Г.Б. ПОПОВИЧ

Ужгородський національний університет
вул. Волошина, 32, м. Ужгород, 88000, Україна

РОЗВИТОК РЕПРОДУКТИВНИХ СТРУКТУР У ДЕЯКИХ ВИДІВ РОДУ *SPIRAEA* L. І *ARUNCUS SYLVESTRIS RAFIN.* (*SPIREOIDEAE, ROSACEAE*)

Ключові слова: насінний зачаток, археспорій, мегаспороцит, зародковий мішок, зародок, ендосперм

Вступ

Роди *Spiraea* L. та *Aruncus* Rafin. належать до родини *Rosaceae*, підродини *Spireoideae*. Порівняно з іншими підродинами — *Rosoideae, Maloideae, Prunoideae* — характеризуються примітивними мікроморфологічними ознаками, які виявляються під час розвитку репродуктивних структур.

В Українських Карпатах трапляється лише *A. sylvestris*, значно поширений у лісах Закарпатської обл. [7]. Його ембріологічні особливості не досліджені.

Aruncus sylvestris — дводомний вид. Дводомність досить звичайна як серед деревних і кущових, так і трав'яних життєвих форм *Magnoliophyta* [1]. Тому особливу увагу слід звернути на розвиток структурно одностатевих чоловічих та жіночих квіток.

Рід *Spiraea* налічує близько 40 видів, поширених у північній помірній зоні, у флорі України відзначено сім дикорослих і шість культивованих його представників. Серед декоративних рослин роду найпоширенішими у садах і парках є *S. japonica* та *S. salicifolia,* які іноді дичавіють. У дикому стані трапляються в Японії, Китаї, на Далекому Сході, в Середній Європі, в Західному і Східному Сибіру [7]. Літературні відомості щодо ембріологічних особливостей роду *Spiraea* є фрагментарними [13, 14].

Нашою метою було:

1 — з'ясувати особливості і темпи розвитку репродуктивних структур у чоловічих та жіночих квіток, дослідити формування структурно одностатевих квіток за наявності дводомності у *Aruncus sylvestris*;

2 — вивчити мікроспорогенез, життєздатність, ступінь фертильності та стерильності пилкових зерен; виявити структуру і функціонування жіночого археспорія та його похідного — спорогенного комплексу;

3 — дослідити репродуктивний процес, розвиток ендосперму та зародка.

Матеріал і методика досліджень

Об'єктами вивчення були представники S*piraeoideae* — *Aruncus sylvestris* Rafin. (Kostel. ex Maxim — 2n=14, 18), *Spiraea japonica* L. і *Spiraea salicifolia* L.

© Г.Б. ПОПОВИЧ, 2009

(2n=18–54) [9]. Матеріал для цитоембріологічного дослідження збирали на різних генеративних стадіях розвитку у 2005—2008 рр. на території Закарпатської обл. — в околицях м. Ужгород, с. Невицьке Ужгородського р-ну, м. Рахів, с. Богдан Рухівського р-ну (140—900 м над р. м.).

Фіксатором була суміш Навашина — хром : формалін : оцтова кислота (10:4:1). Препарати фарбували за Фельгеном та залізним гематоксиліном за Гейденгайном. Цитоплазму підфарбовували світлим зеленим і розчином еритрозину [4, 5].

Життєздатність пилкових зерен визначали, пророщуючи їх на штучному живильному середовищі — агар-агарі з концентрацією глюкози 10 і 15 %. Дефектність пилкових зерен вивчали за ацетокарміновою методикою [8].

Одержані кількісні дані опрацьовували статистично згідно із загальноприйнятою методикою [2]. Товщина мікротомних зрізів — 10—12 мкм. Мікрофотографії зроблені цифровою фотокамерою Olympus FE-100/X-710 (2,8 X OPTICAL ZOOM) під мікроскопом CARL ZEISS-JENA.

Результати досліджень та їх обговорення

В *A. sylvestris* квітки одностатеві, дрібні, зібрані в колосоподібні волоті, маточка складається з 3—5 плодолистків. На перших етапах органогенезу квітки первинно закладаються як чоловічі, так і жіночі генеративні органи, на ранніх етапах морфогенезу в межах квітки — як насінні зачатки, так і мікроспорангії. Отже, початок морфогенезу квітки свідчить про потенційний розвиток двостатевих квіток.

У майбутніх морфологічно чоловічих статевих квітках суцвіття водночас закладаються чоловічі і жіночі генеративні структури. Однак у подальшому у них нормально розвиваються лише мікроспорангії, а жіночі генеративні структури у вигляді нуцелуса з первинними археспоріальними клітинами або тетрадами мегаспор дегенерують на стадії двоклітинних пилкових зерен.

У структурно одностатевих жіночих квітках фіксується чоловіча стерильність. У горбочках пиляків закладаються меристематичні клітини, які диференціюються у первинні археспоріальні клітини. Чоловічі репродуктивні структури дегенерують на стадії закладання мікроспороцитів.

Для роду *Spiraea* характерні дрібні, зібрані в суцвіття двостатеві квітки, зав'язі з кількома анатропними насінними зачатками та плід — збірна листянка. У межах суцвіття закладаються насінні зачатки на різних стадіях розвитку. На початковій стадії першими диференціюються мікроспорангії. Жіночі репродуктивні структури починають розвиватися пізніше, коли вже чітко виділяється стінка мікроспорангія і спорогенна тканина.

У сформованих чоловічих квітках пиляки мають чотири гнізда, зближені попарно у дві теки. Мікроспорангій розвивається протягом трьох періодів: премейотичний, мейотичний і постмейотичний.

Під час премейотичного періоду формується стінка мікроспорангія і закладається спорогенна тканина. У мейотичному періоді у *A. sylvestris* і *S. japonica*

утворюється тетрада гаплоїдних мікроспор. У процесі мікроспорогенезу мейоз у *S. salicifolia* відбувається зі значними відхиленнями, що призводить до утворення стерильних пилкових зерен. У постмейотичному періоді мікроспори проростають у чоловічий гаметофіт — двоклітинні пилкові зерна.

Із субепідермального шару клітин пиляка диференціюються три—п'ять первинних археспоріальних клітин. Унаслідок периклинальних поділів клітин первинного археспорія утворюються первинні парієтальні та вторинні археспоріальні клітини. З первинного парієтального шару шляхом периклинального поділу формуються вторинний парієтальний шар і тапетум. Клітини вторинного парієтального шару знову діляться на два середні шари, з них зовнішній утворює середній шар і ендотецій. Отже, сформована стінка мікроспорангія складається з епідерми, ендотеція, двох—трьох середніх шарів і тапетума.

За даними статистичної обробки співвідношення нормальних, життєздатних і дефектних пилкових зерен, для досліджуваних статевих видів характерна висока фертильність пилкових зерен (табл. 1.). Високий показник фертильності свідчить про нормальний перебіг мейозу у процесі мікроспорогенезу та розвиток двоклітинного чоловічого гаметофіта (табл. 1.). Стерильність пилкових зерен незначна і становить у *A. sylvestris* — 3,58 %, *S. japonica* — 7,30 %, *S. salicifolia* — 15,40 %.

У таблицях 2 і 3 подано показники розмірів пилкових зерен та їх середні статистичні показники фертильності. Ми підрахували: середнє арифметичне ($\bar{x}$), стандартну похибку ($\Delta \bar{x}$), дисперсію (S_x^2), середнє квадратичне відхилення (S_x), коефіцієнт варіації (C_v), найменше (x_{min}) та найбільше (x_{max}) значення.

Аналіз одержаних цифрових даних свідчить про те, що фертильність пилкових зерен залежить від їхнього діаметра. В *A. sylvestris* він варіює від 6,2 до 24,8 мкм. Середній показник діаметра у близько 97 % пилкових зерен становить 13,87±0,10 мкм. У *S. japonica* діаметр пилкових зерен змінюється від 6,2 до 31 мкм, у 92 % у середньому — 15,30±0,20 мкм. В обох видів пилкові зерна виявилися життєздатними, тоді як у *S. salicifolia* за негативною реакцією на ацетокармін майже 84 % були нежиттєздатними.

Пророщування пилкових зерен на штучному живильному середовищі з додаванням агар-агару та глюкози показало, що в *A. sylvestris* вони активніше проростають за 10 % глюкози, тимчасом як пилкові зерна у *S. japonica* проро-

Таблиця 1. **Співвідношення нормальних, життєздатних і дефектних пилкових зерен (%)**

№ п/п	Вид	Конц. глюкози	Тип пилкових зерен			
			нормальні	життєздатні	гігантські	карликові
1	*Aruncus sylvestris*	10	97,85	78,14	0,18	1,97
		15	96,42	10,30	—	3,58
2	*Spiraea japonica*	10	90,33	52,49	1,13	8,54
		15	92,70	54,76	1,43	5,87
3	*Spiraea salicifolia*	10	78,93	—	5,64	15.43
		15	84,60	—	3,79	11,61

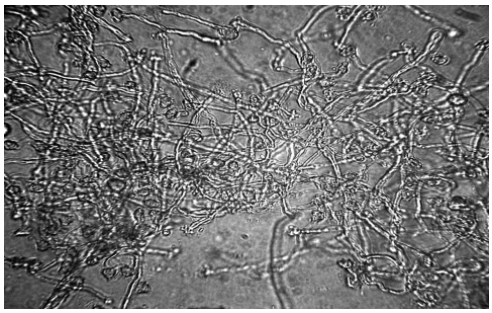


Рис. 1. *Aruncus sylvestris* Rafin.*:* проростання пилкових зерен (40/16)
Fig. 1. *Aruncus sylvestris* Rafin. The germination of pollen grains (40/16)

Рис. 2. *Spiraea japonica* L.*:* проростання пилкових зерен (40/16)
Fig. 2. *Spiraea japonica* L. The germination of pollen grains (40/16)

Таблиця 2. **Поліморфізм морфологічно нормальних пилкових зерен за діаметром (мкм)**

№ п/п	Вид	$\bar{x}$	$\Delta\bar{x}$	S_x^2	S_x	C_v, %	x_{min}	x_{max}
1	*Aruncus sylvestris*	13,87	0,10	1,12	1,06	7,64	12,40	18,60
2	*Spiraea japonica*	15,30	0,20	14,66	3,83	25,03	12,40	21,70
3	*Spiraea salicifolia*	14,88	0,22	22,38	4,73	31.78	12,40	21,70

Таблиця 3. **Середнє арифметичне діаметра пилкових зерен (мкм)**

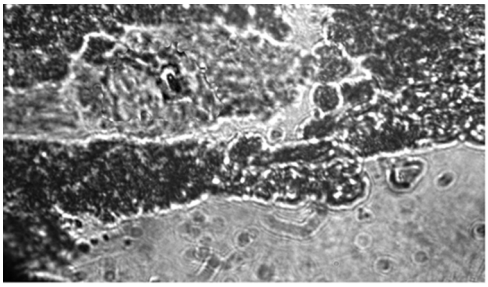
№ п/п	Вид	Тип пилкових зерен			
		нормальні	гігантські	Карликові	
				екваторіальний діаметр	полярна вісь
1	*Aruncus sylvestris*	13,87±0,10	24,80±12,00	7,75±1,17	11,16±1,68
2	*Spiraea japonica*	15,30±0,20	28,79±3,64	9,30±0,43	17,98±0,83
3	*Spiraea salicifolia*	14,88±0,22	25,04±1,52	8,68±0,09	11,16±0,11

стали вже через одну годину за концентрації 15% глюкози (рисунки 1, 2). Пилкові зерна *S. salicifolia* виявились нежиттєздатними, що, очевидно, зумовлено аномаліями в мейозі у процесі мікроспорогенезу.

Для *Spireoideae* характерне анатропно-гемітропне положення насінних зачатків, що закладаються на плаценті у зав'язі маточки. Їх розвиток починається із меристематичних горбочків нуцелуса, клітини якого інтенсивно діляться. Нуцелус добре розвинений, красинуцелятного типу. Водночас формується інтегумент — лише один у досліджуваних представників [13]. У верхній частині насінного зачатка кінці інтегумента не зростаються між собою, утворюючи мікропіле.

Рис. 3. *Aruncus sylvestris* Rafin.*:* мегаспороцити (40/16)
Fig. 3. *Aruncus sylvestris* Rafin.*:* megasporocytes (40/16)

Рис. 4. *Spiraea salicifolia* L.*:* мегаспороцит (40/16)
Fig. 4. *Spiraea salicifolia* L.*:* megasporocyte (40/16) ↓



Для всіх представників родини *Rosaceae* характерний багатоклітинний жіночий археспорій. На початкових етапах розвитку насінного зачатка із субепідермальних клітин нуцелуса диференціюються одна — три клітини первинного археспорія (рисунки 3, 4). Кожна з них ділиться периклинально і формує покривну і вторинну археспоріальну клітини. Покривні клітини діляться послідовно, утворюючи покривний комплекс, а вторинні археспоріальні клітини стають мегаспороцитами. До мейозу залучаються один-два мегаспороцити, в результаті чого виникають одна-дві тетради мегаспор.

Якщо утворюється одна первинна археспоріальна клітина, формуються один мегаспороцит і одна тетрада мегаспор, з яких нижня — халазальна — стає материнською клітиною зародкового мішка нормального *Polygonum*-типу. За наявності двох-трьох первинних археспоріальних клітин і, відповідно, у разі утворення двох-трьох вторинних похідних, мейоз відбувається у кожній з них.

Для *A. sylvestris*, на противагу іншим видам, характерна варіабельність розвитку зародкових мішків із будь-якої мегаспори однієї тетради (халазальної, середніх та мікропілярної мегаспор). Інші мегаспори поступово дегенерують. За наявності двох тетрад мегаспор розвиваються два зародкові мішки, однак яйцеклітина запліднюється лише в одному.

Зрілий зародковий мішок у мікропілярній зоні містить яйцевий апарат, що складається з двох синергід і однієї яйцеклітини. У халазальній зоні розташовані три ефемерні антиподи. Центральна клітина містить два полярні ядра, які зливаються до процесу запліднення і формують велике ядро центральної клітини.

У процесі запліднення ядро спермія тривало контактує з ядром яйцеклітини, тоді як ядро спермія з полярним ядром, тобто потрійне злиття, відбувається значно швидше (рис. 5).

Зародок розвивається у такій послідовності. Внаслідок першого поділу ядра зиготи формується поперечна перегородка і утворюється двоклітинний зародок. Проембріо розвивається за рахунок апікальної та базальної клітин. Апі-

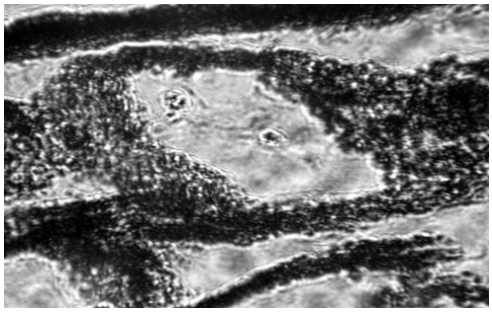


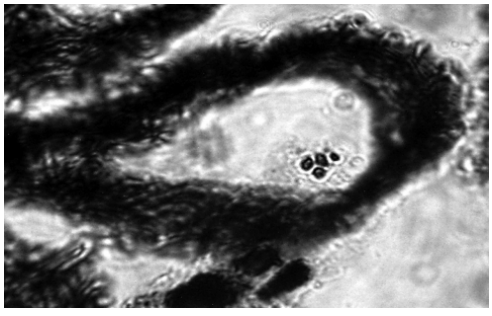
Рис. 5. *Spiraea salicifolia* L.*:* запліднення (40/16)
Fig. 5. *Spiraea salicifolia* L.*:* fertilization (40/16)

кальна ділиться косою перетинкою, утворюючи епіфізу, клітини якої формують у подальшому конус наростання стебла. Базальна клітина ділиться поперечною перетинкою, формуючи частково зародок і підвісок. Розвиток зародка завершується утворенням ембріодерми і диференціацією його органів. Отже, ембріогенез у досліджуваних видів за класифікацією Jogansen [12] відбувається за типом *Asterad* var. *Geum* (рисунки 6, 7).

Навколо зародка утворюється ендосперм ядерного типу, ознакою якого на першому етапі розвитку є відсутність клітинних перегородок. Коли зародок стає кулеподібним, з добре вираженою ембріодермою, ендосперм переходить у клітинну стадію.

Аналіз літературних даних з вивчення дводомності засвідчує, що для представників родини *Rosaceae* характерний розвиток двостатевих квіток, а одностатеві квітки та дводомність спостерігаються значно рідше. Наприклад, у *Fragaria grandiflora* Ehrh., за даними низки авторів [6, 10, 11], утворюються одностатеві квітки на одній особині, процеси органогенезу квітки різних частин суцвіття відбуваються однаково. Стерильність квіток виникає внаслідок дегенерації материнських клітин мегаспор чи зародкових мішків на різних стадіях розвитку.

Дводомність у *A. sylvestris* утворюється подібно до такого процесу в інших представників дводольних. Як показали дослідження, в *Ribes alpinum* L. і *Glossularia reclinata* Mill. [3] чоловічі і жіночі квітки є потенційно двостатевими. У ході формування чоловічої квітки дегенерують жіночі генеративні органи, зокрема на стадії насінних зачатків і зав'язі, у процесі диференціації архес-



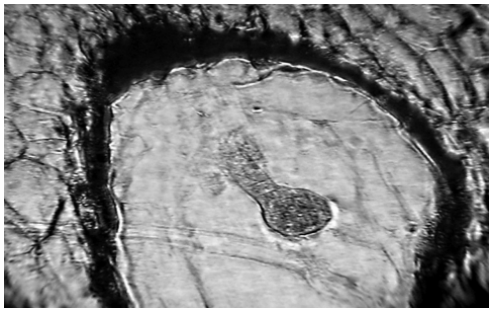


Рис. 6. *Spiraea salicifolia* L.*:* проембріо (40/16)
Fig. 6. *Spiraea salicifolia* L.: pre-embryo (40/16)

Рис. 7. *Aruncus sylvestris* Rafin.*:* багатоклітинний зародок (40/16)
Fig. 7. *Aruncus sylvestris* Rafin.*:* multicellular embryo (40/16)

поріальних клітин та формування двоядерного зародкового мішка. Перебіг розвитку жіночої генеративної сфери у досліджуваних родів відзначається суттєвими відмінностями.

Різноманітні шляхи утворення одностатевих квіток детально описано також у монографії Є.Л. Кордюм та Г.І. Глущенко [1]. Автори зауважують, що одностатевість переважно формується внаслідок початкового закладання як чоловічих, так і жіночих генеративних структур з подальшою дегенерацією однієї з них.

За літературними даними [14], у *S. astilboides planiflora, S. salicifolia* і *S. japonica* утворюються декілька первинних археспоріальних клітин, від одного до чотирьох мегаспороцитів, у зародковий мішок трансформується центральна чи халазальна мегаспори тетради.

Згідно з нашими дослідженнями для *S. japonica* і *S. salicifolia* характерний розвиток однієї-трьох археспоріальних клітин, до мейозу переходять один-два мегаспороцити, утворюються одна-дві тетради мегаспор. Зародковий мішок формується із халазальної клітини тетради мегаспор, тимчасом як у *A. sylvestris* — із будь-якої мегаспори тетради. Досліджуваним видам притаманний статевий процес.

Отже, одержані дані свідчать про те, що функціонування жіночих репродуктивних структур забезпечує нормальне статеве відтворення досліджуваних видів родини *Rosaceae*.

Висновки

1. У результаті проведених досліджень з'ясовано, що в межах квітки *A. sylvestris* закладаються як чоловічі, так і жіночі генеративні структури.

2. Чоловічий гаметофіт двоклітинний. В *A. sylvestris* і *S. japonica* мейоз у процесі мікроспорогенезу відбувається без особливих порушень, про що свідчить утворення численних фертильних пилкових зерен. У *S. salicifolia* внаслідок суттєвих відхилень у процесі мікроспорогенезу утворюються стерильні пилкові зерна.

3. Насінний зачаток красинуцелятний, з одним інтегументом. Жіночий археспоріальний комплекс одно—триклітинний. Зародкові мішки *Polygonum*-типу. Повної диференціації досягає лише один зародковий мішок.

4. Ендосперм нуклеарний. Зародок розвивається за типом *Asterad* var. *Geum*.

1. *Кордюм Е.Л., Глущенко Г.И.* Цитоэмбриологические аспекты проблемы пола покрытосеменных.— Киев: Наук. думка, 1976. — 197 с.
2. *Колде Я.К.* Практикум по теории вероятностей и математической статистике. — М.: Высш. шк., 1991. — 157 с.
3. *Мандрик В.Ю. Андрусяк М.О.* Цитоэмбриологическое исследование микроспорогенеза крыжовника *Glossularia reclinata* Mill. и смородины *Ribes alpinum* L. // Ботан. журн. — 1969. — **54**, № 9. — С. 1388—1396.
4. *Наумов Н.А., Козлов В.Е.* Основы ботанической микротехники. — М.: Сов. наука, 1954. — 307 с.
5. *Паушева З.П.* Практикум по цитологии растений. — М.: Колос, 1970. — 255 с.

6. *Сухарева Н.Б.* Элементы апомиксиса у земляники // Апомиксис и селекция. — М., 1970. — С. 116—120.
7. *Флора* УРСР. — К.: Вид-во АН УРСР, 1954. — Т. 6. — 301 с.
8. *Хохлов С.С., Зайцева М.И., Куприянов П.Г.* Выявление апомиктических форм во флоре цветковых растений СССР. — Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 1978. — С. 5—163.
9. *Хромосомные* числа цветковых растений. — М.: Изд-во АН СССР, 1969. — 638 с.
10. *Юрцева Н.С.* О причинах стерильности пестиков у садовой земляники // V Всесоюз. совещ. по эмбриол. раст. — Кишинев: Штиинца, 1971. — С. 216—218.
11. *Юрцева Н.С.*, *Философова Т.П.* Особенности проявления истинной стерильности в цветках садовой земляники // С. х. биол. — 1969. — **4**, № 5. — С. 745—752.
12. *Jogansen D.* Plant embryology. — Waltham Mass, 1950. — 305 p.
13. *Schnarf K.* Embryologie der Angiospermen. — Berlin, 1929. — 690 p.
14. *Webb J.E.* A morphological study of the flower and embryo of *Spiraea* // Bot. Gaz. — 1902. — Bd. 33. — P. 451—460.

Рекомендує до друку
Є.Л. Кордюм

Надійшла 22.09.2008

Г.Б. Попович

Ужгородский национальный университет

РАЗВИТИЕ РЕПРОДУКТИВНЫХ СТРУКТУР У НЕКОТОРЫХ ВИДОВ РОДА *SPIRAEA* L. И *ARUNCUS SYLVESTRIS* RAFIN. (*SPIREOIDEAE, ROSACEAE*)

Исследованы формирование структурно однополых цветков у *Aruncus sylvestris* Rafin. и органогенез цветка у представителей рода *Spiraea* L. (*Rosaceae*). Семяпочка красинуцелятная с одним интегументом. Количество археспориальных клеток вариабельно. Зародышевый мешок нормального *Polygonum*-типа. Семенная репродукция осуществляется половым путем. Эндосперм нуклеарный. Зародыш развивается по типу *Asterad* var. *Geum*.

Ключевые слова: семяпочка, археспорий, мегаспороцыт, зародышевый мешок, зародыш, эндосперм.

H.B. Popovich

Uzhgorod National University

DEVELOPMENT OF REPRODUCTIVE STRUCTURES IN SOME SPECIES OF THE GENUS *SPIRAEA* L. AND *ARUNCUS SYLVESTRIS* RAFIN. (*SPIREOIDEAE, ROSACEAE*)

Formation of structurally unisexual flowers has been investigated in *Aruncus sylvestris* Rafin. Organogenesis of the flower has been studied in the genus *Spiraea* L. (*Rosaceae*). The ovule is crassinucellate with one integument. The number of archesporium cells is variable. The embryo sac is of the normal *Polygonum*-type. The seed reproduction as is usually sexual, endosperm nuclear. The embryo develops by the type *Asterad* var. *Geum*.

Key words: ovule, archesporium, megasporocyte, embryo sac, embryo, endosperm.