

## Mikrospermatogeneza kod tritikalea (× *Triticosecale* Wittmack)

Danijela Kondić<sup>1</sup>, Nikola Mičić<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Banjaluci

<sup>2</sup>Institut za genetičke resurse Univerziteta u Banjaluci

### Rezime

Cito-histološka proučavanja muškog gametofita ispitivanih genotipova ozimog tritikalea izvršena su u toku 2006 i 2007. godine u završnim fazama konstituisanja polenovih zrna. Prvi uzorci histoloških analiza u ovom istraživanju registruju pojavu završne faze resorpcije tapetuma i formiranja egzine. U analizi formiranja spermatičnih ćelija tritikalea može se konstatovati da je prijenom standardne histološke metode bila jasno uočljiva dioba generativnog jedra, odnosno da je bilo sasvim moguće pratiti proces spermatogeneze. Izvedeno istraživanje jasno sugerise da se tritikale u budućim citogenetičkim istraživanjima može koristiti kao model biljka za proučavanje procesa formiranja muških polnih ćelija kao i za proučavanje mogućih degenerativnih procesa u mikrosporogenezi koji se mogu dovoditi u vezu sa redukcijom prinosa ili kao jedan od uzroka pojave abortivnih procesa u klasu.

*Ključne riječi:* polenova zrna, spermatične ćelije.

### Uvod

Polenova zrna se razvijaju u lokuli antere, čiji se zid od površine prema unutrašnjosti sastoji od epidermisa, endotecija, srednjeg sloja i tapetuma (Goldberg i sar., 1993). Razvoj muškog gametofita (polena) u lokuli antere je u potpunosti sinhronizovan sa funkcionalnim razvojem svih tkiva antera (Goldberg i sar., 1993; Scott i sar. 2004). Razvoj antera i polena je od vitalnog značaja za seksualnu reprodukciju biljaka, te predstavlja kritičnu fazu u životnom ciklusu biljke koja uključuje širok spektar interakcije gena (Goldberg i sar., 1993; McCormick, 2004; Scott i sar., 2004; Ma, 2005).

Formiranje polena se vrši diobom i diferencijacijom ćelija tokom prelaska iz sporofitne u gametofitnu generaciju, produkcijom cenocitnog tkiva (tapetuma i mikrosporocitne mase), te formiranjem slobodnih ćelija (mikrospora) koje daju samostalne nosioce genoma - polenova zrna (Bhandari, 1984; Scott i sar., 1991a; Goldberg i sar., 1993; i Irish, 1999).

Tapetum je unutrašnji sloj zida antere, koji je u neposrednom kontaktu sa muškim gametofitom, i ima krucijalnu ulogu u razvoju i sazrijevanju mikrospora (Pacini i sar., 1985; Shivanna i sar., 1997). Kao sekretorni sloj ćelija, tapetum obezbjeđuje enzime i hranljive materije za procese diferencijacije i završno uobličavanje polenovih zrna spremnih za oprašivanje (Goldberg i sar., 1993).

Sporogene ćelije (materinske ćelije polena) prolaze mejotičku diobu dajući tetrade, odnosno mikrospore (McCormick, 1993). Tokom mikrogametogeneze, mikro-spore se diferenciraju u zrela polenova zrna kroz dvije mitotske diobe. Prva mitotska dioba daje vegetativnu i generativnu ćeliju. Druga mitotska dioba generativne ćelije kod biljnih vrsta (*Poaceae* i *Brassicaceae*) rezultira sa dvije spermatične ćelije u tro-ćelijskim polenovom zrnu.

Tokom sazrijevanja polena, tapetum djeluje kao nutritivno i izolaciono tkivo, obezbjeđujući hranljive materije za formiranje polenovog zida, a zatim se u kasnijim razvojnim fazama polena u potpunosti resorbuje (Goldberg i sar., 1993; Scott i sar., 2004). Činjenica da se mikrospore snabdjevaju hranljivim materijama iz tapetuma, jasno govore da svi faktori koji utiču na razvoj tapetuma istovremeno utiču na razvoj polena i mogu biti uzrok pojave muške sterilnosti (Cheng i sar., 1979; Chaudhury, 1993; Okada i sar., 1999; Wilson i sar., 2001; Kapoor i sar., 2002). Takođe, svi poremećaji u diferencijaciji polenovih zrna mogu biti uzrok smanjenja prinosa, jer je dvojna oplodnja uslovljena formiranjem spermatičnih jedara od kojih jedno spermatično jedro oplođuje jajnu ćeliju dajući zigotu, a drugo spermatično jedro oplođuje centralno jedro embrionalne kesice kao uslov za formiranje endosperma (Kondić, 2010).

Realno je moguće otvoriti pitanje kako se ponaša generativno jedro koje je haploidno u dvojedarnom polenu u slučaju kada izostane njegova dioba, a time i formiranje spermatičnih jedara. Naime, kako teče proces oplodnje u situaciji kada u polenovom zrnu dođe do poremećaja u procesu spermatogeneze u polenovom zrnu ili polenovoj cjevčici. U literaturi ima vrlo malo informacija o ovom pitanju, kao što ima vrlo malo podataka o citogenetičkim aspektima kariokineze u spermatogenezi. Cilj ovog rada je proučavanje procesa mikrospermatogeneze kod aktuelnih genotipova tritikalea.

## Materijal i metod rada

Klasovi pručanih genotipova ozimog tritikalea: Trimaran, Ticino, Odisej, BL-T-21, BL-T-10 i Mah 1793 uzeti su iz ogleda postavljenog po slučajnom blok sistemu u pet ponavljanja tokom 2006 i 2007. godine na lokalitetu Trapisti kod Banjaluke.

U ogledu je primjenjena standardna agrotehnika za proizvodnju ozimog tritikalea. U obje godine istraživanja sjetva je izvršena polovinom oktobra.

Klasovi tipični za genotip uzimani su po sredini oglednog polja na razdaljini od 1m od fenološke faze kada je na 50% oglednog polja 50% klasa izašao iz rukavca vršnog lista do prašenja antera. Neposredno po skidanju sa biljaka klasovi su fiksirani u fiksativu po Navašinu. Fiksirano je po 10 klasova svih posmatranih genotipova. Uzorci su isprani u tekućoj vodi, dehidratirani kroz seriju alkohola i ksilola i preko ksilol-parafina izvršena je inkluzija u parafin. Kalupljenje je vršeno u petri posudama, u kojim su objekti orjentisani u položaj za sječenje. Rezanje parafinskih blokova izvedeno je u parafinske trake debljine 12  $\mu$ . Razvlačenje parafinskih presjeka i lijepljenje vršeno je sa Majerovim ljepilom. Poslije sušenja izvršena je deparafinizacija, i preparati su hidratisani kroz seriju ksilol,

