

Мирјана Шијачић-Николић
Василије Исајев

UDK: 630*164.6:582.475.2
Оригинални научни рад

МОРФОЛОШКО-ФИЗИОЛОШКИ ПАРАМЕТРИ ПОЛЕНА ОМОРИКЕ (*Picea omorika/Pani./Purkyne*) ЗНАЧАЈНИ ЗА БЛИСКУ ХИБРИДИЗАЦИЈУ

Извод: Полазећи од значаја квалитета полена при контролисању хибридизацији, обављена су испитивања морфо-физиолошких параметара полена тестилаца оморике, из више халф-сив линија утврђених у 20. годишњу семенску плантажу. Селекција линија полујеродника и генотипова у њима обављена је на основу вишегодишњих анализа које су потврдиле углавном производњу микростробила, тј. њихову претежно „мушки“ функционалност.

Кључне речи: морфо-физиолошки параметри полена, оморика, контролисана хибридизација

IMPORTANCE OF MORPHO-PHYSIOLOGICAL PROPERTIES OF SERBIAN SPRUCE (*Picea omorika/Pani./Purkyne*) POLLEN FOR INTER-SPECIES HYBRIDISATION

Abstract: Starting from the significance of pollen in the control of hybridisation, we studied pollen germination of Serbian spruce test-trees in several half-sib lines incorporated in a 20-year seed orchard. The selection of half-sib lines and genotypes in them was based on long-term analysis, which confirmed the production mainly of microstrobiles, i.e. their predominantly „male“ function.

Key words: morpho-physiological properties of pollen, Serbian spruce, controlled hybridisation

1. УВОД

Успех контролисане хибридизације знатно зависи од степена познавања квалитета полена врсте који се користи при вештачкој полинацији. При раду на хибридизацији, у време полинације мора се располагати са довољном количином полена доброг

др Мирјана Шијачић-Николић, асистент, Шумарски факултет Универзитета у Београду
др Василије Исајев, редовни професор, Шумарски факултет Универзитета у Београду

квалитета, што за собом повлачи питање када сакупити полен, како га сачувати до момента употребе и како проверити његову физиолошку активност.

Полазећи од значаја квалитета полена при контролисаној хибридизацији, обављена су испитивања морфо-физиолошких параметара полена тест-стабала оморике, из више халф-сиб линија утражених у 20-огодишњу генеративну семенску плантажу оморике (Исајев В., 1987) Селекција линија полуусродника и генотипова у њима, обављена је на основу вишегодишњих анализа које су потврдиле да се они одликују претежном производњом микростробила, тј. да испољавају „мушки“ функционалност (Шијачић-Николић М., 2001).

2. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

У циљу утврђивања квалитета полена 8 индивидуа: 1Ф1/1, 1Ф1/2, 1Ф1/3, 1Ф1/4, 1Ф7/1, 1Ф7/2, 1Ф7/3 и 1А1, које су одabrane за полинаторе приликом спровођења контролисане хибридизације, урађена је анализа полена која је обухватила: утврђивање клијавости свежег полена, енергије клијања и евидентирање учешћа аномалних зrna.

За утврђивање клијавости полена и дужине поленових цеви коришћена је Колболова метода. Полен је засејаван на кап - шест различитих концентрација сахарозе у дестилованој води: 0, 5, 10, 15, 20 и 25%. Клијавост полена одређивана је 24 сата након засејавања, на видном пољу микроскопа које је обухватало око 100 поленових зrna. водећи при томе рачуна да дужина поленове цеви буде већа од 1 ширине поленовог тела. Клијавост полена је израчуната као однос клијавих зrna у односу на њихов укупан број у видном пољу микроскопа, док средња вредност процента клијавости полена представља просек процента клијања полена у три капи на свакој од концентрација.

Дужина поленових цеви, која представља енергију клијања полена, мерена је 48 сати након засејавања, на узорку од 15 поленових зrna, при чему је евидентирано и учешће аномалних - двоструко исклијалих зrna. Добијени подаци за клијавост полена и дужине поленових цеви обрађени су класичним статистичким методама.

3. ВАРИЈАБИЛНОСТ КЛИЈАВОСТИ СВЕЖЕГ ПОЛЕНА

Средња вредност процента клијавости полена, 8 индивидуа одобраних за очеве, приказана је у таблици 1. На основу добијених резултата може се констатовати да је проценат клијавости свежег полена највећи на концентрацији сахарозе од 5 и 10%, где просечна вредност за анализиране индивидуе износи 72,97%, односно 82,60%. Мању клијавост полен има на концентрацијама сахарозе од 15, 20 и 25%, где просечна вредност за 8 анализираних индивидуа износи 67,75%, 65,22%, односно 62,04%. Најмању клијавост полен има на концентрацији сахарозе од 0% и она

Табела 1. Варијабилност клијава полена на различитим концентрацијама сахарозе код 8 индивидуа полинатора**Table 1.** Variability of pollen germination at different sucrose concentrations, in 8 pollinator trees

Ознака индивидуе Individual	Клијавост полена Pollen germinability											
	0%		5%		10%		15%		20%		25%	
	X	V	X	V	X	V	X	V	X	V	X	V
1Φ1/1	5,67	71,31	85,91	14,47	94,73	5,41	62,32	3,23	54,65	50,08	62,32	3,23
1Φ1/2	21,29	41,42	70,29	4,19	66,74	26,29	81,65	6,93	84,65	3,69	84,09	16,64
1Φ1/3	3,85	99,20	88,47	6,82	89,39	10,58	84,00	15,75	68,64	9,10	85,96	6,42
1Φ1/4	62,20	11,33	76,67	30,43	96,77	26,44	67,09	29,66	68,61	14,50	70,49	13,57
1Φ7/1	14,58	57,07	51,73	63,96	73,94	25,15	67,63	16,68	48,68	18,40	51,85	32,73
1Φ7/2	0	0	85,35	2,04	86,11	5,38	77,44	13,49	70,62	19,52	54,07	44,79
1Φ7/3	5,67	93,72	55,00	32,77	76,01	13,00	65,72	33,53	46,53	25,46	35,67	42,89
1A1	65,16	8,80	63,15	27,47	77,08	20,40	66,13	19,91	79,44	5,28	51,92	42,40

износи у просеку 22,30%. Према вредностима процента клијавости полена, индивидуа одабраних за полинаторе, може се констатовати присуство високог процента клијавости код свих анализираних индивидуа, што је добар основ за успешно опрашивавање. На основу процента клијања полена на различитим концентрацијама воденог раствора сахарозе може се закључити да највећи проценат клијања имају индивидуе које припадају истој линији полуједнодомника - 1Φ1 и то индивидуе 1Φ1/3 (на концентрацијама 5%, 15% и 25%), 1Φ1/2 (на концентрацијама 15%, 20% и 25%), 1Φ1/1 (на концентрацијама 5% и 10%) и 1Φ1/4 (на концентрацији од 10%). Индивидуе 1Φ7/1 и 1Φ7/2 које припадају линији полуједнодомника 1Φ7, имају нешто мање вредности процента клијања полена, посматрано одвојено за сваку концентрацију, док индивидуа 1Φ7/3 из исте линије, имају најмање вредности процента клијања, на концентрацијама 0%, 5%, 10%, 20% и 25%, од свих 8 анализираних индивидуа. Клијавост полена индивидуе 1A1 је висока (релативно високе вредности процента клијања).

Подаци добијени у овим испитивањима подударају се са резултатима ранијих истраживања клијавости свежег полена оморике, на популационом и индивидуалном нивоу, где је констатовано да је клијавост полена највећа на концентрацијама сахарозе у воденом раствору од 5, 10, 15 и 20%. (Грбовић Б., Исајев В., 1997, Грбовић Б., 1998). У поређењу са резултатима наведених истраживања, где се наводи да је „средња“ клијавост, на популационом нивоу, у две године истраживања износила 47,3%, а за најбољу подлогу (10%-ни раствор сахарозе) 60,93%, односно да се клијавост полена из индивидуалном нивоу кретала од 24,69-72,28%, може се констатовати да се полен индивидуа које су одabrani за полинаторе одликује врло високим степеном клијавости, што потврђује правилан избор индивидуа полинатора и даје добру основу за успешно спровођење контролисане хибридијације.

Сумирајући резултате клијавости полена 8 индивидуа полинатора, може се констатовати да на концентрацијама сахарозе од 5,10,15,20 и 25% све тестиране индивидуе показују клијавост већи од 40%, што се, према подацима Cellahman-a, Duffield-a (1961) и Kirby-a, Stenley-a (1976) (Грбовић Б., 1988), сматра неопходним минимумом клијавости полена *in vitro* тестовима за нормано заметање семена.

4. ВАРИЈАБИЛНОСТ ДУЖИНЕ ПОЛЕНОВИХ ЦЕВИ - ЕНЕРГИЈЕ КЛИЈАЊА

Варијабилност дужине поленових цеви, што се сматра параметром енергије клијања, индукован различитим концентрацијама сахарозе, приказан је у табели 2. Највеће средње вредности дужине поленових цеви констатоване су на концентрацији сахарозе од 5 и 10%, где њихова просечна вредност за 8 анализираних индивидуа износи 141,94, односно 138,35 μm , док је најмања вредност овог параметра забележена на концентрацији од 20%, где је средња вредност 57,99 μm .

Посматрајући варијабилност дужине поленових цевчица на индивидуалном нивоу, може се констатовати да највеће вредности овог параметра има полен индивидуе 1Ф7/3 (на концентрацијама од 0, 5, 10, 15 и 25%), 1А1 (на концентрацијама од 0, 10, 20 и 25%) и 1Ф1/1 (на концентрацијама од 5, 10 и 20%). Најмање вредности овог својства забележене су код полена индивидуе 1Ф7/1 (на концентрацијама од 10, 20 и 25%).

Добијене вредности дужине поленових цеви 8 индивидуа полинатора, за најбољу подлогу, крећу се у дијапазону од 114,53-201,89 μm (на концентрацији од 5%), односно од 70,44-298,68 μm (на концентрацији од 10%).

На основу литературних података сва стабла са дужином поленових цеви већом од 100 μm могу се сматрати продуцентима полена са добром енергијом клијања,

Табела 2. Варијабилност дужине поленових цеви, индивидуа полинатора

Table 2. Variability of pollen tube lengths in pollinators

Ознака индивидуе Individuals	Дужина поленових цеви (μm) Pollen tube length (μm)											
	0%		5%		10%		15%		20%		25%	
	X	V	X	V	X	V	X	V	X	V	X	V
1Ф1/1	54,08	25,51	159,18	15,84	132,84	18,54	89,57	12,64	73,77	44,47	54,08	19,50
1Ф1/2	74,88	17,31	114,53	17,13	70,44	16,01	121,74	23,22	64,06	31,31	74,60	26,61
1Ф1/3	0	0	121,19	20,00	99,84	21,36	74,32	17,68	58,24	36,52	62,95	25,08
1Ф1/4	68,22	22,32	123,14	45,39	103,44	24,17	57,96	19,27	46,59	34,11	105,94	20,71
1Ф7/1	62,95	26,53	161,68	19,22	68,50	33,33	65,72	22,09	36,61	30,73	41,04	26,22
1Ф7/2	86,80	24,49	138,39	23,26	105,38	16,38	85,69	12,81	59,34	32,92	57,13	30,45
1Ф7/3	154,47	12,82	201,89	20,80	227,69	32,94	90,96	26,14	56,85	22,58	75,43	36,39
1А1	77,37	33,37	115,64	50,10	298,68	95,67	59,62	23,53	68,50	26,25	148,10	29,39



Слика 1. Учешће аномалних зрна - двоструко исклијала поленова зrna

Figure 1. Percentage of abnormal - double germinated pollen grains

јер што је ДПЦ већа може се очекивати већа ефикасност у процесу оплодјења. ДПЦ индивидуа полинатора највећа је на концентрацијама од 5 и 10%, где је у 80% случајева ДПЦ већа од $100 \mu m$, на основу чега се можемо очекивати добра ефикасност у процесу оплођења поленом ових индивидуа.

5. УЧЕШЋЕ АБНОРМАЛНИХ ЗРНА

Приликом мерења дужине поленових цеви, евидентирано је и учешће аномалних - двоструко исклијалих зрна (слика 1), која су нетипична и, према Јованчићу М. (1962), стерилна. Исти аутор је констатовао њихово учешће код неких шумских врста: оморике 5,2%, врбе 4,0%, китњака 5,0%, лужњака 20%.

Њихова функционалност није посебно испитана, али се зна да њихово присуство смањује укупну клијавост, а самим тим и мења количину квалитетног полена.

У полену 8 анализираних индивидуа, двоструко исклијала поленова зrna констатована су код индивидуа: 1Φ1/1, 1Φ1/2 и 1Φ1/3, са процентуалним учешћем не већим од 5%, што није имало битног утицаја на смањење његове клијавости. Напротив, код ових индивидуа забележене су највеће вредности процента клијавости.

6. ЗАКЉУЧАК

Обављена морфо-физиолошка анализа полена 8 стабала полинатора показала је да свих 8 узорака има: (1) клијавост свежег полена већу од 40%, што се према литературним подацима сматра неопходним минимумом клијавости полена за нормално заметање семена, (2) дужину поленових цеви већу од 100 μ, на основу чега се може очекивати добра ефикасност у процесу оплођења поленом ових индивидуа и (3) учешће аномалних зрна не веће од 5%, што није имало утицаја на смањење клијавости полена.

ЛИТЕРАТУРА

- Грбовић Б. (1998): Проучавање морфолошко-физиолошке варијабилности „тест“ стабала оморике (*Picea omorika /Pančić/Purkyne*) из семенске културе на Белој земљи, магистарска рад у рукопису, Шумарски факултет Универзитета у Београду, Београд (1-179)
- Grbović B., Isajev V. (1997): Variability of pollen viability of 25 Serbian Spruce (*Picea omorika /Pančić/Purkyne*) test trees, The 3rd International conference on the development of forestry and wood science/technology, Volume II, Belgrade (64-74)
- Исајев В. (1987): Оплемењивање оморике (*Picea omorika /Pančić/Purkyne*) на генетско-селекционим основама, докторска дисертација у рукопису, Шумарски факултет Универзитета у Београду, Београд (1-321)
- Јованчевић М. (1962): Одређивање клијавости полена шумског дрвећа према величини, облику и броју поленових зрнаца, Народни шумар 10-12, Сарајево (493-501)
- Шијачић-Николић М. (2001): Анализа генетског поетенцијала генеративне семенске плантаже оморике (*Picea omorika /Pančić/Purkyne*) применом контролисане хибридизације линија полуједногодишњака, докторска дисертација у рукопису, Шумарски факултет Универзитета у Београду, Београд (1-160)

Mirjana Šijačić-Nikolić
Vasilije Isajev

IMPORTANCE OF MORPHO-PHYSIOLOGICAL PROPERTIES OF SERBIAN SPRUCE (*Picea omorika/Panč./Purkyne*) POLLEN FOR INTERSPECIES HYBRIDISATION

Summary

Starting from the significance of pollen quality in the controlled hybridisation, we studied pollen germination of Serbian spruce test-trees in several half-sib lines incorporated in a 20-year seed orchard. The selection of half-sib lines and genotypes in them was performed based on long-term analyses which confirmed their predominantly „male“ functionality.

Fresh pollen germinability was assessed by Kobel's method, pollen was seeded on a drop with six different concentrations of saccharose in distilled water: 0, 5, 10, 15, 20 and 25%. In

addition to the analysis of the dynamics and quality of pollen germination, we also measured the variability of pollen tube length.

The study results on the same and on different concentrations of saccharose show a great, both interlinear and intralinear variability of pollen germination percentage and of pollen tube length. The highest percentage of pollen germination and pollen tube length was recorded on saccharose concentrations of 5 and 10%, in all test-trees.

The study data will be used as a starting point in the selection of pollinator trees for the controlled hybridisation.