



МІКРОМОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПИЛКОВИХ ЗЕРЕН, НАСІНИН ТА ЛИСТКОВОЇ ПОВЕРХНІ *ATOCION HU PANICUM* (KLOK.) TZVEL. ТА *A. COMPACTUM* (FISCH.) TZVEL.

В.О. МАРТИНЮК^{1*}, Н.І. КАРПЕНКО^{1**}, О.М. ЦАРЕНКО²

Анотація. За допомогою сканувальної електронної мікроскопії проведено дослідження поверхні листкової пластинки, пилкових зерен та насінин південнобузького ендемічного виду *Atocion hupanicum* (Klok.) Tzvel. флори України та *A. compactum* (Fisch.) Tzvel., ареал якого охоплює Балкани, Кавказ та Передню Азію. Встановлено нові діагностичні мікроморфологічні ознаки, пов'язані з ультраструктурою пилкових зерен: відстань між порами ($6,72 \pm 1,2$ мкм у *A. hupanicum* та $5,19 \pm 1,22$ мкм у *A. compactum*) та кількість зерен і шипиків на порі (6-15 у *A. hupanicum* та 11-26 у *A. compactum*). Насінини *A. compactum* відрізняються від таких у *A. hupanicum* наявністю чітко виражених папіл на периклінальній стінці екзотестальних клітин латеральної та дорзальної поверхонь. У мікрорельєфі поверхні листкової пластинки суттєвих відмін між видами не відмічено.

Ключові слова: *Atocion hupanicum*, *Atocion compactum*, ендемічний вид, СЕМ, листкова поверхня, пилкове зерно, насінина

¹ Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології», кафедра ботаніки, проспект академіка Глушкова, 2, м. Київ, 03022, Україна; * vikamartynuk@ukr.net, ** karpenko563@gmail.com

² Інститут ботаніки імені М.Г. Холодного НАН України, вул. Терещенківська, 2, м. Київ, 01601, Україна; tsarenko_olga@ukr.net

Вступ

Atocion hupanicum (Klok.) Tzvel. (bas. *Silene hupanica* Klok.) є вузьколокальним ендеміком гранітно-степового Побужжя, занесеним до Червоної книги України (Новосад та ін. 2009) і трапляється лише на південних відроггах Придніпровської височини в межах Правобережного Степу, в долині р. Південний Буг (Клоков 1952; Федорончук та ін. 2002; Новосад та ін. 2009). М.В. Клоков (1948: 20-31) в першоописі зазначив, що *S. hupanica* раніше неправильно визначалася як *S. compacta* Fisch. (bas. *A. compactum* (Fisch.) Tzvel.), поширена на Кавказі, Балканах та частково в Передній Азії (Шишкин 1936; Фрајман et al. 2013). Пізніше М.М. Цвельов (Цвельов 2001: 90-113) переніс обидва види до роду *Atocion* Adans.

A. hupanicum та *A. compactum* є досить близькими за морфологією, тому в західних публікаціях (СНАТТЕР et al. 1993; ФРАЈМАН

et al. 2009, 2013) *A. hupanicum* (*S. hupanica*) розглядають як молодший синонім *A. compactum* (= *S. compacta*), тоді як в Україні *A. hupanicum* вважається самостійним видом. За літературними даними (Клоков 1948; Федорончук 1997), *A. hupanicum* відрізняється від *A. compactum* трав'янистими приквітками та верхівковими листками, коротшими придатками віночка та гострими зубцями чашечки. Нашими попередніми дослідженнями показано, що діагностичними є лише ознаки приквіток та верхівкових листків (півчасті в *A. compactum* та трав'янисті в *A. hupanicum*) (МАРТУНЮК et al. 2014).

Мікроморфологічні особливості цих близьких таксонів досліджені лише частково. Так, СЕМ-дослідження пилкових зерен (далі – п.з.) (РОМАНОВА 1988; YILDIZ 2001) та насінин (YILDIZ & CIRPICI 1998) проводилися лише для одного виду без порівняння з іншим, а ультраструктура листкової пластинки взагалі не вивчалася.

У зв'язку з цим мета нашої роботи полягала у пошуку мікроморфологічних ознак, що дозволяють розрізнити *A. hupanicum* та *A. compactum*.

Матеріали і методи досліджень

Матеріалами для досліджень слугували як оригінальні збори (*A. hupanicum* – ділянка рідкісних рослин Ботанічного саду ім. акад. О.В. Фоміна, Україна; *A. compactum* – смт. Домбай, Карачаєво-Черкеська Республіка, РФ), так і зразки з Національного гербарію України (KW № 081635) та Гербарію Київського національного університету імені Тараса Шевченка (KWU № 091207, KWU № z_701). Сухий матеріал (пилко, насіння та фрагменти листків) досліджували за допомогою сканувального електронного мікроскопа (JSM-6060 LA). Матеріал, попередньо наклеєний на латунний столик, напилювали у вакуумному напилювачі шаром золота за стандартною методикою.

Додатково для вимірювання діаметру п.з., підрахунку кількості пор, а також для встановлення розмірів насінин були залучені дані світлової мікроскопії. П.з. зафарбовували 0,01% розчином метиленового синього та досліджували при загальному збільшенні мікроскопа $\times 1000$. Насінини не обробляли, морфометричний аналіз проводився при збільшенні $\times 40$. Проміри робили за допомогою окуляр-мікрометра. Усі морфометричні характеристики розраховували як середнє значення не менш як 30 вимірів. Числові дані наведено у форматі “максимум-мінімум”, в дужках подано середнє значення та стандартне відхилення. Для опису листової пластинки, пилку та насінин використовували загальноприйняту термінологію (ERDTMAN 1952; BARTHLOTT 1984; BARTHLOTT *et al.* 1998; ТОКАРЕВ 2002).

Результати та їх обговорення

Мікроморфологічні особливості поверхні листової пластинки

Листок *A. hupanicum* амфістоматичний

(продихи спостерігаються як на абаксіальній (**Ab**), так і на адаксіальній (**Ad**) поверхнях), продихи розташовані більш-менш рівномірно по всій поверхні листової пластинки на одному рівні з основними епідермальними клітинами. Замикаючі клітини облямовані чітким кутикулярним валиком (Рис. 1 А). Кутикула добре розвинена, контури епідермальних клітин не простежуються. Епікутикулярний віск структурований у вигляді цілокраїх чи лопатеподібних пластинчастих та стрижнеподібних (більш-менш тупих на кінцях) кристалоїдів як на абаксіальній, так і на адаксіальній поверхнях листової пластинки (Рис. 1 В). Опушення відсутнє.

Листок *A. compactum* амфістоматичний, продихи розташовані більш-менш рівномірно на всій поверхні листової пластинки та приблизно на однаковому рівні з основними клітинами епідерми (Рис. 1 Б). Замикаючі клітини продихів облямовані чітким кутикулярним валиком. Кутикула добре розвинена, контури клітин епідерми не простежуються. Епікутикулярний віск у вигляді стрижнеподібних (з тупими кінцями) та цілокраїх чи лопатеподібних пластинчастих кристалоїдів на обох поверхнях листової пластинки (Рис. 1 Г). Опушення відсутнє.

Таким чином, за наявністю кутикулярного валика біля продиху, формою та розміщенням кристалоїдів ультраскульптура листових пластинок *A. hupanicum* та *A. compactum* є досить подібною.

Мікроморфологічні особливості пилкових зерен

П.з. *A. hupanicum* (Рис. 2 А) багатопорові, сферичні, в обрисі округлі, з рівним краєм, діаметром 25,3-31,45 ($28,4 \pm 2,05$) мкм. Пори округлі, в кількості 20-25, діаметром 2,47-5,75 ($3,84 \pm 0,58$) мкм, оперкульюм дрібнозернисто-шипикуватий, шипики та зернистість нерівномірно розподілені на порі, в кількості 6-15 на 1 порі (Рис. 2 Б). Відстань між порами становить 4,26-8,94 ($6,72 \pm 1,2$) мкм. Скульптура екзини п.з. дрібношипикувато-зерниста, шипики

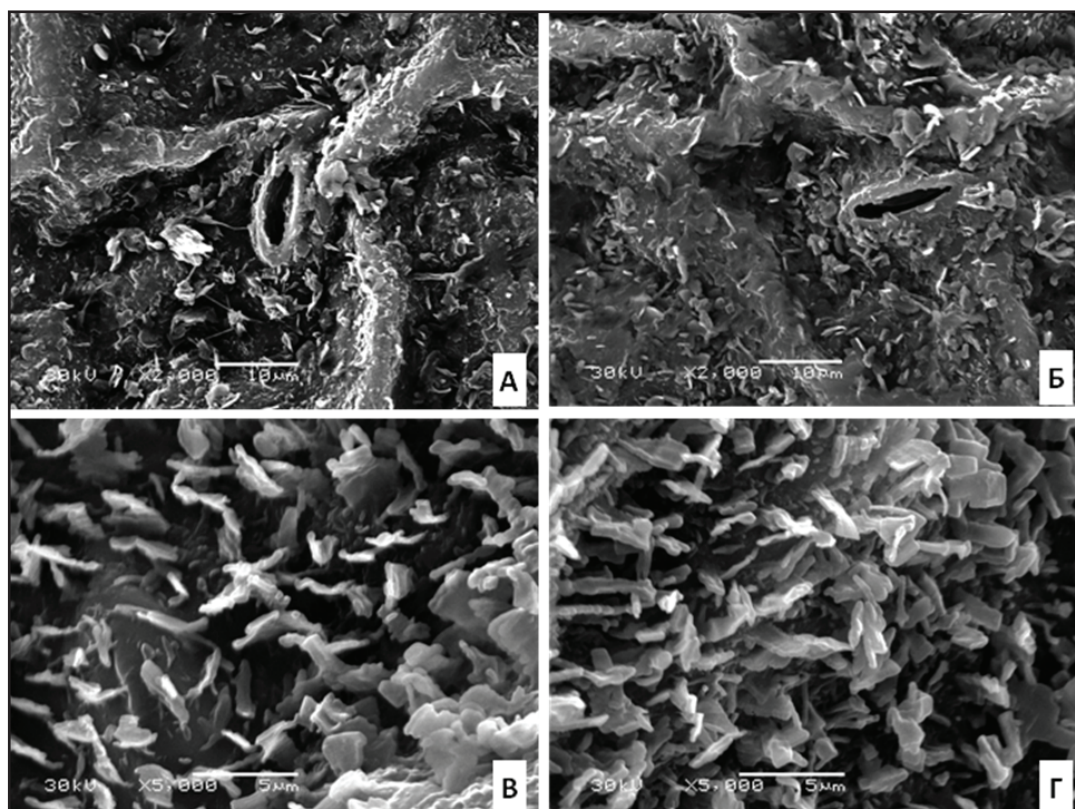


Рис. 1. Ультраструктура поверхні листків *Atocion hypanicum* (А, В) та *A. compactum* (Б, Г): А, Б – продих (Ab); В, Г – скульптура епікутикулярного воску (Ad).

Fig. 1. Leaf surface ultrastructure of *Atocion hypanicum* (A, B) and *A. compactum* (B, Г): А, Б – stoma (Ab); В, Г – types of epicuticular waxes (Ad).

ширококонічні, тупі, покрив екзини з округлими заглибленнями чи перфораціями, 0,2-0,3 мкм в діаметрі.

П.з. *A. compactum* (Рис. 2 В) сферичні, багатопорові, в обрисі округлі чи округлокутасті, по краю рівні, діаметром 24,8-43,9 ($33,96 \pm 6,58$) мкм. Пори округлі, в кількості 18-25, діаметром 3,65-5,1 ($4,41 \pm 0,39$) мкм, оперкулюм дрібнозернисто-шипикуватий, зернистість та шипики (в кількості 11-26) нерівномірно розташовані на порі (Рис. 2 Г). Міжпорова відстань складає 3,4-8,4 ($5,19 \pm 1,22$) мкм. Скульптура екзини п.з. дрібношипикувато-зерниста, шипики ширококонічні, тупі. Екзина перфорована, діаметр перфорацій складає 0,1-0,3 мкм.

Проведений паліноморфологічний аналіз показав, що п.з. *A. hypanicum* та *A. compactum*

відрізняються кількістю зерен та шипиків на порі, а також відстанню між порами.

Мікроморфологічні особливості насінин

Насінини *A. hypanicum* дуже дрібні, 410-590 ($498,12 \pm 39,6$) мкм завдовжки, 500-750 ($662 \pm 59,05$) мкм завширшки (відношення довжини до ширини становить $0,76 \pm 0,075$), округло-ниркоподібної форми (Рис. 3 А). Насінина плоска чи двоввігнута, дорзальна та латеральна поверхні злегка увігнуті, на спинці неглибокий жолобок. Дорзальний бік насінини містить чотири ряди екзотестальних клітин (Рис. 3 Д). Добре виражений округлий заглиблений рубчик (Рис. 3 В).

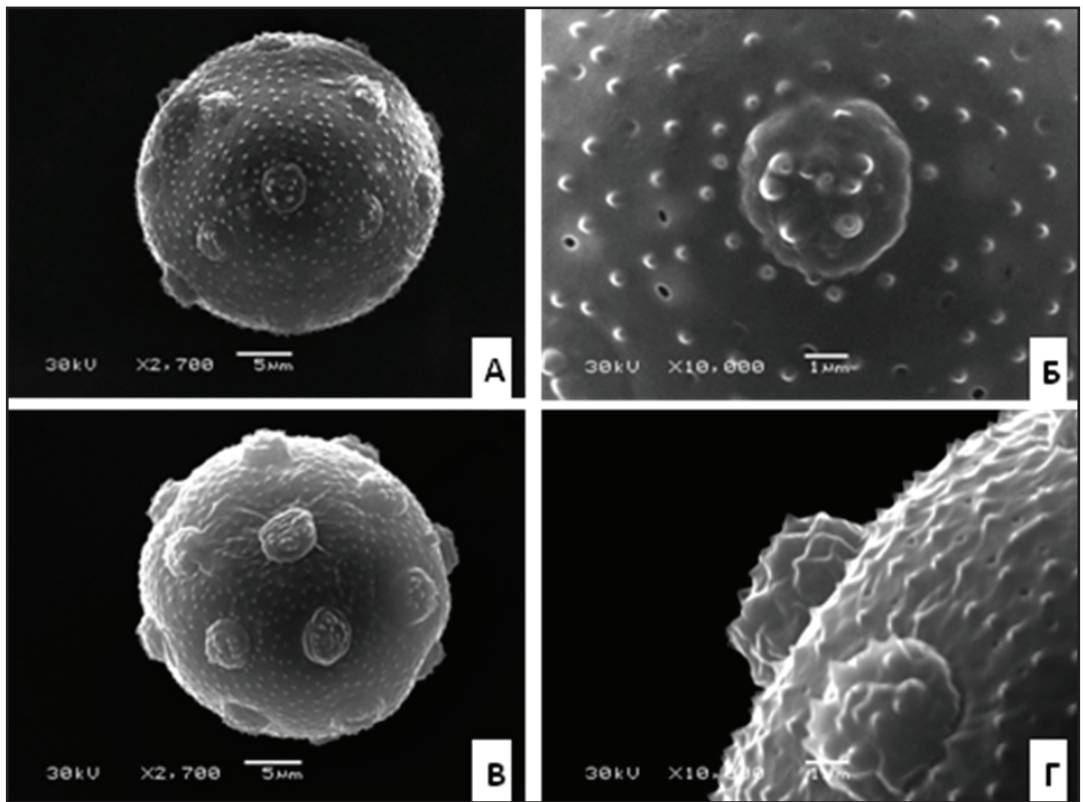


Рис. 2. Пилкові зерна *Atocion hypanicum* (А, Б) та *A. compactum* (В, Г): А, В – загальний вигляд; Б, Г – пора.

Fig. 2. Pollen grains of *Atocion hypanicum* (A, B) and *A. compactum* (B, G): A, B – general view; B, G – pore.

Клітини екзотести дистального ряду в обрисі витягнуті, полігональні. Їх розміри варіюють в межах $95-175 \times 14,3-27,8$ ($128,24 \pm 20,72 \times 21,55 \pm 3,59$) мкм (Рис. 3 Е), ближче до рубчика вони стають менш витягнутими, в області рубчика дрібнішають і набувають ізодіаметричної форми. Периклінальна стінка екзотестальних клітин випукла, гранулярна. Розмір кутикулярних гранул, рівномірно розташованих по всій поверхні насінини, складає $0,8-4,0$ мкм.

Периклінальна стінка без папіли, інколи з незначним підвищенням на дистальному краї клітини, до того ж папіла ледве простежується або зовсім відсутня з вентрального боку насінини в області рубчика, де набуває округлої форми ($10-15$ мкм в діаметрі). Звивистість антиклінальних стінок найменше виражена в області рубчика та ділянок, що до нього прилягають, а найбільше – в

області спинки. Зубці антиклінальних стінок дистального ряду екзотестальних клітин ширококонічні, тупі (довжина складає $6,5-14,1$ ($10,46 \pm 1,51$) мкм, ширина при основі – $5,9-11,8$ ($8,94 \pm 1,45$) мкм), їх кількість становить $18-30$ шт.

Насінини *A. compactum* дуже дрібні, $420-600$ ($519,6 \pm 37,74$) мкм завдовжки, $550-790$ ($689 \pm 52,64$) мкм завширшки (відношення довжини до ширини становить $0,76 \pm 0,05$), округло-ниркоподібної форми (Рис. 3 Б). Насінина пласка, дорзальна поверхня увігнута, з чітко вираженим жолобком, латеральна – пряма. Дорзальний бік насінини містить три-чотири ряди екзотестальних клітин (Рис. 3 Е). Добре виражений округлий заглиблений рубчик (Рис. 3 Г).

Клітини екзотести дистального ряду в обрисі витягнуті, полігональні (розміри

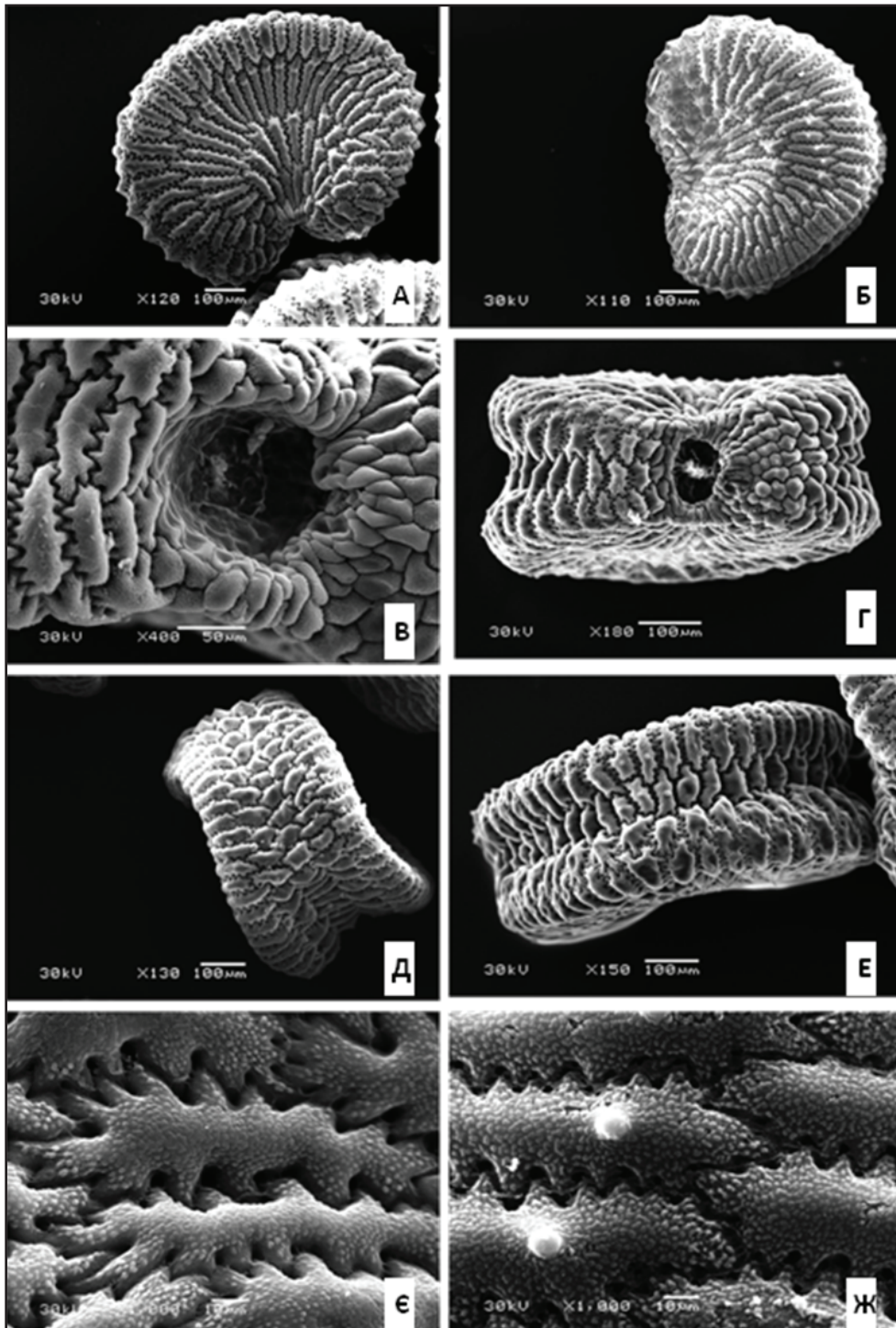


Рис. 3. СЕМ насінин *Atocion hypanicum* (А, В, Д, Е) та *A. compactum* (Б, Г, Е, Ж): А, Б – загальний вигляд; В, Г – вигляд з боку рубчика; Д, Е – дорзальна поверхня; Е, Ж – клітини екзотести.

Fig. 3. SEM of *Atocion hypanicum* (A, B, D, E) and *A. compactum* (B, G, E, Ж) seeds: A, B – general view; B, Г – hilum view; Д, Е – dorsal surface; Е, Ж – exotesta cells.

варіюють в межах 78,6-144 × 16,7-31 (115,35±14,18 × 22,9±3,75) мкм), а ближче до рубчика вони стають менш витягнутими і в області рубчика дрібнішають і набувають ізодіаметричної форми. Периклінальна стінка екзотестальної клітини випукла, гранулярна (Рис. 3 Ж). Розмір кутикулярних гранул, рівномірно розташованих по всій поверхні насінини, складає 0,77-2,9 мкм. Периклінальна стінка з чітко вираженою округлою (8,3-10,7 мкм в діаметрі) папілою. Звивистість антиклінальних стінок найбільше проявляється в області спинки, а найменше виражена в області рубчика та ділянок, що до нього прилягають. Зубці антиклінальних стінок дистального ряду екзотестальних клітин ширококонічні, тупі (довжиною 8,42-14,34 (10,3±1,3) мкм, ширина при основі складає 7,1-13,2 (8,84±1,28) мкм), їх кількість варіює в межах 17-25.

Таким чином, насінина *A. compactum* відрізняється від насінини *A. hypanicum* наявністю чітко вираженої папіли на периклінальній стінці екзотестальних клітин латеральної та дорзальної поверхонь.

Висновки

Проведені СЕМ-дослідження підтвердили наявність мікрморфологічних відмін між *A. hypanicum* та *A. compactum*. Діагностичними ознаками цих таксонів є: кількість зерен і шипиків на порі та відстань між порами пилових зерен, а також наявність папіл на периклінальній стінці екзотестальних клітин насінин. Суттєвих відмін в ультраскульптурі листових пластинок досліджених видів не виявлено.

Використані джерела

- Клоков М.В. 1948.** Нові матеріали до пізнання Української флори. Нові види з родин гвоздичних, гречкових і хрестоцвітних. *Ботан. журн.* **5** (1): 20–31.
- Клоков М.В. 1952.** Рід Смілка – *Silene* L. В: Котов М.І. (ред.), Флора УРСР. **4**: 523–554. Вид-во АН УРСР, Київ.
- Новосад В.В., Щербакова О.Ф., Крицька Л.І., Собко В.Г. 2009.** Смілка бузька, зорянка південнобузька. В: Дідух Я.П. (ред.), Червона книга України. Рослинний світ: 402. Глобалконсалтинг, Київ.
- Романова Л.С. 1988.** Палиноморфологія семейства Caryophyllaceae Juss. флори УССР: Дис. ... канд. биол. наук. Киев.
- Токарев П.И. 2002.** Морфология и ультраструктура пыльцевых зерен. Т-во научн. изд. КМК, Москва.
- Федорончук М.М. 1997.** *Silene* L. *sensu lato* в Україні: огляд роду *Silene sensu stricto* (Caryophyllaceae). *Укр. ботан. журн.* **54** (6): 557–564.
- Федорончук М.М., Дідух Я.П., Бурда Р.І. 2002.** *Silene hypanica* Klokov – Смілка бузька. В: Федорончук М.М., Дідух Я.П. *та ін.* (ред.), Екофлора України. **3**: 248–249. Фітосоціоцентр, Київ.
- Цвелев Н.Н. 2001.** О родах трибы Смолевковых (*Sileneae* DC., Caryophyllaceae) в Восточной Европе. *Новости систематики высших растений* **33**: 90–113.
- Шишкин Б.К. 1936.** Род *Silene* L. В: Комаров В.Л. (ред.), Флора СССР. **6**: 577–691. Изд-во АН СССР, Москва-Ленинград.
- BARTHLOTT W. 1984.** Microstructural features of seed surface. In: HEYWOOD V.H., MOORE D.M. *et al.* (ed.), *Current concepts in plant taxonomy*: 95–105. Academic Press, London.
- BARTHLOTT W., NEINCHUIS CH., CUTLER D., DITSCH F., MEUSEL I., THEISEN I., WILHELMI I. 1998.** Classification and terminology of plant cuticular waxes. *Bot. J. Linn. Soc.* **126**: 237–260.
- CHATER A.O., WALTERS S.M., AKEROTD J.R. 1993.** *Silene* L. In: TUTIN, T. G., HEYWOOD, V. H., BURGESS, N. A. *et al.* (eds), *Flora Europaea*. **1**: 191–218. Cambridge University Press, Cambridge.
- ERDTMAN G. 1952.** Pollen morphology and plant taxonomy. Angiosperms. Almqvist & Wiksell, Stockholm.
- FRAJMAN B., HEIDARI N., OXELMAN B. 2009.** Phylogenetic relationships of *Atocion* and *Viscaria* (*Sileneae*, Caryophyllaceae) inferred from chloroplast, nuclear ribosomal, and low-copy gene DNA sequences. *Taxon* **58** (3): 811–824.
- FRAJMAN B., THOLLESON M., OXELMAN B. 2013.** Taxonomic revision of *Atocion* and *Viscaria* (*Sileneae*, Caryophyllaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* **173**: 194–210.
- MARTYNYUK V.O., TYSHCHENKO O.V., KARPENKO N.I. et al. 2014.** Taxonomic status of *Atocion hypanicum* (Klokov) Tzvelev (Caryophyllaceae) inferred from analysis of ITS1 and ITS2 secondary structure. *Chornomors'k. Bot. Zhurn.* **10** (4): 416–425.
- YILDIZ K., CIRPICI A. 1998.** Seed morphological studies of *Silene* L. from Turkey. *Pac. J. Bot.* **30** (2): 173–188.
- YILDIZ K. 2001.** Pollen morphology of *Silene* L. (Caryophyllaceae) from Turkey. *Pac. J. Bot.* **33** (1): 13–25.

MICROMORPHOLOGICAL FEATURES OF POLLEN GRAINS, SEEDS AND LEAF SURFACES OF
ATOCION HYpanicum (KLOK.) TZVEL. AND *A. COMPACTUM* (FISCH.) TZVEL.

V.O. MARTYNYUK ^{1*}, N.I. KARPENKO ^{1**}, O.M. TSARENKO ²

Abstract. Based on scanning electron microscopy, ultrastructure of leaf surfaces, pollen grains and seeds have been investigated for two *Atocion* Adans. species – Ukrainian endemic *A. hypanicum* (Klok.) Tzvel., and *A. compactum* (Fisch.) Tzvel., which areal comprises the Balkans, Caucasus and Western Asia. New delimiting micromorphological characteristics, associated with ultrastructure of pollen grains (microechinate number on the operculum: *A. hypanicum* – 6-15, *A. compactum* – 11-26) and interporal distance (*A. hypanicum* – $6.72 \pm 1,2 \mu\text{m}$, *A. compactum* – $5.19 \pm 1,22 \mu\text{m}$), have been designated. *A. compactum* seeds also clearly differ from *A. hypanicum* by the papilla presence on periclinal walls of lateral and dorsal surfaces. However, ultrastructure of the leaf surface, including epicuticular wax projections, does not significantly differ between these taxa.

Key words: *Atocion hypanicum*, *Atocion compactum*, endemic species, SEM, leaf surface, pollen grain, seed

¹ Taras Shevchenko National University of Kyiv, Educational and Scientific Centre «Institute of Biology», Department of Botany, Hlushkova avenue 2, 03022 Kyiv, Ukraine; * vikamartynuk@ukr.net, ** karpenko563@gmail.com

² M.G. Kholodny Institute of Botany NAS of Ukraine, Tereshchenkivska str. 2, 01601 Kyiv, Ukraine; tsarenko_olga@ukr.net