислового комплексу. Тез. доп. науково-практичної конф. мол. вчених та спеціалістів.-Нижні Ворота, 1993.- С.6.

3. Колесник О.Б. К вопросу о строении семяпочки, археспория и женского гаметофита у *Agrimonia eupatoria* L. (*Rosaceae*) //Актуальні питання ботаніки і екології. Тез. доп. конф. молодих учених і спеціалістів (19-21 жовтня 1993, Ялта).- К., 1993.- С. 59.

4. Колесник О.Б. Микроспорогенез у *Agrimonia eupatoria* L. /*Rosaceae*/ //Изучение онтогенеза видов природных флор в ботанических учреждениях Евразии.- Киев, 1993.- С. 72.

5. Колесник О.Б. Будова та розвиток трихом у *Agrimonia eupatoria* L. //Вивчення онтогенезу рослин природних та культурних флор у ботанічних закладах Європи.- К., 1994.- С. 98-99.

6. Колесник О.Б. Вивчення ембріології *Agrimonia eupatoria* L. в умовах Закарпаття //Тези доп. 48-ї наук. конф. Серія біологічна.- Ужгород, 1994.- С. 19-20.

7. Колесник О.Б. Ембріологічне дослідження *Agrimonia eupatoria* L. (*Rosaceae*) //Укр. ботан. журн.- 1994.- 51, N 4.- С. 99-104.

8. Колесник О.Б. Особливості мегаспоро- та гаметогенеза деяких представників триби *Sanguisorbeae* //Тези доп. 49-ї наук. конф. Серія Біологічна.- Ужгород, 1995.- С. 45.

9. Колесник О.Б. Цитоембріологічні аспекти проблеми збереження біорізноманіття флори Карпат на прикладі представників триби

Sanguisorbeae (Rosaceae) // Стейкий розвиток сільського господарства та збереження біорізноманіття: Матеріали Міжнародно-регіональної конф. (Ужгород, 17-18 травня 1996).- Ужгород, 1996.- С. 54-59.

10. Колесник О.Б. Особливості ембріогенезу видів триби Sanguisorbeae (Rosaceae) // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Біологія.- 1996.- 3.- С. 15-16.

Kolesnik O.B. Embryology of tribe Sanguisorbeae (Rosaceae) species

Dissertation for the degree of Candidate of Biological Sciences in speciality 03.00.01 - Botany.

Uzhgorod State University, Uzhgorod, 1996.

The main stages of seed reproduction of tribe Sanguisorbeae species are described in the dissertation. Causes of sterile pollen grains formation have been established. The features of formation, structure and functioning of the sporogenic complex have been considered relative to the presence of apomixis processes. Apomixis forms have been found out, their analysis is given. The paths of endosperm and embryo formation in both sexual and apomictic tribe species have been studied.

Колесник О.Б. Эмбриология видов трибы Sanguisorbeae (Rosaceae)

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.01 - ботаника.

Ужгородский государственный университет. Ужгород, 1996.

В работе описаны основные этапы семенной репродукции видов трибы Sanguisorbeae. Установлены причины образования стерильных пыльцевых зерен. Рассмотрены особенности образования, строения и функционирования спорогенного комплекса в связи с наличием процессов апомиксиса. Выявлены формы апомиксиса и дан их анализ. Исследованы пути образования эндосперма и зародыша как у половых, так и у апомиктических видов трибы.

Ключові слова: триба Sanguisorbeae, ембріологія, апоміксис, спорогенний комплекс, диплоспорія, апоспорія, ендосперм, зародок.

AB 35.623