

**SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA
V NITRE**

FAKULTA AGROBIOLÓGIE A POTRAVINOVÝCH ZDROJOV

2118833

DIPLOMOVÁ PRÁCA

**REPRODUKČNÁ BIOLÓGIA VYBRANÝCH DRUHOV RODU
COTONEASTER L.**

2010

Silvia Mravcová, Bc.

SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA
V NITRE
FAKULTA AGROBIOLÓGIE A POTRAVINOVÝCH ZDROJOV

REPRODUKČNÁ BIOLÓGIA VYBRANÝCH DRUHOV
RODU *COTONEASTER* L.

Diplomová práca

Študijný program: Genetické technológie v agrobiológii

Študijný odbor: 6.1.1. Všeobecné poľnohospodárstvo

Školiace pracovisko: Katedra botaniky

Školiteľ: Ing. Ľuba Ďurišová, PhD.

Konzultant: doc. RNDr. Tibor Baranec, CSc.

Nitra 2010

Silvia Mravcová, Bc.

SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA
V NITRE
FAKULTA AGROBIOLÓGIE A POTRAVINOVÝCH ZDROJOV
Katedra botaniky

Akademický rok: 2009/2010

ZADÁVACÍ PROTOKOL DIPLOMOVEJ PRÁCE

Študent: Silvia Mravcová
Študijný program: Genetické technológie v agrobiológii

V zmysle 3. časti, čl. 21 Študijného poriadku SPU v Nitre z roku 2002 Vám zadávam tému diplomovej práce:

Reprodukčná biológia vybraných druhov rodu *Cotoneaster* L.

Cieľ práce:

Získanie teoretických poznatkov z oblasti reprodukcie krytosemenných rastlín, praktických zručností prípravy a hodnotenia trvalých mikroskopických preparátov a získanie poznatkov z reprodukčnej biológie druhov rodu *Cotoneaster* L.

Rámcová metodika práce:

Diplomová práca je experimentálneho charakteru. Experimentálne práce zahŕňajú spracovanie rastlinného materiálu na cytoembryologické analýzy a prípravu a vyhotovenie trvalých mikroskopických preparátov.

Rozsah grafických prác:

Rozsah textovej časti: 57 strán

Odporúčaná literatúra:

ERDELSKÁ, O. 1981. Embryológia krytosemenných rastlín.

JOHRI, B. M. et al. 1992. Comparative Embryology of Angiosperms.

Vedúci diplomovej práce: Ing. Ľuba Ďurišová, PhD.

Konzultant diplomovej práce: doc. RNDr. Tibor Baranec, CSc.

Dátum zadania práce: september 2008

Harmonogram postupu prác:

september 2008 - október 2009: príprava trvalých mikroskopických preparátov

október 2009 – február 2010: vyhodnocovanie trvalých mikroskopických preparátov

marec 2010: písomné vypracovanie diplomovej práce

Dátum odovzdania diplomovej práce: apríl 2010

doc. RNDr. Tibor Baranec, CSc.

Vedúci katedry

prof. Ing. Daniel Bíro, Csc.

Dekan

Čestné vyhlásenie

Podpísaná Silvia Mravcová vyhlasujem, že som záverečnú prácu na tému „Reprodukčná biológia vybraných druhov rodu *Cotoneaster* L.“ vypracovala samostatne s použitím uvedenej literatúry.

Som si vedomá zákonných dôsledkov v prípade, ak hore uvedené údaje nie sú pravdivé.

V Nitre 9. apríla 2010

Pod'akovanie

Touto cestou chcem poďakovať Ing. Ľube Ďurišovej, PhD. a doc. RNDr. Tiborovi Barancovi, CSc. za pomoc a odborné rady pri riešení diplomovej práce.

Abstrakt

Cieľom predkladanej diplomovej práce bolo pomocou mikroskopických pozorovaní objasniť zakladanie a vývin reprodukčných orgánov skalníka čiernočerveného (*Cotoneaster alaunicus* Golitsin) rastúceho pri Ružomberku a vzácného druhu našej dendroflóry – skalníka matranského (*Cotoneaster matrensis* Domokos), rastúceho v xerofytných krovinatých spoločenstvách Zobora.

Zistili sme, že reprodukčné orgány skalníkov sa v kvetných púčikoch zakladajú v priebehu leta. Dormantné púčiky obsahujú peľnice so samčím archespórom a piestik, v ktorého semenníku sa nachádzajú základy vajícok bez bližšej diferenciácie. V púčikoch z polovice februára sme v peľniciach pozorovali prítomnosť sporogénneho pletiva obklopeného tvoriacou sa tapetovou vrstvou. V niektorých púčikoch sa vyskytovala degenerácia peľových komôrok alebo degenerácia tapetovej vrstvy. Vo vývine samčieho gametofytu sme zaznamenali asynchrónnosť, ktorá sa prejavovala rozličnými vývinovými štádiami v rámci jednej peľnice, alebo v rámci celého kvetu. Okrem toho sme zaznamenali aj ojedinelý výskyt peľníc v štádiu archespóru v púčikoch, ktorých väčšina peľníc už obsahovala jednojadrové peľové zrná.

Podľa našich pozorovaní mikrosporogenéza *C. matrensis* na lokalite Zobor počas rokov sledovania 2007-2008 prebiehala v druhej polovici marca a diferenciácia dvojbunkových peľových zŕn bola ukončená až koncom apríla. Zistili sme, že stena zrelej peľnice sa skladá z jednovrstvovej pokožky - exotécia, podpokožkovej vrstvy - endotécia s bohato vyvinutými fibróznymi zhrubnutinami a dvoch stredných vrstiev. Okrem peľníc, ktoré obsahovali dostatočné množstvo normálne vyvinutých peľových zŕn sa vyskytovali aj peľnice s veľkostne nevyrovnaným peľom.

Zistili sme, že počas vývinu zárodočného mieška *C. matrensis* dochádzalo k rôznym poruchám počas megasporogenézy a megagametogenézy, čo indikovali degenerované zvyšky archespóru, megaspór aj zárodočných mieškov. Okrem jedného, najčastejšie multiplikatívneho zárodočného miešku, sme zaznamenali aj prítomnosť dvoch zárodočných mieškov, z ktorých jeden bol často degenerovaný.

Zistené poruchy vo vývine samčieho a samičieho gametofytu vedú k obmedzenej tvorbe generatívnych diaspór pohlavnou cestou a ako alternatíva generatívnej reprodukcie je pri *C. matrensis*, ktorý je hybridného pôvodu (*C.integerrimus* x *C.niger*), spôsob vzniku plodov cestou apomixie.

Abstrakt

The main goal of this diploma work was to clarify establishing and formation of reproduction organs of *Cotoneaster alaunicus* Golitsin growing near Ružomberok and the rare species of our dendroflora – *Cotoneaster matrensis* Domokos, growing in xerothermic biotopes of the Zobor bushes.

We find that the reproduction bodies of the *Cotoneaster* are establishing in flower buds during the summer. Resting buds contains anthers with male archesporium and the pistil. There are the basis of ovule without closer differentiation in this pistil. We observed the presence of the sporogenous tissue surrounded by the creating layer of tapetum in the half-February buds. There is the degeneration of the microsporangia or the degeneration of the tapetum in any buds. We spotted an asynchronism during the growth of the male gametophyt. This asynchronism express itself with various growth phases in the cadre of one anther or in the whole flower. We also noted down odd presence of the anthers in the phase of archesporium in the buds. In this buds, major part of the anthers contain one-centro-core pollen grains.

According to our observations microsporogenesis *C. matrensis* was in progres in the locality of the Zobor during the second half of March in two seasons of our observations – 2007 and 2008. The differentiation of the two-celled pollen grains was finished as late as the end of April. We find that the cell wall of the fully-grown anther is made of one-layer epidermis – exothecium, hypodermal layer – endothecium with rich-grown fibrous thickenings and two middle layers. There were anthers with adequate quantity of normaly grown pollen grains, but there were anthers with formless pollen.

We spotted a various defects during the growth of the embryo sac during megasporogenesis and megagametogenesis. This detection was indicated by the degenerated rests of the archesporium, megaspores and embryo sacs. Except one most frequent multiple embryo sac, we mark the presence of two embryo sacs. One of them was degenerated many times.

Discovered defects of the growth of the male and female gametophyte conduce to limited production of the generative diaspores in gamic form. By this genus, which has a hybrid origin (*C. integerrimus* x *C. niger*), there is an alternative of the generative reproduction. Fruit originates from aposporous embryo sac, too.

Obsah

Úvod	10
1 Literárny prehľad	11
1.1 Reprodukčný cyklus	11
1.1.1 Kvet	11
1.1.2 Samičí gametofyt	13
1.1.3 Samčí gametofyt	16
1.1.4 Oplodnenie	18
1.1.5 Vývin embrya	20
1.1.6 Apomixia	24
1.2 Embryologická charakteristika čeľade <i>Rosaceae</i> L	25
1.3 Súčasný stav štúdia rodu <i>Cotoneaster</i> L	28
2 Cieľ práce	32
3 Materiál a metodika práce	33
3.1 Biologická charakteristika rodu <i>Cotoneaster</i> L	33
3.2 Odber a spracovanie rastlinného materiálu	37
4 Výsledky práce.....	44
5 Diskusia.....	50
6 Záver.....	52
7 Návrh na využitie poznatkov.....	53
8 Použitá literatúra	54
Príloha	

ÚVOD

Rozmnožovanie je základným prejavom všetkých živých organizmov. V organizme jednej generácie vzniká v istej fáze vývinu základ jedného alebo viacerých organizmov ďalšej generácie. Generatívna reprodukcia druhu patrí k nevyhnutným podmienkam zachovania druhovej variability, genetickej kontinuity a rekombináciou génov sa druh ďalej vyvíja, aby sa prispôbil zmenám vonkajších podmienok. Akékoľvek narušenie tohto najvýznamnejšieho evolučného procesu môže spôsobiť ohrozenie existencie a vývoja druhu a populácie. V dôsledku veľmi rýchlych a silných zmien ekologických podmienok sa počas fylogenetického vývoja vyvinula popri pohlavnej reprodukcii aj schopnosť nepohlavného rozmnožovania, ako alternatívny spôsob prežitia v danom prostredí.

Krovinné spoločenstvá s nezastupiteľnou úlohou skalníkov, sú dôležitou a jedinečnou zložkou rastlinného spoločenstva – vegetácie. V rámci xerothermných biotopov Slovenska je na vápenatých substrátoch (vápence, dolomity, travertíny) častý skalník plstnatý (*Cotoneaster tomentosus*) a skalník čiernoplodý (*C. melanocarpus*), na neovulkanických horninách (andezitoch) je častý skalník čiernoplodý (*C. niger*) a skalník matranský (*C. matrensis*) (David et al., 2007). Na Slovensku sa s krovinami stretáme takmer všade, a preto je konfúzne ich štúdium, sledovanie a ochrana. Musíme si však uvedomiť, že tento nenahraditeľný genetický zdroj pre ostatné generácie sa nám pred očami stráca. Z dendroflóry Slovenska (260 druhov) je akútne ohrozených 40 a ďalších 30 druhov môže byť potenciálne ohrozených (Baranec, 1990). A práve dreviny zohrávajú kľúčovú úlohu pri ekologickej stabilite krajiny.

1 LITERÁRNY PREHĽAD

1.1 REPRODUKČNÝ CYKLUS KRYTOSEMENNÝCH RASTLÍN

Základnou vlastnosťou všetkých živých systémov je schopnosť rozmnožovať sa. V organizme jednej generácie vzniká v určitej fáze vývinu základ jedného alebo viacerých organizmov ďalšej generácie vo forme zárodkov – embryí. Embryá krytosemenných rastlín vznikajú obyčajne pohlavnou cestou, ktorej predchádza najskôr vývin samčích a samičích pohlavných buniek a ich splynutie v procese oplodnenia. Môžu sa však vyvíjať aj nepohlavne, a to apomikticky.

Životný cyklus krytosemnej rastliny začína klíčením embrya ukrytého v semene, pokračuje sformovaním podzemných a nadzemných vegetatívnych a neskôr generatívnych orgánov. Končí sa vývinom plodov so semenami, v ktorých sú embryá novej generácie. I u semenných rastlín sa rozlišuje pohlavná a nepohlavná generácia – gametofyt a sporofyt.

Sporofyt je tvorený pletivami všetkých vegetatívnych orgánov a väčšinou pletív generatívnych orgánov. Predstavuje diploidnú nepohlavnú generáciu rastliny. Gametofyt je redukovaný v porovnaní so sporofytom a tvoria ho haploidné bunky. V záverečnej fáze vývinu gametofytu vznikajú samčie a samičie pohlavné bunky. Gametofyt je fyziologicky závislý od produktov metabolizmu sporofytu, ktorého pletivá ho zároveň chránia a izolujú od vonkajších vplyvov prostredia (Erdelská, 1984).

1.1.1 KVET

Gametofyt krytosemenných rastlín sa vyvíja v generatívnom orgáne (*flos*). Je tvorený súborom vysoko špecializovaných fertílých a sterilných fylómov usporiadaných na rozšírenom kvetnom lôžku, ktoré sa priamo alebo nepriamo zúčastňujú pohlavného rozmnožovania. Kvitnutie u rastlín je viazané na určité vývinové štádium. Jednotlivé kvetné časti sa zakladajú na kvetnosnom vrchole v podobe drobných hrbolčekov, obyčajne v akropetálnom poriadku. Najskôr sa zakladajú kvetné obaly, potom tyčinky a nakoniec piestiky. Kvetná stonka je tvorená kvetným lôžkom a kvetnou stopkou. Kvetné lôžko (*torus*) je rozšírený apikálny koniec kvetnej stopky, na

ktorom sú v špirále alebo v kruhoch usporiadané kvetné časti. Najmä u entomofilných druhov sa môžu na ňom vytvárať rozličné žľaznaté útvary vylučujúce nektár – nektária. Podľa pohlavia sa kvety rozdeľujú na obojpohlavné (monoklinické) a jednopohlavné (diklinické). Podľa prítomnosti jedného alebo oboch typov jednopohlavných kvetov na jednej rastline rozlišujeme rastliny dvojdomé (dioické) a jednodomé (monoické). Existujú aj polygamické a sterilné kvety. Podľa usporiadania kvetných častí rozlišujeme acyklické, hemicyklické a cyklické kvety. Podľa súmernosti sa rozlišujú kvety asymetrické, zygomorfne, bisymetrické a aktinomorfne. Kvetný obal môže byť nerozlíšený (*perigonium*) – homochlamydeické kvety, alebo je rozlíšený na kalich (*calyx*) a korunu (*corolla*) – heterochlamydeické kvety. Monochlamydeické kvety sú také, u ktorých zanikol buď kalich (aposepálne) alebo koruna (apopetálne). Kvety nahé s abortovanými kvetnými obalmi sú achlamydeické.

Tyčinka (*stamen*) predstavuje metamorfované samčie výtrusné listy (mikrosporofyly), ktorých čepeľ je značne redukovaná a súbor mikrosporangií zrástol a vytvoril peľnicu (mikrosynangiá). Tyčinka je rozlíšená na nitku (*filamentum*) a peľnicu (*anthera*). Nitka predstavuje redukovanú čepeľ sporofylu a prebieha ňou obyčajne jeden cievny zväzok. Peľnica je tvorená obyčajne dvomi peľnicovými váčkami (*thecae*), ktoré sú spojené spájadlom (*connectivum*). Každý peľnicový váčok má dve peľové komôrky (*loculamentum*), ktoré väčšinou neskôr splývajú. V nich vznikajú peľové zrná (*grana pollinis*). Súbor tyčiniek v kvete sa nazýva andreceum. U niektorých druhov (lekno, čemerica) sa vyvíjajú okrem normálnych fertílých tyčiniek aj neúplne vyvinuté, sterilné tyčinky – patyčinky (*staminodia*).

Plodolisty sú samičie výtrusné listy (megasperofyly), ktoré zrástli do dutého útvaru – piestika, ktorý vnútri uzatvára vajíčka. Piestik (*pistillum*) sa skladá zo semenníka (*ovarium*), čnelky (*stylus*) a blizny (*stigma*). Súbor plodolistov v kvete sa nazýva gyneceum. To môže byť apokarpné, ak sa v kvete nachádza väčší počet jednoplodolistových piestikov, alebo cenokarpné, ak viacero plodolistov zrástlo do jedného piestika. Podľa spôsobu zrastu sa rozlišujú tri typy cenokarpného gynecea. Synkarpné vzniká z apokarpného gynecea bočným zrastom susedných plodolistov, semenník je potom priehradkami rozdelený na niekoľko púzdier, ktorých počet zodpovedá počtu plodolistov. Plodolisty parakarpného gynecea sú zrastené len svojimi okrajmi, takže semenník je jednopuzdrový. Lyzikarpné gyneceum vzniklo zo synkarpného, ktorého priehradky sa rozpustili a v strede sa zachoval iba stĺpik upevňujúci vajíčka. Semenník je pri tomto type taktiež jednopuzdrový. Blizna slúži na

zachytávanie peľových zŕn a ich stimuláciu pri klíčení. Z funkčného hľadiska rozoznávame suché a vlhké blizny, pokryté v čase zrelosti tekutým adhezívnym exudátom. Čnelka umožňuje prerastanie peľového vrecúška k vajíčkam. V semenníku sa nachádza jedno alebo viac vajíčok uložených na semenici (*placenta*). Umiestnenie vajíčka na placente – placentácia závisí od typu gynecea. Typy placentácie: laminálna, marginálna, suturálna, bazálna. Postavenie semenníka v kvete môže byť vrchné, polospodné alebo spodné.

1.1.2 SAMIČÍ GAMETOFYT

Samičí gametofyt krytosemenných rastlín je niekoľkobunkový útvar, tzv. zárodočný miešok, ktorý sa vyvíja vo vajíčku (*ovulum*) uloženom v piestiku kvetu. Piestik alebo súbor piestikov – gynéceum sa obvykle zakladá v centre kvetného základu. V čase zrelosti je tvorený semenníkom, čnelkou a bliznou. Vnútornej povrch semenníka vystieľa pletivo placenty, v ktorom sa zakladajú vajíčka v podobe meristematického hrbolčeka. Počet vajíčok v semenníku sa pohybuje od 1 až po veľké množstvo. Zo stredu meristematického základu vajíčka sa vyvinie základné pletivo nucelus. Z obvodu meristematického základu sa vyvinú dva integumenty a z bázy funikulus, ktorý spája vajíčko so semenicom a prechádza ním cievny zväzok vyživujúci vajíčko. Vajíčko je rozdelené na dva póly. V mikropylárnej oblasti vajíčka je v integumentoch voľný kanálik (*mirkopyla*), cez ktorý prerastá peľové vrecúško k zárodočnému miešku a zvyčajne neskôr slúži aj ako kľúčny otvor semena. V chalazálnej oblasti končí vyživujúci cievny zväzok. Vývin vajíčka je v počiatkových fázach priamy, avšak iba pri malom počte druhov pokračuje v priamom raste. Pri väčšine druhov sa vajíčka ohýbajú. Ak je vajíčko orientované tak, že pútko, chaláza a mikropyla ležia na jednej priamke, jedná sa o ortotropný typ vajíčka. Najčastejšie sa vyskytuje anotropný typ, kedy leží chaláza a mikropylárny pól na jednej priamke, ale pútko leží na vedľajšej rovnobežnej priamke. Medzi týmito dvoma základnými typmi je niekoľko prechodných typov (Erdelská, 1984).

V nuceli vajíčka sa vyvíja zárodočný miešok. Pri krasinucelátnych vajíčkach je nucelus tvorený mnohobunkovým pletivom. Pri tenuinucelátnych len jednou vrstvou buniek, z ktorej v čase zrelosti ostáva len jedna bunka alebo malý počet buniek (Erdelská, 1984). Podľa Davisovej (1966) sú krasinucelátne tie vajíčka, pri ktorých

archesporová bunka oddeľuje primárnu parietálnu bunku bez ohľadu na to, či sa táto bunka ďalej delí, alebo nie. V tenuinucelátnych vajíčkach sa archesporová bunka nedelí a priamo sa mení na megasporocyt. U pseudokrasinucelátnych vajíčkach sa netvorí primárna parietálna bunka, ale apikálne bunky nucelovej epidermy sa periklinárne delia a utvárajú nucelovú čiapočku. Úplne vyvinutý nucelus krasinucelátnych vajíčok je rozlíšený na kutikulou pokrytú epidermu a základné pletivo. Bunky nucela bývajú často viacjadrové alebo polyploidné. Hromadia sa v nich zásobné látky, najmä škrob, ktoré sa počas vývinu zárodočného mieška a neskôr aj embrya spotrebúvajú. U niektorých druhov (*Piperaceae*) sa časť buniek nucela zachováva v zrelom semene ako zásobné pletivo perisperm. Pri tenuinucelátnych vajíčkach je nucelus tvorený len epidermou, ktorá môže degenerovať už v čase meiózy megasporocytov. Bunky nucela susedia so zárodočným mieškom môžu byť základom adventívnych embryí. V chalazálnej oblasti zárodočného mieška sa bunky nucela môžu diferencovať na špeciálne pletivo – hypostázu, ktorého funkciami je urýchľovať transport živín a stabilizácia obsahu vody v dormantných semenách (Erdelská, 1984).

Vajíčka sú zvyčajne obalené jedným integumentom (unitegmické vajíčka) alebo dvoma integumentami (bitegmické vajíčka). Zriedka sa vyskytujú holé vajíčka bez integumentov. V mikropylárnej oblasti je v integumentoch otvor – mikropyla. Vo vonkajšom integumente sa otvor označuje ako exostóm, vo vnútornom endostóm. Cez ne prerastá peľové vrecúško k zárodočnému miešku a neskôr slúži často ako kľúčny otvor semena (Erdelská, 1984). V niektorých prípadoch mikropyla resp. exostóm alebo endostóm celkom chýbajú. Spôsobuje to fúzia jedného alebo oboch integumentov, alebo je príčinou skrátený nekompletný vývin vonkajšieho integumentu (Muniyamma et Phipps, 1979a). Bunky integumentov sú obyčajne pokryté kutikulou, môžu obsahovať chlorofyl alebo antokyány, prechodne sa v nich hromadia zásobné látky a v ich pokožke môžu byť normálne alebo rudimentálne prieduchy. Po oplodnení sa integumenty diferencujú na obal semena – osemenie. Z integumentového pletiva sa u niektorých druhov vyvíjajú rôzne útvary uľahčujúce rozširovanie semien, napr. *ariloid*, *arilus*, *caruncula* alebo štica (*coma*) (Poddubnaja-Arnol'di, 1964).

Megasporogenéza je proces vzniku haploidnej megaspóry, z ktorej sa vyvíja zárodočný miešok. Začína prebiehať v centre subepidermálnej vrstvy ešte meristematického nucela. Tu sa vyčleňuje 1,2 alebo viac zvláštnych buniek tvoriacich samičí archespor. Archesporová bunka, ako i jej jadro sú väčšie, má vyvinutejší membránový systém a množstvo málo diferencovaných mitochondrií a plastidov.

U tenuinucelátnych vajíčkach sa archespórová bunka priamo vyvíja na megasporocyt (Davis, 1966). U krasinucelátnych sa mitoticky delí a vznikajú obvodové krycie bunky a v strede sú sporogénne bunky, ktoré sa vyvíjajú bez ďalšieho delenia na megasporocyty. Archespórové bunky, ako aj megasporocyty vykazujú aktívnu proteosyntézu. Vo vajíčkach väčšiny druhov sa vyvíja iba jeden megasporocyt, aj keď je mnohobunkový archespór. Vývoj megasporocytu pokračuje meiózou, vtedy sa označuje ako meiocyt. Výsledkom meiózy je tetráda haploidných megaspór. Priestorové usporiadanie tetrády môže byť lineárne, v tvare písmena T, tetraedrické alebo izobilaterálne. Väčšinou len jedna megaspóra sa vyvíja na zárodočný miešok, ostatné degenerujú. Megaspóra intenzívne rastie, má aktívnu proteosyntézu, obsahuje dostatok zásobných látok a má pomerne veľké vakuoly.

V procese megagametogenézy z materskej bunky zárodočného mieška – megaspóry vzniká zárodočný miešok so samičou pohlavnou bunkou – oosférou. Ak zárodočný miešok vznikne z jednej megaspóry, ide o monosporický zárodočný miešok. Vyskytuje sa aj bisporický a tetrasporický zárodočný miešok (multiplikatívne). Jadro vakuolizovanej megaspóry je primárnym jadrom zárodočného mieška, ktoré sa mitoticky delí a vzniká 2-jadrový zárodočný miešok. V tomto štádiu sa zárodočný miešok polarizuje. Bipolárny zárodočný miešok má jadrá na protilahlých póloch a stred vyplnený vakuolou, v monopolárnom sa obe jadrá nachádzajú v mikropylárnej oblasti a v chalazálnej oblasti je vakuola. Tetra- a polyploidný zárodočný miešok má viacero skupín jadier a polyploidné centrálné jadro. Podľa počtu megaspór, ktoré sa zúčastňujú na tvorbe zárodočného mieška, a polarizácie rozoznávame niekoľko typov zárodočných mieškov. Mono- a bisporické zárodočné miešky môžu byť monopolárne a bipolárne. Tetrasporické zárodočné miešky môžu byť bipolárne, tetrapolárne a polypolárne. Najrozšírenejší je typ *Polygonum* – monosporický a bipolárny. Po druhom a treťom delení vzniká 8-jadrový zárodočný miešok. Končí sa cenocytická fáza vývinu zárodočného mieška a nastáva celularizácia, pri ktorej sa najskôr v chalazálnej časti vyčlenia tri bunky – antipódy a potom sa v mikropylárnej oblasti z centrálnej bunky vyčlenia dve synergidy a vajcová bunka, ktoré spolu tvoria vajcový aparát. V centrálnej oblasti sa sústreďujú dve jadrá – jedno z chalazálnej oblasti a druhé, sesterské jadro vajcovej bunky z mikropylárnej oblasti. Jadrá tetrasporických zárodočných mieškov sa delia len raz (Erdelská, 1984).

Najčastejší typ zrelého zárodočného mieška je niekoľkobunkový útvar pozostávajúci z obrovskej centrálnej bunky, troch antipód v chalazálnej oblasti

a vajcového aparátu v mikropylárnej oblasti. Väčšinou z neho vyrastajú haustoriálne výbežky do nucela.

Celý obsah zárodočného mieška medzi vajcovým aparátom a antipódami vyplňa centrálna bunka. Vykazuje vysokú biologickú aktivitu. Zo začiatku má dve haploidné polárne jadrá, ktoré časti už pred oplodnením splývajú do jedného gigantického diploidného centrálného jadra. To sa po oplodnení stáva primárnym jadrom endospermu (Erdelská, 1984).

1.1.3 SAMČÍ GAMETOFYT

V tyčinkách (*stamen*), samčích rozmnožovacích orgánoch, sa vyvíja samčí gametofyt. Stena peľnice sa skladá z exotécia, endotécia, strednej vrstvy a tapeta. Tyčinka sa zakladá ako meristemický hrbolček na vrchole kvetného základu. Z epidermálnej vrstvy meristemického základu vzniká krycie pletivo exotécium. V subepidermálnej vrstve sa bunky periklinálne delia a vzniká endotécium, stredná vrstva, tapetum a sporogénne bunky. Bunkám endotécia počas dozrievania peľnice charakteristicky hrubnú bunkové steny, čo sa uplatňuje pri praskaní peľnice. Stredná počas dozrievania odumiera.

Tapetum je tvorené spočiatku 1-jadrovými bunkami, no jadrá sa môžu v procese vývinu mitoticky deliť bez cytokinézy a nekôr dochádza k endomitóze. Bunky tapeta potom obsahujú 1, 2 alebo viac polyploidných jadier. Funkciou buniek tapeta je vyživovať vyvíjajúce sa mikrospóry a dodávať im regulačné a stavebné látky. Rozlišujú sa dva druhy tapeta – sekretorické a ameboidné. Bunky prvého typu ostávajú počas vývoja v súvislej vrstve a na strane, smerujúcej dovnútra peľnicovej komôrky, sa bunková stena rozpúšťa. U druhého typu sa rozpustí celá bunková stena i plazmaléma, bunky sa uvoľnia zo súvislej vrstvy a roztrúsia sa medzi meiocyty alebo mikrospórmi. V poslednej fáze dozrievania peľnic tapetum degeneruje v dôsledku spotrebovania ich bunkového obsahu vyvíjajúcimi sa peľovými zrnami.

V procese mikrosporogenézy sa zo sporogénnych buniek vyvíjajú mikrosporocyty. Sporogénne bunky sa najskôr mitoticky delia, potom rastú a diferencujú sa na mikrosporocyty. Mikrosporocyty a bunky tapeta sú navzájom spojené početnými plazmodezmami. Krátko pred meiózou sa tvorí okolo každého mikrosporocytu kalózová stena. V nej sú cytomiktické kanáliky spájajúce

mikrosporocyty, cez ktoré prebieha látková výmena a transport živín a regulátorov v celej mase mikrosporocytov v začiatku meiózy. Koncom profázy prvého meiotického delenia tieto kanáliky zanikajú a meiocyty sú izolované od seba aj od ostatných pletív hrubou kalózovou vrstvou. Výsledkom meiózy sú 4 haploidné mikropóry, spojené v tetráde. Ak tetráde predchádza pri prvom meiotickom delení tvorba diády, ide o sukcesívny spôsob tvorby tetrád. Ak sa priehradky vytvoria naraz po druhom meiotickom delení, ide o simultánny typ tvorby tetrád. Typy tetrád podľa priestorového usporiadania mikrospór môžu byť tetraedrické, izobilaterálne, priečne, zriedkavo lineárne a v tvare písmena T. Mikrospóry zotrvávajú obalené kalózou v tetrádach po určitú dobu, podľa rastlinného druhu a vonkajších podmienok. Potom sa kalózová stena rozpustí pôsobením enzýmu kaláza, ktorý produkujú bunky tapeta, a mikrospóry sa uvoľnia. Nesynchronnosť a predčasná produkcia kalázy spôsobujú abnormálny vývoj mikrospór až samčiu sterilitu.

Z mikrospóry sa vyvíja peľové zrno. V prvej etape mikrospóra rastie a vakuolizuje. Na povrchu mikrospóry sa tvoria jednotlivé vrstvy sporopolenínovej exiny a smerom do vnútra sa zakladá pektocelulózová intina. Po asymetrickej mitóze vzniká z mikrospóry 2-bunkové peľové zrno. Vakuolizovaná vegetatívna bunka zaberá väčšiu časť obsahu mikrospóry a malá generatívna bunka je pritisnutá k stene peľového zrna. Najskôr sú od seba oddelené len plazmalémou, potom sa začne medzi nimi tvoriť bunková stena zväčša kalózovej povahy, ktorá sa neskôr rozpúšťa. Generatívna bunka sa presúva hlbšie do cytoplazmy vegetatívnej bunky a často zaberá polohu pri stene, na najvzdialenejšom mieste od apretúry, ktorou peľové zrno klíči. V poslednej fáze dozrievania prechádza peľové zrno do dormantného stavu.

Peľové zrno krytosemenných rastlín je 2- alebo 3-bunkový útvar guľovitého, oválneho, hranatého alebo vláknitého tvaru s veľkosťou 2 – 200 μm , na povrchu obalený sporodermou. Tá sa skladá z vonkajšej vrstvy – sporopolenínovej exiny a z vnútornej vrstvy – pektocelulózovej intiny. Exina sa na základe ultraštruktúry rozdeľuje na vonkajšiu ektexinu a vnútornú endexinu. Ektexina má rôzne výrastky – bakuly. Exina sa začína diferencovať už u mikrospór spojených v tetráde. V miestach kľúčnych otvorov (apretúr) sa netvorí. Povrch exiny mnohých druhov je pokrytý olejovitým lepkavým peľovým tmelom, ktorý obsahuje farbivá a láka hmyz. Tmelom sú peľové zrná spojené v agragátoch a nalepujú sa na telo hmyzu alebo iného vektora.

Generatívna bunka peľového zrna sa nachádza vnútri vegetatívnej bunky. Tie sa navzájom líšia veľkosťou, tvarom, štruktúrou i funkciou. Úlohou vegetatívnej bunky je

metabolicky zabezpečiť potrebný rast a vývin peľového zrna pri dozrievaní a pri klíčení. Generatívna bunka je závislá od metabolickej aktivity vegetatívnej bunky a jej funkciou je prenos genetického materiálu do samčích pohlavných buniek. Niekedy sa ešte v peľovom zrne mitoticky delí na dve spermatické bunky a vzniká 3-bunkový peľ. Tento proces nastáva väčšinou v klíčiacom peľovom vrecúšku tesne pred oplodnením. Spermatické bunky sú najčastejšie guľovitého alebo vretenovitého tvaru s malými jadrami i jadierkami. Jadro obaluje tenká vrtvička cytoplazmy s malým množstvom organel s redukovanou štruktúrou. 2-bunkové peľové zrná majú v porovnaní s 3-bunkovými dlhšiu životaschopnosť a majú vyššie % klíčivosti. 2-bunkovosť alebo 3-bunkovosť peľových zrn je významným systematickým znakom (Podubnaja-Arnol'di, 1964; Davis, 1966; Erdelská, 1984).

1.1.4 OPLODNENIE

Oplodnenie je proces splynutia samčej a samičej gaméty. Vzniká zygota ktorá je základom embrya, z ktorého sa vyvíja nový organizmus. Dvojité oplodnenie krytosemenných rastlín predstavuje najprogressívnejší fylogenetický reprodukčný systém (Erdelská, 2000). Celý proces oplodnenia má progamogenetickú, gamogenetickú a postgamogenetickú fázu. Progamogenetická fáza zahŕňa opelenie, vyklíčenie a prerastanie peľového vrecúška k vajíčku a jeho vniknutie do vajíčka. V gamogenetickej fáze prebieha syngamia a konfluácia. V postgameogenetickej fáze nastáva vzájomná interakcia prebytočných peľových vrecúšok s pletivami s pletivami vyvíjajúceho sa semena a plodu (Erdelská, 1984).

Opelenie môže byť autogamné a alogamné. Pri autogamii sa blizna opeluje vlastným peľom z jedného kvetu. Pri kleistogamických kvetoch peľové zrná prerastá z uzavretých peľníc priamo do čnelky alebo semenníka. Pri alogamii sa blizna opeluje peľom z iného kvetu tej istej rastliny alebo inej rastliny toho istého druhu. Značnú vzdialenosť peľ prekonáva pomocou vetra u anemofilných druhov, u hydrofilných vodou, u entomofilných sa prenáša hmyzom, u ornitofilných vtákmi, všeobecne u animofilných živočíchmi. Peľové zrná anemofilných rastlín sú malé a ľahké, u animofilných sú väčšie, spojené v agragátoch a lepkavé. Doba, počas ktorej sa peľové zrná zachováva klíčivosť, je u jednotlivých druhov rôzna, u *Poaceae* iba niekoľko minút alebo hodín, u kokosovej palmy aj niekoľko rokov. Väčšina druhov rastlín si

v prirodzených podmienkach zachováva klíčivosť peľu niekoľko dní až týždňov (Poddubnaja-Arnol'di, 1964).

Peľ potrebuje na klíčenie vhodnú vlhkosť, teplotu, zväčša vyžaduje energetické a stimulačné látky. Toto všetko mu v prirodzených podmienkach poskytuje blizna piestika. Peľ sa najskôr zachytí na exsudáte vlhkej blizny alebo medzi trichómami suchej blizny, potom napučiaava a uvoľňujú sa enzýmy viazané v jeho sporoderme. Tieto enzýmy sú na blizne aktivované a dochádza k rozrušeniu povrchovej vrstvy blizny. Na vlhkej blizne dochádza aj k hydrolýze fenolických látok prítomných v exsudáte a vznikajú látky, ktoré ďalej aktivujú metabolické procesy v peľovom zrne. Cez porušenú kutikulu do pektínovej lamely bliznovej papily začne klíčiť peľové vrecúško, ktoré prerastá čnelkou k vajíčku. Pri monosyfonickom klíčení vyrastá peľové vrecúško z jedného póru, pri polysyfonickom klíči peľové zrno viacerými pórmí (Poddubnaja-Arnol'di, 1964). Pre jednoklíčnolistové rastliny sú charakteristické duté čnelky vystlané žľaznatou pokožkou. U dvojklíčnolistových rastlín sú plné čnelky, ktoré majú vnútri zvláštne prevodové (stigmatoidné) pletivo. Peľové vrecúško rastie cez pektínovú medzibunkovú hmotu prevodového pletiva plných čneliek endotrofne a ektotrofne v exsudáte žľaznatej pokožky dutých čneliek. Rýchlosť prerastania peľového vrecúška je asi 0,5 – 3 mm. Počas rastu peľové vrecúško prijíma potrebné energetické a stavebné látky z prostredia čnelky. Smer jeho rastu určuje fyziologická polarita piestika podmienená rôznym charakterom metabolických procesov v jeho jednotlivých častiach. Ovplyvňuje ho tiež hydrotropizmus a chemotropizmus. Z čnelky pokračuje peľové vrecúško v raste medzi bunkami pletív semenníka a placenty k vajíčkam. Pri porogamii prerastá k vajíčku priamo cez mikropylu. Anatrofné vajíčko je porogamii najlepšie prispôsobené, lebo je mikropylárnym otvorom obrátené k placente. Pri chalazogamii peľové vrecúško prerastá cez chalazálnu časť vajíčka, pri mezogamii prerastá cez integumenty alebo pútko. Počas tohto prerastania sa generatívna bunka mitoticky rozdelí na 2 spermatické bunky. Po preniknutí 1 alebo viacerých vrstiev nucela vajíčka sa peľové vrecúško dostane do mikropylárnej oblasti zárodočného mieška. Pokračuje filiformným aparátom a vniká do cytopazmy jednej zo synergíd, často do degenerovanej synergidy. Tam prestáva rásť a uvoľní svoj obsah do cytoplazmy synergidy. Spermatické bunky prenikajú k vajcovej bunke a centrálnemu jadru.

Krytosemenné rastliny sa vyznačujú dvojitým oplodnením. Jedna spermatická bunka splynie s vajcovou bunkou v procese syngamie za vzniku zygoty. Druhá spermatická bunka splyva s diploidným centrálnym jadrom alebo jedným z polárnych

jadier zárodočného mieška v procese konfluácie. S vajcovou bunkou splýva tá spermatická bunka, ktorá sa ako prvá dostane do jej blízkosti. V procese plazmogamie prenikne jej obsah do vajcovej bunky, kde sa rozptýli. Samčie jadro putuje k samičíemu jadru, ktoré splynú v procese karyogamie. Po splynutí karyolem sa samčí chromatin v samičom jadre rozptýli a začne sa formovať samčie jadierko, ktoré splýva so samičím jadierkom. Rovnakým spôsobom splýva i druhá spermatická bunka s centrálnou bunkou. Toto oplodnenie prebieha rýchlejšie ako oplodnenie vajcovej bunky (Erdelská, 1984). Poddubnaja-Arnoľdi (1964) rozlišuje viacero možností splývania jadier v centrálnej bunke. Buď najskôr splynú dve polárne jadrá do diploidného centrálného jadra, ktoré potom splynie s jadrom spermatickej bunky, alebo najskôr splynie samčie jadro buď s apikálne postaveným alebo chalazálne postaveným polárnym jadrom a potom toto oplodnené jadro splýva s druhým polárnym jadrom. Posledným spôsobom je súčasné splývanie polárnych jadier a oplodnenie. Výsledkom je vznik triploidného jadra – primárne jadro endospermu. Po oplodnení sa aktivujú mechanické a chemické zábrany voči polyspermii. Avšak môže nastať stav, kedy vajcovú bunku oplodnia 2 alebo viaceré spermatické bunky – dispermia alebo polyspermia. Zygota je potom triploidná. Ak vajcovú bunku oplodní spermatická bunka jedného peľového vrecúška a centrálnu bunku spermatická bunka iného peľového vrecúška, ide o heterospermiu. Spermatické bunky môžu oplodniť aj iné bunky zárodočného mieška (synergidy, antipódy), z ktorých sa môžu vyvinúť embryá. Polyspermia sa vyskytuje iba u cudzoopelivých druhov (Erdelská, 1984).

1.1.5 VÝVIN EMBRYA

Zo zygoty sa vyvíja embryo, ktoré je základom rastliny ďalšej generácie. Embryo sa môže vyvinúť aj v procese apomixie bez oplodnenia a nielen z vajcovej bunky, ale aj z iných buniek zárodočného mieška, vajíčka alebo z buniek samičieho gametofytu.

Proces vývinu embrya sa nazýva embryogenéza, ktorá sa realizuje vnútri obalových a výživných pletív semena. Erdelská (1984) rozlišuje tieto fázy embryogenézy:

- fáza pomalého vývinu embrya po oplodnení,
- fáza rýchleho vývinu, rastu a deformácie embrya,

- fáza dozrievania embrya,
- fáza prechodu embrya do dormancie.

Integumenty vajíčka sa po oplodnení postupne vyvinú na obal semena a zvyšky nucela môžu ostať v semene ako perisperm. Hlavné výživové pletivo endosperm sa vyvíja až po oplodnení centrálnej bunky. Semenník sa mení na plod.

Po oplodnení sa zygota pripravuje na prvé mitotické delenie, ktoré prebieha niekoľko hodín až dní po oplodnení. Veľmi dlhú prípravnú fázu má zygota druhu *Carya illinoensis*. Trvá až dva mesiace. Je to obdobie fyziologických zmien. Mení sa jej objem, tvar a štruktúra. V cytoplazme zygoty je bohato vyvinutý membránový systém, najmä diktiozomy. Tvorí sa súvislá bunková stena. Zvýrazňuje sa polarita zygoty, len u málo druhov je zygota nepolárna. V apikálnej časti vykazuje vyššiu fyziologickú aktivitu. Nachádza sa tu jadro, okolo ktorého je sústredená väčšina organel, najmä plastidy, mitochondrie a ribozómy. Taktiež sa tu hromadia zásobné látky, ako sú škrob a tukové kvapôčky. Bazálna časť zygoty býva vakuolizovaná. Bunka vykazuje vysokú metabolickú aktivitu (Erdelská, 1984).

Prvým delením sa začína vývin embrya. Vzniká apikálna a bazálna bunka. U dvoklíčolistových rastlín sa od seba štruktúrne a často i veľkostne odlišujú. Apikálna bunka býva menšia, má hustejšiu cytoplazmu, väčší počet organel, najmä ribozómov, vyšší obsah RNA, vakuoly fragmentujú a postupne miznú. Označuje sa ako zárodková iniciácia. Väčšia bazálna bunka má dobre vyvinuté vakuoly a málo ribozómov. Nazýva sa aj suspenzorová iniciácia. V prvých vývinových štádiách sa embryo vyvíja ako niekoľkobunkový lineárny útvar – lineárna fáza vývinu. Neskôr embryo dvojklíčolistových rastlín prechádza globulárnym, srdcovitým a hruškovitým tvarom, až získa tvar zrelého embrya. V lineárnej fáze delením apikálnej alebo bazálnej, prípadne obidvoch buniek vzniká lineárny rad 3 alebo viacerých buniek. V bazálnej časti embrya sa bunky rýchlejšie delia a diferencujú a vzniká z nich suspenzor – útvar spájajúci embryo so stenou zárodočného mieška. Pozdĺžnym delením apikálnej bunky vstupuje embryo do globulárnej fázy vývinu. Delením vzniká z pôvodnej apikálnej bunky globulárny alebo hlavičkovitý útvar, ktorý vo svojej bazálnej časti súvisí s 1- alebo viacbunkovým suspenzorom. Po sérii periklinálnych delení sa diferencuje súvislá povrchová vrstva embrya – protoderma, ktorá je základom epidermy. Vnútorne bunky pod protodermou sú základom prokambia a meristému. Medzi suspenzorom a hlavičkou sa diferencuje základ radikuly – hypofýza. V apikálnej časti hlavičky vzniká epifýza,

základ vegetačného vrcholu. Počas globulárnej fázy embrya spotrebúva zásobné látky uložené v pôvodnej zygote. Na konci tejto fázy sa začínajú bunky štruktúrne odlišovať. Pri laterálnej expanzii prechádza embryo do srdcovitej fázy. Vznikajú základy klíčnych listov. Zvýrazňujú sa štruktúrne rozdiely medzi bunkami. Proliferáciou základov klíčnych listov a hypokotylovej časti prechádza embryo do hruškovitej fázy vývinu. Na embryu sa dajú rozlíšiť kľúčne listy, plumula, hypokotylová časť a radikula. V tejto fáze sa embrya často krúčia a pri dozrievaní sú zohnuté do tvaru U, dokončuje sa vývin jednotlivých častí, bunky sa diferencujú a embryo dozrieva. Rastie hmotnosť a hromadia sa zásobné látky. V poslednej fáze nastáva pokles hmotnosti v dôsledku dehydratácie a prechodu do dormantného stavu (Erdelská, 1984).

U jednoklíčnolistových rastlín je vývin embrya podobný. Všeobecne sa vyznačujú malým a nevýrazným suspensorom, avšak u niektorých druhov bazálna bunka suspensora je veľká a vakuolizovaná. Jediný kľúčny list sa zakladá terminálne a plumula zväčša bočne. Postupne sa diferencuje štítok niekoľko ďalších útvarov typických pre *Poaceae* (koleoríza, koleoptila, epiblast).

Suspensor je 1- alebo viacbunkový útvar vznikajúci z bazálnej bunky. Najčastejšie pozostáva z 1 lineárneho radu vakuolizovaných buniek s výrazne vyvinutým membránovým systémom. U iných druhov tvorí suspensor mnohjadrový alebo mnohobunkový útvar s vysoko polyploidnými jadrami a polyténnymi chromozómami. Bunky vykazujú vysokú metabolickú aktivitu a sekrečnú činnosť. To je najviac typické pre bazálnu bunku, ktorá býva najväčšia. Na povrchu suspensora sú rôzne transferové výrastky až haustória zasahujúce do endospermu. Úlohou suspensora je transport metabolitov, poskytovanie výživných a regulačných látok embryu. Obyčajne s prechodom embrya zo srdcovej do hruškovitej fázy degeneruje až celkom zaniká (Erdelská, 1984).

Ak sa v jednom semene vyvinie viac zárodokov, hovoríme o polyembryónii. Vyskytuje sa väčšinou náhodne. Pri niektorých druhoch je stála a geneticky podmienená. Môže byť stimulovaná opelením (indukovaná polyembryónia) alebo autonómna. Sú dva základné typy polyembryónie. Pri pravej polyembryónii vznikajú zárodky z potencionálnych gamét (antipódy, synergidy, nadbytočné vajcové bunky) alebo z embrya zygotového pôvodu. Môžu sa vyvíjať z oplodnenej alebo neoplodnenej bunky. Takéto embryá môžu byť teda haploidné alebo diploidné. Pri nepravej polyembryónii vznikajú zárodky z multiplikatívnych zárodočných mieškov. Osobitým

typom nepravej polyembryónie je adventívna polyembryónia a rozlišuje sa na nucelovú a integumentovú, podľa pôvodu buniek, z ktorých vznikajú adventívne embryá.

Pri vývine embrya má veľmi dôležitú trofickú a regulačnú funkciu endosperm, ktorý vzniká z oplodnenej centrálnej bunky, ktorá je triploidná a má pomer samičieho a samčieho rodičovského genetického materiálu $2m : 1p$. Oplodnenie je impulzom na delenie primárneho endospermálneho jadra, výnimočne sa u niektorých druhov môže deliť bez oplodnenia. Podľa spôsobu delenia v prvých vývinových fázach rozoznávame tri typy endospermu: jadrový (nukleárny), bunkový (celilárny) a helobiálny (bazálny). V niektorých čeľadiach sa vyskytuje iba jeden typ endospermu, v iných dva alebo všetky tri (Poddubnaja-Arnol'di, 1964).

Pri jadrovom type prebieha v primárnej endospermálnej bunke delenie jadier bez vzniku priehradiek. Počet voľnojadrových delení je rôzny pri jednotlivých druhoch. Jadrá sú väčšinou umiestené blízko plazmalemy a v strede je zvyčajne veľká centrálna vakuola. Okolo jadier sa potom začne zväčša centripetálne zakladať bunková stena, ktorá je najskôr nesúvislá. Pri niektorých druhoch ostáva v centrálnej alebo chalazálnej oblasti niekoľko voľných jadier. U kokosového orecha je takýto je takýto tekutý, voľnojadrový endosperm obalený bielym dužinatým bunkovým endospermom. Po skončení celularizácie prebieha ešte ďalšie delenie buniek sprevádzané cytokinézou. Už počas voľnojadrového delenia sa vytvára haustoriálny výbežok zasahujúci do nucela a integumentov v chalazálnej oblasti vajíčka slúžiaci na transport živín.

Pri bunkovom type endospermu každé delenie sprevádza cytokinéza. Prvým delením vzniká apikálna a bazálna bunka, ktoré sa ďalej delia a smer tvorby priehradiek je typický pre rod alebo čeľaď. I pri tomto type sa vytvárajú haustoriálne výbežky. Ich jadrá bývajú polyploidné, vykazujú vysokú syntetickú aktivitu, sú v kontakte a transferovými štruktúrami zárodočného mieška. Úlohou haustórií je vyčerpať zásobné látky z integumentov. Po splnení tejto funkcie degenerujú. Helobiálny typ endospermu je prechodom medzi dvomi vyššie opísanými. Po prvom delení vzniká priehradka a dve komôrky resp. bunky – mikropylárna a chalazálna. V nich prebieha voľnojadrové delenie a neskôr prebieha celularizácia. Mikropylárna komôrka býva väčšia vyvíja sa z nej vlastný endosperm. Chalazálna degeneruje alebo sa premení na haustórium (Poddubnaja-Arnol'di, 1964).

1.1.6 APOMIXIA

Apomixia je jedným z typov nepohlavného rozmnožovania, kedy nedochádza k syngamii. Sú dva základné typy apomixie. Pri redukovanej apomixii prebieha normálna sporogenéza a gametogenéza. Embryo sa vyvíja z neoplodnenej vajej bunky alebo inej bunky zárodočného mieška. Takto vzniknutá rastlina je haploidná a sterilná, jedná sa o nededičnú apomixiu. Ak sa pri nededičnej apomixii embryo vyvíja zo synergidy alebo antipódy, jedná sa o apogamiu.

Pri neredukovanej apomixii je zvyčajne pozmenená sporogenéza, kedy sa neredukuje počet chromozómov megaspóry. Embryo je diploidné a rastlina, ktorá sa z neho vyvinie, sa môže ďalej rozmnožovať. Ide o dedičnú apomixiu a rozlišujú sa dva typy. Pri generatívnej apospórii (diplospória) sa zárodočný miešok vyvíja z neredukovaného megasporocyту, archesporovej bunky, alebo je meióza v megasporocyte narušená alebo vôbec neprebehne a počet chromozómov sa nezredukuje. Podľa toho sa rozlišuje niekoľko typov diplospórie. Pri somatickej apospórii sa zárodočný miešok vyvíja zo somatickej bunky, najčastejšie bunky nucela. Bunka sa zväčšuje, vakuolizuje a jej jadro sa mitoticky delí až vzniká 4- až 8-jadrový aposporický zárodočný miešok. Prebieha často vtedy, keď megasporocyt degeneruje.

Pri autonómnej apomixii je jej vznik i priebeh nezávislý od pôsobenia samčieho gametofytu, pri indukovanej apomixii pôsobí na vývin embrya samčí gametofyt. Pri pseudogamnej apomixii stimuluje vývin a delenie neoplodnenej vajej bunky už samotné opelenie, alebo ak spermatická bunka oplodní centrálné jadro. Ak jadro spermatickej bunky vnikne do cytoplazmy vajej bunky, ale nesplynie s ním, jedná sa o semigamiu. Niekedy môže samčie jadro nahradiť degenerujúce samičie a v procese androgenézy sa z neho vyvíja embryo. Pri partenogenéze nemá samčí gametofyt vplyv na vývoj embrya. Je pomerne zriedkavá, najčastejšie prebieha u haploidnej vajej bunky. Osobitým typom partenogenézy je automixia, kedy sa vyvinú normálne sexuálne zárodočné miešky s haploidnými bunkami, ale embryo sa vyvíja z diploidnej vajej bunky, ktorá vzniká buď v procese spontánnej endomitózy alebo jej splynutím s inou haploidnou bunkou zárodočného mieška (Erdelská, 1984).

1.2 EMBRYOLOGICKÁ CHARAKTERISTIKA ČELĀDE

ROSACEAE L.

Embryológia semenných rastlín skúma proces vývinu zárodka v jeho spojitosti s vývinom ostatných pletív semena a v organickej nadväznosti na procesy sporogenézy, gametogenézy a oplodnenia, ktoré podmieňujú jeho vznik. Hlavnou úlohou základného embryologického výskumu je čoraz hlbšie poznávať zákonitosti embryonálneho vývinu a odkrývať možnosti, ako ho riadiť, a tým aj ovplyvniť postembryonálny vývin rastlín v želanom smere (Erdelská, 1981).

Peľnica u zástupcov čeľade *Rosaceae* je štvorpúzdrová. Stena peľnice je zložená z trvácej epidermy, fibrózneho endotelu, z 2 – 3 efemérnych stredných vrstiev a z tapeta. Tapetum je 1- až 2-vrstvové, bunky sú 4- až 8-jadrové. Tvorba tetrád je simultánneho typu a tetrády sú tetraerické (Jakovlev, 1985; Poddubnaja-Arnoľdi, 1982). Peľové zrná sú jednotlivé a dvojbunkové (Jakovlev, 1985, Johri, 1992). Luminiscenčná analýza peľu dokázala, že vegetatívna a generatívna bunka peľového zrna sa líšia charakterom cytochemických reakcií. U polyploidných apomiktických druhov a niektorých hybridov sa vyskytujú anomálie v priebehu prvého delenia meiózy. Ako dôsledok nepravidelného rozloženia priehradok pri cytokinéze môžu vzniknúť polyády obsahujúce drobné abortované mikrospóry, alebo vznikajú gigantické mikrospóry s niekoľkými jadrami (Jakovlev, 1985).

Vajíčko je anatrofné až hemitrofné s dvomi integumentami. Vajíčko môže byť jedno, dve alebo ich je niekoľko (Poddubnaja-Arnoľdi, 1982). Podľa Davisovej (1966) a Jakovleva (1985) je vajíčko krasinucelátne, unitemické alebo bitegmické. U bitegmických druhov je mikropyla formovaná obidvoma integumentami (*Pyrus*, *Cotoneaster*), alebo len vnútorným integumentom (*Dryas*, *Exochorda*). U podčeľade *Prunoideae L.* je mikropyla tvorená dvoma integumentami a vodivý systém vajíčka končí v oblasti chalázy (Johri, 1992). Pre čeľaď *Rosaceae* sú charakteristické lineárne tetrády megaspór alebo tetrády v tvare písmena T (Poddubnaja-Arnoľdi, 1982; Davis, 1988). Všetky megaspóry sú potenciálne schopné vyvinúť sa na zrelý zárodočný miešok, no spravidla sa ďalej vyvíja chalazálna alebo epichalazálna megaspóra. V megaspóre cytokinéza sprevádza meiózu a zväčša chalazálna megaspóra z lineárnej tetrády sa vyvíja podľa typu *Polygonum* na zárodočný miešok. V rode *Rosa* sa ďalej vyvíja mikropylárna megaspóra, v rode *Rubus* môže byť funkčná hociktorá megaspóra

(Johri, 1992). Zárodočný miešok má oválny tvar alebo je veľmi predĺžený a úzky (Jakovlev, 1985). Apikálne bunky nucelárnej epidermy sa delia periklinálne a formujú nucelárnu čiapočku v hrúbke 2 až 7 radov (Davis, 1966). Jakovlev (1985) uvádza až 14 vrstiev. Hruškovité synergidy majú vyvinutý nitkovitý filiformný aparát. Antipódy majú súvislú bunkovú stenu, bývajú najčastejšie 3, sú efemérne a degenerujú pred oplodnením, alebo podstupujú trojitú fúziu. Polárne jadrá splývajú pred oplodnením, alebo v čase oplodnenia (Davis, 1966; Poddubnaja-Arnol'di, 1982; Jakovlev, 1985).

Oplodnenie je dvojité, porogamné, uskutočňuje sa počas 36 až 40 hodín a u hybridov počas 48 až 72 hodín po opelení. Endosperm je jadrový (Jakovlev, 1985; Poddubnaja-Arnol'di, 1982), neskôr sa pletivo stáva úplne bunkové (Johri, 1992). Celularizácia sa začína z mikropylárneho konca zárodočného mieška. V chalazálnej časti zárodočného mieška jadrá endospermu dlho zostávajú samostatné. Endosperm obsahuje tuky i bielkoviny. Celularizácia nastáva po 10 – 11 dňoch po opelení (Jakovlev, 1985; Poddubnaja-Arnol'di, 1982).

Zygota vstupuje do mitózy 3 – 6 dní po oplodnení pri 12 – 16 jadrovom endosperme. Vývin zárodka prebieha podľa typu *Asterad* a *Geum* variácie. Suspensor je v neskorších štádiách vývinu silný a krátky alebo nitkovitý (Jakovlev, 1985). Zárodok je diferencovaný, veľký, priamy, väčšinou bez chlorofylu. Obsahuje bielkoviny i škrob. Semeno je bez endospermu alebo zriedka so slabo vyvinutým endospermom. Zárodok zapĺňa semeno po celej jeho dĺžke. Ak má endosperm, rozmiestnený je iba v periférnej oblasti semena (Poddubnaja-Arnol'di, 1982).

V tejto čeľadi, ale najmä u polyploidných jedincov, je silná tendencia k apomixii (Davis, 1966). Apomixia je redukovaná i neredukovaná, generatívna i somatická (Poddubnaja-Arnol'di, 1982). V podčeľadi *Maloideae* sa všeobecne vyskytuje apomixia fakultatívna, apospórová, pseudogamná a charakterizuje ju výrazná multiplicita zárodočných mieškov, polyembryónia, kompletná peľová sterilita a semená vyvinuté za absencie opelenia. Apomiktické druhy sú takmer vždy triploidné alebo tetraploidné a autokompatibilné. Krížením medzi apomiktickými a pohlavnými taxónmi sa spolu s ďalšími štúdiami dokázalo, že u podčeľade *Maloideae* je apomixia geneticky dominantná nad sexualitou. Pozoruhodne častá je hybridizácia na všeobecnej a špecifickej úrovni. Menšie rody majú sklon byť diploidné, väčšie rody tiež zahŕňajú triploidy a tetraploidy. Vyššia úroveň ploidie a aneuploidia je vzácna. Hybridizácia, často spojená s polyploidiou a uniparentálna reprodukcia vedie k novým, viacej či menej izolovaným reprodukčným formám v *Maloideae* a prispieva k ich evolučnej

komplexnosti (Campbell et al., 1990, 1991). Somatická apospória i nucelárna embryónia je charakteristická pre druhy rodu *Crataegus*. Všetci autori opisujú ťažkosti v rozdelení generatívnej i somatickej apospórie u predstaviteľov čeľade *Rosaceae* L. (Jakovlev, 1985). V rode *Pyrus* bola zaznamenaná viviparia (Johri, 1992).

1.3 SÚČASNÝ STAV ŠTÚDIA RODU *COTONEASTER* L.

Ako uvádza Campbell et al. (1991) druhy rodu *Cotoneaster* sú mnohostranné v spôsobe rozmnožovania. Vyskytujú sa všetky spôsoby: vegetatívne rozmnožovanie, inkompatibilita, apomixia a zapájajú sa aj do extenzívnej hybridizácie a polyploidie. Zaznamenaná bola aj gametofytická apomixia. Pri apomixii sa zvyčajne jedná o apomixiu fakultatívnu, pseudogametovú, ktorá je charakterizovaná zreteľnou početnosťou megagametofytov na vajíčko. Zaznamenaný dôkaz o apomixii zahŕňa úroveň ploidity a spôsob vývinu megagametofytov, prítomnosť viacnásobných megagametofytov na jedno vajíčko, polyembryóniu, úplnú peľovú sterilitu a semená vytvorené po absencii opelenia.

Kríženia medzi apomiktickým a pohlavným druhom poskytujú v mnohých prípadoch apomiktických potomkov, u ktorých prevláda geneticky založená dominancia apomixie. Hybridizácia pri druhovej a intrašpecifickej úrovni je neobyčajne častá. Pôvodnejší druh má sklon byť diploidný, odvodenejší druh zahŕňa zvyčajne triploidy alebo tetraploidy. Vyššia úroveň ploidity a aneuploidity je zriedkavá. Väčšina z približne 300 druhov rodu *Cotoneaster* sú polyploidy, diploidy sú zriedkavé (Bartish et al., 2000).

Talent a Dickinson (2007) taktiež uvádzajú, že rod *Cotoneaster* je taxonomický komplex zahŕňajúci apomiktické polyploidy a pohlavne sa rozmnožujúce diploidy, pričom výskyt polyploidov vyššej úrovne ploidity ako 4x (pentaploidy a hexaploidy) sa v danom rode vyskytujú len veľmi zriedkavo.

Publikované údaje dokazujú, že populačná štruktúra druhov rodu *Cotoneaster* môže byť dramaticky ovplyvňovaná funkciou ich systému rozmnožovania a vo všeobecnosti ich reprodukčnou ekológiou. Morfogenetické údaje poukazujú na interakcie medzi výskytom jednorodičovskej reprodukcie (apomixia) a polyploidie s vysokou fenotypovou variabilitou (Dickinson et al., 1991).

Hjelmquist (1962) sledoval vývin samičieho gametofytu pri niektorých druhoch rodu *Cotoneaster*. Zistil, že zárodočné miešky sa vyvíjajú podľa typu *Polygonum* a zrelé zárodočné miešky obsahujú dve hruškovité synergidy, oosféru, polárne jadrá a tri antipódy. V zreloch zárodočných mieškoch pozoroval bohatý výskyt škrobových zŕn.

Rohrer et al. (1994) na základe štúdia kvetnej morfológie 169 druhov podčeláde *Maloideae* uvádzajú, že všetci zástupcovia rodu *Cotoneaster* sú kompletne apokarpné druhy so vzpriamenými korunnými lupienkami typickej bielej farby. Hoci najrozšírenejší počet tyčiniek v podčeládi *Maloideae* je 20, u niektorých zástupcov rodu *Cotoneaster* sa zistilo 10 tyčiniek.

Rod *Cotoneaster* patrí do podčeláde *Maloideae*, pre ktorú je charakteristickým plodom malvica. Typická malvica (napr. v rode *Malus* Mill. alebo *Pyrus* L.) je nepravý, dužinatý, synkarpný plod, ktorý vznikol zdužinatím stien semenníka a kvetnej čiašky. Má oplodie rozlíšené na blanitý exokarp, nachádzajúci sa na povrchu, dužinatý mezokarp a najvnútornejšiu časť plodu tvorí sklerenchymatický, blanitý endokarp. Jednotlivé semená sa nachádzajú v púzdrach, ktoré tvorí endokarp – jadrovník. Tento predstavuje vnútornú časť malvice po odstránení mezokarpu. Jadrovník vzniká z plodolistov, mezokarp a exokarp je z receptákula - kvetnej čiašky. Endokarp tvorí priehradky semenných puzdier (Novák, 1961; Futák, 1966; Volf et. al., 1990; Dostál, Červenka, 1991).

Zástupcovia rodu *Cotoneaster* majú na rozdiel od uvedeného typu malvice inú stavbu plodu. Gynéceum je umiestnené v kvetnom lôžku, kvetná čiaška dužinatá a zúčastňuje sa na tvorbe oplodia. Vrchný exokarp, aj pod ním sa nachádzajúci mezokarp sú rovnaké ako pri malvici, rozdiel je v tom, že endokarp síce je blanitý, ale tvorí len tenkú vrstvu na vnútornej strane kvetnej čiašky a nevytvára jadrovník. Naopak, v tomto prípade stena semenníka (endokarp) sklerifikuje a má tvrdú, tzv. „kamennú“ konzistenciu. Každé semeno, obalené vlastným sklerokarpickým oplodím, tvorí jednosemennú kôstočku (*pyrena*) (sensu Baranec), ktorá je pravým plodom. Počas vývinu plodu dochádza k čiastočnej synkarpii – zrastu plodolistov. Táto sa prejavuje v tom, že v dozretých plodoch sú jednotlivé *pyreny* umiestnené voľne v dužine a na ich chrbtovej strane sú zreteľné stopy po spojení so stenou kvetnej čiašky v podobe jemných výrastkov. Súbor všetkých *pyren* obalených dužinou a pokožkou tvorí plodstvo kôstočiek (*pyrenarium*). Levina (1961) používa pre tento typ plodu termín „kostjankovidnoe jablko“ – *pomum pyrenatum* (Kirpicznikov, M., Zabinkova, N., 1977). V preklade tento termín znamená „kôstkovicovitá malvica“. Z vývojového hľadiska je malvička zdokonalenou analógiou šípky (*cynarrhodon*) z podčeláde *Rosoideae* a *pyrena* analógiou nažky.

Tvar *pyreny* závisí od spôsobu jej uloženia v malvičke, ktorý vyplýva z počtu *pyren* v nej. *Pyrena* má chrbtovú a brušnú stranu. Chrbtová strana je väčšinou polooblá,

na jej vrchnej časti sa nachádza lesklá plôška tzv. štítok (*scutulum apicale*). Na základe pomeru veľkosti štítku k celkovej ploche chrbtovej strany *pyreny* boli Hrabětovou-Uhrovou (1962) opísané tri poddruhy pri *C. niger*. Brušnou stranou, ktorej tvar je hranatý, sa jednotlivé *pyreny* v malvičke dotýkajú, ale navzájom nie sú spojené. V rode *Cotoneaster* podľa charakteru stavby kvetnej čiašky (*receptákulum – hypanthium*) rozoznávame rôzne typy utvárania suchého vrcholu plodu, ktorý je tvorený trvácimi kališnými zubami. Naše autochtónne druhy patria do najrozšírenejšej skupiny, ktorá je typická uzavretým exokarpom na vrchole plodu. Počet a tvar *pyren* sa využívajú na determináciu druhov. Hrabětová- Uhrová sledovala počet *pyren* v malvičkách našich domácich druhov na viacerých lokalitách Čiech i Slovenska. Z jej záverov vyplýva, že populácie jednotlivých druhov, ktoré sa líšia počtom *pyren*, sú odlišné aj v iných morfológických znakoch, hlavne vo farbe plodov.

Vplyvu chladovej stratifikácie na klíčivosť semien niektorých suchovzdorných kríkov, medzi nimi i druhu *Cotoneaster numullria* sa venovali Olmez et al. (2007). Zistili, že klíčivosť semien daného druhu bola najvyššia po 60 dňoch stratifikácie v chlade, kedy dosiahla 85,6%.

Problematike rodu *Cotoneaster* sa venovali vo svojich záverečných prácach aj viacerí študenti na katedre botaniky SPU v Nitre. Rozšírením a reprodukčnou biológiou druhov rodu *Cotoneaster* v NP Slovenký raj (NPR Stratená a PR Ostrá skala) sa zaoberal Lipták (2004). V sledovanom území zaznamenal tri taxóny rodu *Cotoneaster*: *Cotoneaster tomentosa* (Aiton) Lindley (skalník plstnatý), *Cotoneaster nigra* (Ehrh.) Fries (skalník čiernoplodý) a *Cotoneaster alauicus* Golitsin (skalník čieročervený). Priemerná generatívna reprodukcia všetkých taxónov bola na nízkej úrovni (0-21,9 %), niektoré jedince počas výskumu nevytvárali kvety ani plody.

Jelšovský (1997) sa venoval chorológii a reprodukčnej charakteristike lokálnych populácií taxónov rodu *Cotoneaster* Med. vo Veľkej Fatre. Zistil, že populácie rodu *Cotoneaster* stagnujú, pretože nedochádza k ďalšiemu rozširovaniu na nové stanovišťa. Súvisí to s obmedzenou generatívnou reprodukciou. Čiastočne prevláda vegetatívna reprodukcia, teda rozširovanie sa koreňovými výmladkami. Touto vegetatívnou cestou sa populácie rozširujú iba o niekoľko cm ročne. Niektoré populácie sú v rámci sukcesie ešte aj zatienené stromovitým stupňom, čím sú odkázané vzhľadom na teplotné a svetelné nároky na zánik.

Taxonómiou a chorológiou rodu *Cotoneaster* na území Nízkyh Tatier sa zaoberali Baranec a Eliáš (2004). Na sledovanom území zaznamenali 4 autochtónne druhy *C. alaunicus*, *C. integerrimus*, *C. niger* a *C. tomentosus*.

2 CIEĽ PRÁCE

Ciele práce boli nasledovné:

- podrobne sa oboznámiť s reprodukčným cyklom krytosemenných rastlín a nadobudnúť teoretické poznatky nielen z oblasti pohlavného rozmnožovania, ale i nepohlavného rozmnožovania, pochopiť javy súvisiace s apomixiou, ako sú polyploidia, hybridizácia, autoinkompatibilita, autokompatibilita, samooplodnenie.
- osvojiť si techniku prípravy trvalých mikroskopických preparátov potrebných na pozorovanie vývinových štádií reprodukčných orgánov a generatívnych diaspór.
- objasniť pomocou mikroskopických a makroskopických pozorovaní zakladanie a vývin reprodukčných orgánov vzácných druhov skalníka matranského (*Cotoneaster matrensis* Domokos) a skalníka čiernočerveného (*Cotoneaster alaunicus* Golitsin).

3 MATERIÁL A METODIKA

3.1 BIOLOGICKÁ CHARAKTERISTIKA RODU

COTONEASTER L.

Ker je vysoký 0,2 – 3 m, plazivý alebo vzpriamený (monokormón, polykormón) bez trňov. Kôra kru je sivohnedá až gaštanovohnedá, niekedy môže byť žltohnedá s leskom. Borka má farbu sivohnedú a je matná. Letorasty sú plstnaté alebo lysavejúce. Listy týchto krov sú opadavé, alebo (spravidla dva roky trváce a zaraďujeme ich medzi krátkostopkaté). Čepele listov sú elipsovité, vajcovité alebo až okrúhle. Na vrchole sú listy tupé alebo končisté, vždy celistvookrajové. Dlhé sú 10 – 14 mm a na líci sú tmavozelenej farby. Prílistky bývajú nízkokopijovité, prchavé. Súkvetie je 1 – 17-kvetné a sú na kratších aj dlhších (± 10 cm dlhých) brachyblastoch. Kvety sú v priemere menšie ako 1 cm. Korunné lupienky na kvetoch sú biele, ružovkasté s krátkym nechtíkom, a sú opadávajúce. Kališné zuby sú lysé alebo plstnaté a tieto sú trváce. V kvetoch sa nachádza 20 tyčiniek a 2 – 5 čneliek. Plodom je guľovitá, slabo dužinatá malvička. Exokarp je jasne červený, fialový až čierny, holý alebo lysý. V malvičke sa nachádza 2 – 5 kôstočiek.

Na území Slovenska sa vyznačuje veľkou variabilitou, generatívnych i vegetatívnych orgánov. Výrazná je premenlivosť listov, veľkosť a tvar čepele, farba listu a odenie. Kvety sú variabilné vo veľkosti koruny, v počte tyčiniek, v tvare, postavení, farbe a v odení kališných lístkov. Veľmi výrazná je i premenlivosť nepravých plodov, ktorá sa prejavuje vo veľkosti, v tvare a odení, ďalej vo farbe exokarpu a v počte kôstočiek (Baranec, 1992).

Na základe observačno – morfolologickej analýzy uvedených morfológických znakov v rámci populácií skalníkov na území Slovenska, resp. v širšej západokarpatskej oblasti rozlišujeme 4 druhy (species): Je to *Cotoneaster integerrimus*, *C. tomentosus*, *C. niger*, *C. alaunicus* a v rámci nich 5 poddruhov (subspecies) (Dostál, Červenka, 1991).

Autochtónne druhy skalníkov patria do skupiny obligátnych petrofytov, ktoré rastú prevažne na skalnatom podloží, najčastejšie, na extrémnych stanovištiach strmých skalných stien a ťažko prístupných svahov, na okrajoch skalných brál, a na lokalitách s plytkými skeletnatými pôdami (rendziny). Z dôvodu vysokých nárokov na svetlo ich

väčšinou nachádzame na nezatiienených, odkrytých lokalitách, s priamym slnečným žiarením v spoločenstvách s inými krami alebo drevinami (napr. v spoločenstvách zväzu *Quercion pubescentis* Klika 1953, *Prunion fruticosae* Tx. 1952, prípadne *Erico – Pinion* BR. – BL. 1939). Rastú ako málopočetné skupinky na ich okrajoch a tvoria tzv. plášťové spoločenstvá. Ak sa vyskytujú v zapojenom poraste drevín, tak len ako solitérne jedince vnútri lesa. V takom prípade ide pravdepodobne o pozostatok iniciálneho spoločenstva, ktoré malo vhodné podmienky. Zmenou okolitých pomerov, nárastom lesa a zatienením, skalníky stratili vhodné podmienky pre svoj rast. Výsledkom zmeny svetelných pomerov sú rastliny s dlhými, riedko olistenými výhonkami so zväčšenými listami. Tieto jedince kvitnú a prinášajú plody len veľmi výnimočne a rozmnožovanie je obmedzené len na vegetatívny spôsob (tvorba polykormónov) (Lipták, 2004).

Životný priestor druhov rodu *Cotoneaster* je úzko viazaný na vápence a dolomity. Veľmi významným faktorom z hľadiska osídľovania vhodných stanovišť skalníkom je aj orientácia stanovišť voči svetovým stranám. Borowicz (1959), udáva preferenciu hlavne južne až severozápadne orientovaných lokalít. Stanovišťa s južnou až západnou orientáciou sa vyznačujú rýchlym ohrievaním pôdy (rovnako v lete, ako aj v zime) ako aj nižšou vlhkosťou. To potvrdzuje, že skalníky uprednostňujú skalnaté stanovišťa, najčastejšie na vápencoch, so suchými, priepustnými pôdami, s maximálnou hodnotou insolácie a bez dlhodobej snehovej prikrývky, s dlhou dobou slnečného svitu.

Cotoneaster alaunicus Golitsin

(skalník čieročervený)

1,0 – 2,5(-3) m vysoký ker (polykormón), konáre odstávajúce až vzpriamené, lysé. Kôra a borka sivá až sivohnedá, na mladých konárikoch žltohnedá až gaštanovohnedá. Listy na brachyblastoch sú opadavé, 15 – 40 mm dlhé, čepele elipsovité, na vrchole zaokrúhlené, niekedy končisté, na báze zaokrúhlené, na líci roztrúsene pritlačene chlpaté, na rube svetlejšie, riedko plstnato chlpaté. Súkvetie (1-)2 – 5-kveté. Kališné zuby trojuholníkovité, roztrúsene chlpaté až lysé, korunné lupienky biele až ružovkasté. Tyčínok je 20, čnelky sú 3 (zriedkavo 2,4). Plody rastú jednotlivo, častejšie po 2(-3), sú guľovité, 8 – 14 mm v priemere. Exokarp je purpurový až fialovočervený. Kôstočiek 3(-4).

Chromozómy: $2n = 51, 68$.

Stabilizovaný hybridogénny druh (*C. integerrimus* x *C. niger*) s viacerými intermediárnymi znakmi (plody, listy) predpokladaných rodičov.

Nanofanerofyt, entomogamná rastlina. Kvitne máj (-jún). Plody zrejú v septembri. Rastie roztrúsene až ojedinele na skalnatých stanovištiach (na andezitoch) v menších populáciách (klonoch). Je asektátorom skalnatých spoločenstiev, zriedkavo rastie na alúviách v montánnom stupni.

Vyskytuje sa od pahorkatiny až do montánneho stupňa. V oblasti Pannonicum rastie len v Slovenskom krase. V karpatskej oblasti je ojedinelý až vzácny. Horná hranica jeho výskytu je 1 100 m. n. m. a spodná hranica 300 m. n. m. (Baranec, 1992).

Cotoneaster niger (Ehrh.) Fries

(skalník čiernoplodý)

0,5 – 2 m vysoký, husto rozkonárený ker (polykormón), konáre odstávajúce, lysé. Kôra a borka sivá, mladšie konáre gaštanovo hnedé. Listy na brachyblastoch opadavé, 15 - 40 mm dlhé, čepele vajcovité až elipsovité, na vrchole zaokrúhlené alebo krátko končisté, na báze zaokrúhlené, na líci riedko, na rube plstnato ochlpené, neskôr lysé. Stopky 2 - 5 mm dlhé, riedko plstnaté. Súkvetie (2) 3-5-kveté na dlhších previsnutých stopkách. Kališné zuby trojuholníkovité, pritlačene chlpaté, korunné lupienky biele (až červenkasté), tyčínok 20, čneliek 2 - 3. Plody prevažne po 2 - 5 zriedkavo jednotlivo, guľovité 8 - 15 mm v priemere, exokarp v zrelosti tmavo fialovočervený až čierny, oinovatený. Kôstočky 2 (-3). Chromozómy: $2n = 68$.

Variabilita: Druh je premenlivý najmä vo veľkosti plodov a listov, farbe exokarpu. V rámci variability niektorí autori vylišujú *C. matrensis* Domokos na rôznej infrašpecifickej úrovni. Problematika vyžaduje ďalšie štúdium. (Baranec, 1992).

Entomogamná rastlina, ktorá má životnú formu nanofanerofyt. Kvitne v apríli (máji) až júni, plody dozrievajú v septembri (Baranec, 1995; Dostál, Červenka, 1991).

Subkontinentálny, euroázijský druh. Rastie roztrúsene až vzácne na skalnatom (bázickom) substráte v menších populáciách alebo jednotlivo. Vyskytuje sa na výslnných miestach najmä v spoločenstvách zväzov *Seslerio – Festucion duriusculae* a *Prunion spinosae* (Baranec, 1995) vyskytuje sa na kamenistých a krovinatých stráňach, v zarastených roklinách, na okraji lesov. Spoločenstvá zväzov *Seslerio –*

Festucion duriusculae, *Prunion fruticosae* a *Prunion spinosae* (Dostál, Červenka, 1991).

Podľa Dostála a Červenku (1991), sa skalník čiernoplodý u nás člení na štyri poddruhy:

- *subsp. moravicus* – skalník čiernoplodý moravský. Chocholíky 2 – 3(4) kveté, zriedka 1 – 9 kveté, malvice počas dozrievania červené, tmavofialové a napokon čierne, oinovatené, kôstočky (pyrény) 2.
- *subsp. slavicus* – skalník čiernoplodý slovenský. Listy výhonkov vajcovité až podlhovasté, končisté, chocholíky až 3 cm dlhé, malvice s 2 – 3 pyrénami.
- *subsp. ammanii* – skalník čiernoplodý Ammanov. Malvice guľaté, 7 – 10 mm v priemere, čiernofialové až čierne, veľa oinovatené, počet pyrén 3 (-4).
- *subsp. matrensis* – skalník čiernoplodý matranský. Malvice i dozreté tmavofialové, chocholíky mnohokveté, dlhšie ako 3 cm, listy oválne, vpredu tupé až zaokrúhlené. Tento poddruh má rozšírenie na Slovensku od Malých Karpát po Slovenské Nové Mesto.

Cotoneaster matrensis DOMOKOS

Tento taxón identifikovala pod menom *C. alaunicus* GOLICYN pre Zobor i Žibricu Hrabětová-Uhrová (1962) s poznámkou „Ad *C. nigra vergens*“. Taxonomické postavenie týchto populácií je podľa tejto formulácie nejasné. V súčasnosti existujú v území dve lokality: na z. svahu Zoborskej lesostepi a na jz. svahu Žibrice, z ktorých tento taxón pod menom *Cotoneaster integerrimus* MED. udávajú aj Benčať a Majer (1976) i Benčať a al. (1982). Rovnako Knapp (1865) na základe Nagyovho údaju (Nagy Zobor 346), Schiller (1866a) a Vlach (1929) zdávajú zo Zobora *C. integerrimus* [Knapp i Schiller ut *C. vulgaris*] (Rěhořek, 2007).

V práci sme používali taxonomickú nomenklatúru podľa Marholda (1998).

3.2 ODBER A SPRACOVANIE RASTLINNÉHO MATERIÁLU

V práci sme odoberali púčiky, kvety a plody druhov *Cotoneaster alauenicus* z oblasti Ružomberka a *Cotoneaster matrensis* v oblasti Zobora. Odber vzoriek sa realizoval v rokoch 2007, 2008 a je znázornený v tab. 1.

Ružomberok sa nachádza v mierne teplej oblasti, s priemernou ročnou teplotou 5,9°C a s priemerným úhrnom zrážok 744 mm za rok. Severná časť zaberá juhozápadnú časť Liptovskej kotliny. Nadmorská výška tejto časti územia sa pohybuje od 530 do 540 m. n. m. Územie na juh od mesta nadobúda vrchovitý charakter s absolútnou nadmorskou výškou 730 m. Pôdotvorným substrátom sú sprašové hliny, nivné uloženiny z karbonátového materiálu a karpatský flyš v typickom vývoji. V okolí Ružomberka sa nachádzajú nasledujúce pôdne typy: rendzina, kambizem, fluvizem, regozem.

Liptovská kotlina sa tiahne od Ružomberka po Štrbu. Skláňa sa od východu na západ s výškovým rozdielom 550 m. Kotlina je takmer zo všetkých strán ohraničená ďalšími výraznými geomorfologickými štruktúrami patriacimi tiež regiónu Liptova. Severozápadné ohraničenie tvorí chočské pohorie s morfológicky výrazným Veľkým Chočom (1611 m.n.m.) a Prosečným (1372 m.n.m.). Severné ohraničenie je sprostredkované Západnými a Vysokými Tatrami. Južné ohraničenie tvoria Nízke Tatry. Na juhozápade je Liptovská kotlina ohraničená Veľkou Fatrou. Vysoké a Nízke Tatry sú tzv. jadrovými pohoriami. Ich jadrá sú tektonickými pochodmi vyzdvihnuté do geomorfologicky výrazných foriem. Tieto jadrá sú tvorené prvohornými kryštalickejšími (magmatickejšími a metamorfovanými) horninami. Na svahoch Vysokých a Nízkych Tatier sú uložené tektonické príkrovy druhohorných karbonátových hornín. Depresia Liptovskej kotliny je vyplnená treťohornými flyšovými vrstvami. Pod nimi sa nachádzajú útržky spomínaných karbonátových príkrovov a hlbšie pod nimi prvohorné kryštalickejší horniny (<http://www.gymmlm.sk/studovna/bio/geollipt.htm>).

Zoborské vrchy, patriace do CHKO Ponitrie, sú najjužnejšou a najbohatšou časťou pohoria Trábeč (Požgaj, 1984). Vrchol Zobora (588 m. n. m.) je oddelený plytkým sedlom od takmer rovnako vysokého vrcholu Pyramídy (544 m. n. m.). Geologické zloženie Zoborských vrchov je veľmi pestré. Z trinástich zaznamenaných pôdnych typov majú najbohatšie zastúpenie hnedé lesné a ilimerizované pôdy.

Klimaticky patrí táto oblasť k teplejším a suchším polohám Slovenska. Priemerné ročné teploty v dlhodobom priemere rokov 1901 – 1950 zo stanice Nitra sú 9,7°C, priemerný úhrn zrážok za rok 550 mm.

Fytogeograficky patria Zoborské vrchy do obvodu slovenskej predkarpatskej flóry. Charakteristické komponenty predkarpatskej flóry sa uplatňujú najmä v zložení bylinnej etáže lesných a lesostepných spoločenstiev. Tzv. skalné a trávnaté stepi sú charakterizované výskytom mnohých elementov panónskej flóry, do obvodu ktorej zasahuje Zobor ako predsunutá enkláva.

Mnohé druhy tu dosahujú západnú hranicu svojho areálu (napr. *Aconitum anthora*, *Spiraea media*), iné severnú hranicu svojho súvislého rozšírenia (*Iris pumila*, *Adonis vernalis*, *Thlaspi Jankae*).

Po fytocenologickej stránke sú zaradené xerothermné skalné a trávne spoločenstvá Zobora na vápencových podkladoch do zväzov *Festucion pallentis* Klika 1931 em. Korneck 1974 a *Festucion valesiaceae* Br. – Bl. Et Tx.1943, spoločenstvá kyslých substrátov do zväzu *Genistion Böcher* 1943.

Teplomilné krovité spoločenstvá duba plstnatého (*Eu- Quercion pubescentis* Klika 1957) prechádzajú do spoločenstiev teplomilných dúbav (*Quercio- Carpinion* Klika 1957). Na západných, severozápadných a severných úbočiach na hlbších pôdach sa nachádzajú spoločenstvá zväzu *Tilio- Acerion* Klika 1957. Lesné spoločenstvá na kremencoch môžeme zaradiť do zväzu *Quercion roburi- petraeae* Br. –Bl. 1932.

Na ochranu prirodzených xerothermných spoločenstiev s bohatým výskytom vzácných teplomilných druhov rastlín a živočíchov boli vyhlásené na tomto území tri NPR: Zoborská lesostep, Lupka a Žibrica (Svobodová, 1973, 2007).

Tab. 1: Tabuľka odobraných vzoriek z jednotlivých druhov podľa termínov odberu, lokality odberu, vývinového štádia a použitej fixáže.

Dátum odberu	Lokalita odberu	Druh	Vývinové štádium	Použitá fixáž
13. 02. 2008	Ružomberok	<i>C. alaunicus</i>	dormantné púčiky	NAV
14. 02. 2008	Ružomberok	<i>C. alaunicus</i>	dormantné púčiky	NAV
16. 02. 2008	Zobor	<i>C. matrensis</i>	dormantné púčiky	NAV
18. 02. 2008	Zobor Ružomberok	<i>C. matrensis</i> <i>C. alaunicus</i>	dormantné púčiky	NAV
07. 03. 2007	Zobor	<i>C. matrensis</i>	púčiky	NAV
10. 03. 2008	Zobor	<i>C. matrensis</i>	kvetné púčiky	NAV
15. 03. 2008	Zobor	<i>C. matrensis</i>	červenkasté púčiky	NAV
17. 03. 2008	Zobor	<i>C. matrensis</i>	červenkasté kvetné púčiky	NAV
21. 03. 2007	Ružomberok Zobor	<i>C. alaunicus</i> <i>C. matrensis</i> <i>C. matrensis</i>	púčiky púčiky, lupienky orezané púčiky	NAV
29. 03. 2007	Zobor	<i>C. matrensis</i>	púčiky	NAV
01. 04. 2008	Zobor	<i>C. matrensis</i>	púčiky	NAV
04. 04. 2007	Zobor	<i>C. matrensis</i>	púčiky (zač. štádium kvitnutia)	NAV
10. 04. 2008	Zobor	<i>C. matrensis</i>	červenkasté (uzavreté) okraje c. lupienkov	NAV
16. 04. 2007	Zobor	<i>C. matrensis</i>	púčiky	NAV
17. 04. 2008	Zobor	<i>C. matrensis</i>	začiatok kvitnutia	NAV
23. 04. 2008	Zobor	<i>C. matrensis</i>	kvety	NAV
05. 05. 2008	Zobor	<i>C. matrensis</i>	semenníky	NAV
11. 05. 2007	Zobor	<i>C. matrensis</i>	čiastočne orezané semenníky mladé plody	FAA
14. 05. 2008	Zobor	<i>C. matrensis</i>	vyvíjajúce sa plody	NAV
05. 06. 2008	Zobor	<i>C. matrensis</i>	vyvíjajúce sa plody	FAA
11. 06. 2007	Ružomberok	<i>C. alaunicus</i>	vyvíjajúce sa plody	NAV
12. 06. 2007	Ružomberok	<i>C. alaunicus</i>	plody založené púčiky	FAA NAV
06. 08. 2008	Zobor	<i>C. matrensis</i>	púčiky	FAA
12. 09. 2007	Zobor	<i>C. matrensis</i>	púčiky	NAV

Pre cyto-embryologické štúdium vývinových štádií reprodukčných orgánov ako aj semien a plodov sa živý materiál spracúva na trvalé preparáty zaliate v kanadskom balzame. Príprava trvalých mikroskopických preparátov je spracovaná podľa modifikovanej metodiky Pazourkovej (1986).

Živý biologický materiál podlieha po oddelení od materského organizmu rýchlej skaze, pri ktorej dochádza k zmenám jeho vnútornej štruktúry. Ak chceme biologický materiál uchovať pre ďalšie štúdium, musíme ho fixovať. Fixácia je rýchle a šetrné usmrtenie biologického objektu pomocou fixačného roztoku, pri ktorom dochádza k čo najmenším zmenám vnútornej štruktúry. Objekt sa stane odolnejším voči pôsobeniu vonkajších vplyvov a koaguláciou zložiek protoplazmy sa zvyšujú rozdiely v optických vlastnostiach štruktúr, ktoré sa tak zvýraznia. Za účelom rýchlejšieho a účinnejšieho prenikania fixáže do celých objektov k skúmaným častiam je vhodné materiál pred fixáciou upraviť. Z púčikov treba ostrou žiletkou odstrániť niekoľko vrstiev ochranných šupín, z kvetných púčikov a kvetov vypreparovať piestiky a tyčinky.

Odobraný materiál sme fixovali na mieste odberu alebo v laboratóriu vo formaldehyd-aceto-etanolovej (FAA) fixácii, ktorá je jednou z najpoužívanejších fixačných roztokov používaných v botanickej mikrotechnike. Potreba fixácie je 6 – 12 hodín, pre hrubšie objekty 24 hodín. Fixáž sa osvedčila ako vhodná pre fixáciu pokročilejších vývinových štádií (plody).

Zloženie FAA fixáže:

- | | |
|--------------------------|-------|
| ▪ 50 % alebo 70 % etanol | 90 ml |
| ▪ ľadová kyselina octová | 5 ml |
| ▪ 40 % formaldehyd | 5 ml |

Odobraný materiál skorších vývinových štádií (púčiky, kvety) je vhodné fixovať v Navašinovej fixácii NAV (Randolphova modifikácia) pre dosiahnutie lepšieho cytologického obrazu a fixovania jadra. Túto fixáž je nutné pripraviť tesne pred použitím, miešanie zložiek je 1 : 1. Objekty sme ponechali po dobu 24 hod. v NAV fixácii, potom sa 24 hod. premývajú destilovanou vodou.

Zloženie NAV fixáže:

- | | | |
|------------|------------------------|-------|
| ▪ Zložka A | kyselina chrómová | 1 g |
| | ľadová kyselina octová | 7 ml |
| | destilovaná voda | 92 ml |
| ▪ Zložka B | formaldehyd | 30 ml |

Fixované a vyprané objekty sme zalievali do parafínu, ktorý je ešte stále najpoužívanejším materiálom, do ktorého sa objekty zalievajú na rezanie. Parafín sa nemieša s vodou, preto je nutné objekty najprv odvodniť, aby do nich mohol parafín preniknúť. Odvodnenie musí byť postupné, aby nedochádzalo k scvrkávaniu pletív. Najpoužívanejším dehydratačným činidlom je etanol. Vyprané objekty sme prevádzali odvodňovacím etanolovým radom pozostávajúceho z jednotlivých zmesí etanolu a vody so stúpajúcou koncentráciou etanolu. Objekty začínali odvodňovať po ich vypraní vo vode. Pri prenášaní z jednej zmesi do druhej je nutné dbať, aby boli objekty čo najlepšie osušené. Je vhodné mať po dve nádoby 96 % aj 100 % etanolu. Keďže sa parafín v etanole nerozpúšťa, museli sme odvodnené objekty previesť do intermédiu – xylénu, ktorý sa mieša s etanolom a rozpúšťa parafín. Až potom sme objekty zalievali do parafínu.

Postup:

1. premývanie 50 % alebo 70 % alkoholom (podľa použitej fixáže) po dobu 24 hod. (2 – 3x opakujeme)
2. odvodnenie

50 % etanol		12 – 24 hod.
70 % etanol		12 – 24 hod.
80 % etanol		12 – 24 hod.
96 % etanol		12 – 24 hod. (2x vymenený)
100 % etanol		12 – 24 hod. (2x vymenený)
3. prestúpenie intermédiom

etanol : xylén	3 : 1	3 hod.
etanol : xylén	1 : 1	3 hod.
etanol : xylén	1 : 3	3 hod.
čistý xylén		12 – 24 hod.(2x vymenený)
4. zaliatie do parafínu

xylén + parafín pri 40°C	24 hod.
xylén + parafín pri 60°C	24 hod.
$\frac{1}{4}$ zliať + $\frac{1}{4}$ čistý parafín	12 – 24 hod.
$\frac{1}{2}$ zliať + $\frac{1}{2}$ čistý parafín	12 – 24 hod.

$\frac{3}{4}$ zliať + $\frac{3}{4}$ čistý parafín 12 – 24 hod.

vymeniť celý parafín za čistý 12 – 24 hod.

5. zalievanie do parafínových bločkov

Časové rozpätie v jednotlivých stupňoch rady sme upravovali podľa veľkosti objektov a podľa charakteru pletív prevažujúcich v odobratom biologickom materiáli. Z takto zaliatych objektov sme na rotačnom mikrotome firmy Leitz pripravovali série rezov o hrúbke 8 – 12 μm . Pre štúdium zárodočných mieškov a počiatočných etáp embryogenézy sme pripravovali rezy s hrúbkou 6 – 8 μm . Rezy sme lepili na vopred pripravené sklíčka potreté zmesou glycerolu a vaječného bielka v pomere 1 : 1 s pridaným kryštálom thymolu. Preparáty sme sušili v termostate pri teplote 40 °C po dobu 24 hod. Potom sme rezy farbili podľa Heidenhaena.

Postup:

1. odparafínovanie v xyléne po dobu 20 – 30 min. (3x opakujeme)

2. prevedenie do vody

100 % etanol 15 min.

96 % etanol 15 min.

70 % etanol 15 min.

50 % etanol 15 min.

30 % etanol 15 min.

3. premytie destilovanou vodou po dobu 10 min.

4. predpôsobenie 2,5 % kamencom (síran železnato-amónny) po dobu 10 – 30 min.

5. premytie destilovanou vodou po dobu 10 min. (2x opakujeme)

6. farbenie Hendenhainovým hematoxylínom

semená 5 – 10 min.

zárodočné miešky 6 – 15 hod.

7. premytie destilovanou vodou po dobu 10 min. (niekoľkokrát opakujeme)

8. diferenciácia 2,5 % kamencom po dobu 5 – 30 min.

9. premytie tečúcou vodou po dobu 10 min.

10. odvodnenie

30 % etanol 15 min.

50 % etanol 15 min.

70 % etanol	15 min.
96 % etanol	15 min.
100 % etanol	15 min.

11. prejasnenie karboxylom po dobu 10min.
12. prestúpenie xylénom po dobu 10 min. (2x opakujeme)
13. zaliatie do kanadského balzamu

Trvalé mikroskopické preparáty sa vyhodnocujú svetelným mikroskopom Olympus BX41.

Fotodokumentáciu vývinových štádií reprodukčných orgánov sme zaznamenávali pomocou fotoaparátu Olympus E-520.

Makroskopické pozorovania jednotlivých častí reprodukčných orgánov a vývin generatívnych diaspór sme zaznamenávali na binokulárnej lupe zn. OLYMPUS SZ 40. Terénna dokumentácia bola robená pomocou digitálneho fotoaparátu zn. OLYMPUS C-750.

4 VÝSLEDKY PRÁCE

COTONEASTER ALAUNICUS GOLITSIN

Pri uvedenom druhu sa nám z odberov, ktoré sme mali k dispozícii podarilo vyhodnotiť počiatočné vývinové štádiá samčieho a samičieho gametofytu a pokročilejšie štádiá vývinu plodov.

Zistili sme, že generatívne púčiky sledovaného druhu sa na monitorovanej lokalite zakladajú v júni predchádzajúceho roka. Ku koncu vegetačného obdobia prechádzajú do dormancie a ich ďalší vývin pokračuje v nasledujúcom roku. Rašenie generatívnych púčikov *C. alaunicus* sme na sledovanej lokalite v daných rokoch sledovania zaznamenali koncom februára až začiatkom marca (obr. 8).

Pozorovaním vývinu samčieho gametofytu sme zistili, že v dormantných púčikoch sa nachádzajú peľnice, v ktorých je prítomný primárny archespór obklopený vrstvou buniek, z ktorých neskôr vzniká tapetum. Stenu peľníc v tomto štádiu tvorí exotécium a tri podpokožkové vrstvy (obr. 6). S nástupom vegetácie sme v peľniciach zaznamenali radiálne delenie buniek primárneho archespóru a tangenciálne delenie buniek, obklopujúcich archespór (obr. 7). Výsledkom týchto delení bol vznik sporogénneho pletiva uprostred peľnice obklopeného vrstvou jednojadrových tapetových buniek. Z pokračujúcich procesov v peľniciach, ktoré prebiehajú v jarnom období (koniec februára, začiatok marca v sledovaných rokoch) sme na začiatku vegetácie zaznamenali diferenciáciu mikrosporocytov a súčasne delenie jadier tapetovej vrstvy, za vzniku viacjadrových tapetových buniek (obr. 11). V tomto štádiu sme zaznamenali aj delenie buniek podpokožkovej vrstvy tesne pod exotéciom, z ktorej sa neskôr diferencuje endotécium. Z ďalších vývinových štádií zaznamenaných vo vyvíjajúcich sa púčikoch sme zaznamenali diferenciáciu mikrosporocytov a ich osamostatňovanie sa pred meiózou (obr. 21). V tomto štádiu boli mikrosporocyty obklopené tapetovou vrstvou, ktorej bunky boli prevažne dvojjadrové a trojjadrové. Okrem peľníc s normálne vyvinutým sporogénnym pletivom sme zaznamenali aj peľnice so silne vakuolizovanými sporogénnymi bunkami, ktoré vykazovali rôzny stupeň degenerácie (obr. 22). Výskyt degerovaného sporogénneho pletiva v jednej peľnici bol najčastejšie zaznamenaný v dvoch komôrkach, pričom dve komôrky mali normálne vyvinuté sporogénne pletivo.

Pozorovaním dormantných púčikov sme zistili, že v piestiku sa nachádzajú základy vajíčok vo forme mierne vyklenutých meristemických hrbolčekov na diferencujúcej sa placente. Blizny trojčnelkových piestikov boli v tomto období tvorené jednojadrovými papilami (obr. 33).

Pozorovaním normálne sa vyvíjajúcich plodov na makroskopickú úroveň sme zistili, že najčastejšie sa v analyzovaných plodoch vyskytovali štyri kôstky, zriedkavejšie tri kôstky. Extirpovaním kôstok sme zistili, že nie každá kôstka obsahovala normálne sa vyvíjajúce semeno. Plody so štyrmi kôstkami najčastejšie obsahovali jedno až tri normálne sa vyvíjajúce semená (obr. 47, 48, 49), ostatné kôstky buď obsahovali zvyšky neoplodnených vajíčok alebo degenerujúce semená. Z plodov s tromi kôstkami sme zaznamenali aj vývin takých plodov, ktorých všetky tri kôstky obsahovali normálne vyvinuté semená. Z týchto pozorovaní môžeme konštatovať, že v kôstkovičiach *C. alaunicus* dozrieva jedno až tri normálne vyvinuté semená.

***COTONEASTER MATRENSIS* DOMOKOS**

Pri tomto vzácnom druhu sa nám vzhľadom na vyššiu frekvenciu pravidelných odberov rastlinného materiálu z prístupnejšej lokality podarilo objasniť väčšinu rozhodujúcich etáp generatívneho reprodukčného cyklu.

Pozorovali sme, že na uvedenej lokalite sa generatívne púčiky zakladajú v lete, najčastejšie koncom mája až začiatkom júna predchádzajúceho roku (obr. 3, 4, 5). V tomto období dochádza v púčikoch k zakladaniu generatívnych orgánov a na konci vegetačného obdobia, v septembri až októbri prechádzajú púčiky do obdobia dormancie.

Vývin samčieho gametofytu:

Zistili sme, že peľnice v dormantných púčikoch obsahovali archespórové pletivo, ktorého bunky za začali deliť a vyvíjať na sporogénne pletivo krátko po začatí vegetácie, čo v sledovaných rokoch bolo koncom februára. V tomto období sme zaznamenali aj diferenciáciu tapetovej vrstvy obklopujúcej sporogénne bunky. Stena peľnice bola v tom čase tvorená exotéciom a troma podpokožkovými vrstvami. Okrem normálne sa vyvíjajúcich peľníc sme pri tomto druhu v štádiu diferenciácie sporogénneho pletiva a mikrosporocytov zaznamenali degenerovaný obsah peľových komôrok, častejšie sme však pozorovali degeneráciu tapetovej vrstvy, čo v neskoršom štádiu vedie k degenerácii vyvíjajúceho sa samčieho gametofytu (obr. 9, 10).

Pozorovali sme, že nástup a trvanie jednotlivých fáz vo vývine samčieho gametofytu (priebeh mikrosporogenézy ale aj mikrogametogenézy) je rôzny v závislosti od postavenia púčika, neskoršie kvetu v rámci súkvetia. Zatiaľ čo vo vyššie postavených, rýchlejšie sa vyvíjajúcich púčikoch a neskôr aj kvetoch sme pozorovali pokročilejšie vývinové štádia, nižšie postavené púčiky a kvety súkvetia vykazovali oneskorenejší vývin samčieho gametofytu. Napr. vyššie postavené púčiky obsahovali peľnice, v ktorých prebiehala meióza, nižšie postavené púčiky obsahovali v peľniciach samčí archespór, príp. sporogénne pletivo (obr. 17). Zistili sme, rôzne vývinové štádia v peľniciach sa vyskytujú aj v závislosti od postavenia peľníc v kvete. Samčí gametofyt vo vonkajších kruhoch peľníc bol spravidla v pokročilejšom štádiu vývinu ako vo vnútorných kruhoch peľníc. Okrem toho sme v peľniciach zaznamenali asynchrónnosť vo vývine samčieho gametofytu, ktorá sa prejavovala tým, že v niektorých peľových

komôrkach jednej peľnice sa vyskytovali pokročilejšie vývinové štádiá, v niektorých oneskorenejšie (obr. 18) . Napr. zatiaľ čo v niektorých komôrkach sa vyskytovali diferencujúce sa mikrosporocyty, iné komôrky už obsahovali rozličné fázy meiózy, v niektorých komôrkach fázy heterotypického delenia (najčastejšie boli pozorované metafázy I. a anafázy I.), iné už fázy homeotypického delenia (najčastejšie metafázy II. a telofázy II.) (obr. 12, 14).

Zistili sme, že mikrosporogenéza v najrýchlejšie sa vyvíjajúcich púčikoch *C. matrensis* na lokalite Zobor v sledovaných rokoch prebiehala v polovici marca a v ďalších, oneskorenejšie sa vyvíjajúcich púčikoch sme mikrosporogenézu pozorovali ešte koncom apríla, kedy niektoré peľnice v týchto púčikoch obsahovali ešte nedeliace sa mikrosporocyty (obr. 13, 20). Okrem komôrok s normálne vyvinutými mikrosporocytmi sme pozorovali aj komôrky s degenerovaným obsahom (obr. 19). Priebeh mikrosporogenézy bol simultánny a výsledkom tohto procesu boli tetrády mikrospór, najčastejšie tetraedrického tvaru (obr. 15). Pozorovali sme, že počas mikrosporogenézy je v peľniciach prítomné dobre vyvinuté sekretorické tapetum, bunky ktorého obsahovali najčastejšie 5 – 6 jadier, časté boli tiež osemjadrové tapetové bunky, zriedkavejšie sa vyskytovali 10 – 12 jadrové bunky tapeta. Jadrá v niektorých tapetových bunkách boli pozorovateľné ešte v štádiu zväčšovania sa mikrospór. Neskôr, v štádiu zrenia mikrospór boli zvyšky tapetových buniek v peľniciach prítomné vo forme tmavých fragmentov.

Podľa našich pozorovaní k rozpadu tetrad mikrospór na samostatné mikrospóry dochádzalo v druhej polovici marca, v neskoršie sa vyvíjajúcich púčikoch ešte počas apríla (obr. 16). V priebehu rastu a diferenciácie mikrospór sme okrem normálne sa vyvíjajúcich a zväčšujúcich sa mikrospór zaznamenali tiež mikrospóry, ktorých objem bol niekoľkonásobne väčší, hoci ich jadrá mali rovnakú veľkosť ako normálne sa vyvíjajúce mikrospóry (obr. 23, 24). Okrem týchto mikrospór sme v niektorých komôrkach zaznamenali tiež vyvíjajúce sa mikrospóry polovičnej veľkosti v porovnaní s normálne sa vyvíjajúcimi mikrospórami. Výsledkom týchto porúch počas diferenciácie mikrospór bol tvarovo a veľkostne nevyrovnaný peľ, ktorý sme zaznamenali v niektorých dozrievajúcich peľových vačkách (obr. 25, 26).

Mikrogametogenéza pri sledovanom druhu na lokalite Zobor podľa našich pozorovaní prebieha v apríli, jej výsledkom sú dvojbunkové peľové zrná (obr. 27, 28, 30). Zistili sme, že po skončení mikrosporogenézy a súčasne s prebiehajúcou mikrogametogenezou dochádza k formovaniu steny peľnice. Počas diferenciácie

mikrospór sme zaznamenali aj diferenciáciu podkožkovej vrstvy – endotécia (obr. 29). V dozrievajúcich peľniciach koncom apríla sme pozorovali endotécium, ktorého bunky mali dobre vyvinuté fibrózne zhrubnutiny. Endotécium bolo jednovrstvové, iba zo strany konektívu sa nachádzali dve vrstvy (obr. 31). Stena peľnice sa potom skladala z exotécia, endotécia a dvoch stredných vrstiev s čiastočne stlačenými bunkami. Rozpad stien medzi komôrkami a splývanie komôrok do jedného peľového vaku sme pozorovali na začiatku mikrogametogenézy.

Vývin samičieho gametofytu

Pozorovaním vývinu samičieho gametofytu sme zistili, že piestik sa v generatívnych púčikoch zakladá počas leta a jesene predchádzajúceho roku. V dormantných púčikoch je už zreteľne rozlíšený na spodnú časť – semenník a tri čnelky zakončené krátko papilóznymi bliznami. V semenníku sme pozorovali základy vajíčok vo forme veľmi nevýrazných slabo vypuklých meristemických hrbolčekov na placente. Ďalší vývin vajíčok pokračuje na jar nasledujúceho roku. Zväčšovanie meristemických základov vajíčok sme pozorovali koncom februára a začiatkom marca. K diferenciácii základov vajíčok na nucelus a integumenty dochádzalo podľa našich pozorovaní v druhej polovici marca (obr. 32). Počas týchto procesov sme zaznamenali aj diferenciáciu obturátora na báze pútka. V tomto čase dochádza k otáčaniu vajíčok z priečnej polohy do obrátenej, čím sa v čase zrelosti stávajú vajíčka anatropnými.

Zistili sme, že zrelé vajíčka *C. matrensis* sú anatropné, bitegmické a krasinucelátne. Pozorovali sme zakladanie a vývin dvoch vajíčok na jeden plodolist (v jednej komôrke) trojplodolistového gynecea (obr. 35, 36). Prítomnosť samičieho archesporu sa nám z odobratého a doteraz spracovaného materiálu zatiaľ nepodarilo zachytiť a lineárnu terádu megaspór sme pozorovali iba v dvoch vajíčkach z polovice apríla. Podľa našich pozorovaní megagametogenéza prebieha v apríli, v závislosti od postavenia púčika v súkvetí. Zistili sme, že vývin zárodočného mieška prebieha podľa typu Polygonum. Okrem jedného vyvíjajúceho sa zárodočného mieška sme zaznamenali aj prípady, kedy sa v jednom vajíčku vyvíjali dva zárodočné miešky, dokonca tento jav bol častejší ako vývin jedného zárodočného mieška (obr. 34). V prípade dvoch vyvíjajúcich sa zárodočných mieškov sme pozorovali, že jeden z nich degeneroval najčastejšie v dvojjadrovom štádiu. V niektorých prípadoch sa vyvíjali obidva zárodočné miešky až do osemjadrového štádia. Okrem osemjadrových zárodočných

mieškov sme pozorovali aj neúplné zárodočné miešky, ktoré mali napr. štyri jadrá v chalazálnej oblasti a iba jedno jadro v mikropylárnej oblasti. Okrem takýchto zárodočných mieškov sme pozorovali tiež vajíčka, v ktorých sa vyskytovali multiplikatívne mnohojadrové zárodočné miešky, v susedstve ktorých sme zaznamenali prítomnosť niekoľkých (8 - 10) aposporických iniciál alebo jednojadrových aposporických zárodočných mieškov (obr. 37, 38, 39, 40, 41). V jednom prípade sme pozorovali posfertilizačný vývin multiplikatívneho zárodočného miešku, v ktorom bola prítomná zygota a niekoľko voľných jadier endospermu.

Embryogenéza

Na základe našich pozorovaní môžeme konštatovať, že k opeleniu a oplodneniu pri skúmanom druhu na sledovanej lokalite dochádza na začiatku mája. V tomto čase sme vo vajíčkach pozorovali buď zvyšky neúspešne oplodnených degenerujúcich zárodočných mieškov alebo počiatočné štádiá vývinu endospermu a embrya (obr. 42, 43). Endospem sa na začiatku vyvíja ako voľnojadrový, až neskôr dochádza k jeho celularizácii (obr. 44, 46). Globulárne štádium vývinu embrya sme pozorovali v polovici mája (obr. 45). Začiatkom júna vnútorné steny plodolistov silne sklerifikujú a vytvárajú kôstky, vo vnútri ktorých sa vyvíjajú semená. Pri druhu *C. matrensis* sme zaznamenali, že v plodoch sa zvyčajne vyvíjajú dve až štyri kôstky. Počet normálne sa vyvíjajúcich semien v jednom plode bol od 1 – 4, ale vyskytovali sa aj plody, ktoré neobsahovali ani jedno semeno. Tieto bezsemenné plody sa dali dobre identifikovať podľa veľkosti, keďže v porovnaní s plodmi, ktoré obsahovali aspoň jedno vyvinuté semeno boli porovnateľne menšie. Na vyvíjajúcich plodoch sme na lokalite Zobor pozorovali poškodenie plodov požerkami neznámych druhov živočíchov. Plody, ktoré dozrievajú v priebehu leta, zostávajú v niektorých prípadoch na kríkoch aj počas zimy, v ojedinelých prípadoch ešte počas jarného rašenia listov a generatívnych púčikov v nasledujúcom roku (obr. 1, 2).

5 DISKUSIA

Zástupcovia podčel'ade *Maloideae* z čel'ade *Rosaceae* do ktorej patria aj skúmané druhy rodu *Cotoneaster* majú vyvinuté viaceré spôsoby reprodukcie. Okrem generatívneho spôsobu rozmnožovania disponujú aj vegetatívnymi spôsobmi reprodukcie a častým javom pri polyploidných druhoch a krížencoch je výskyt apomixie. Ako uvádza Campbell, Green a Dickinson (1991) výskyt gametofytickej apomixie bol zaznamenaný takmer pri 100 taxónoch v 6 rodoch – *Aronia*, *Amelanchier*, *Cotoneaster*, *Crataegus*, *Malus* a *Sorbus*.

Pri rodoch s apomiktickými druhmi, pohlavne sa rozmnožujúce druhy zvyčajne vytvárajú iba jeden megagametofyt vo vajíčku, zatiaľ čo pri ich apomiktických príbuzných sa často vo vajíčku vyvíja viac ako jeden gametofyt (Muniyama, Phipps, 1979). Vývin dvoch zreých gametofytov vo väčšine analyzovaných vajíčok (51%) zaznamenal pri druhu *Amelanchier laevis* Campbell et al. (1985). Rovnako aj Ptak (1989) pri triploidných druhoch rodu *Crataegus* pozorovala výskyt 2, 3, 5, 6 a 8 zárodočných mieškov vo vajíčku, pričom najfrekvencovanejšie boli dva zárodočné miešky. Pri pozorovaniach vývinu samičieho gametofytu *Cotoneaster matrensis* sme dospeli k podobným výsledkom ako predchádzajúci autori. V analyzovaných vajíčkach *C. matrensis* sme najčastejšie zaznamenali vývin dvoch samičích gametofytov. Počas vývinu zárodočných mieškov sme v niektorých vajíčkach pozorovali degeneráciu jedného vyvíjajúceho sa zárodočného mieška, najčastejšie v dvojjadrovom štádiu, zatiaľ čo druhý zárodočný miešok pokračoval vo vývine. Ak sa vyvíjali dva zrelé gametofyty vo vajíčkach, tieto mali bipolárnu organizáciu. Okrem takýchto zárodočných mieškov sme pozorovali aj zárodočné miešky s menším počtom jadier ako 8 (napr. päťjadrové zárodočné miešky).

Pri hybridných druhoch čel'ade *Rosaceae* a podčel'ade *Maloideae*, ku ktorým patrí aj *C. matrensis* (predpokladaný kríženec *C. integerrimus* x *C. niger*) sa vyskytujú tiež multiplikatívne aposporické zárodočné miešky. Multiplikatívne zárodočné miešky pri niektorých druhoch rodu *Crataegus* pozorovala Ptak (1986). Multiplikatívne zárodočné miešky susediace s niekoľkými aposporickými iniciálami sme pozorovali pri skúmanom druhu *C. matrensis*.

Detailný opis normálne vyvinutých osemjadrových zárodočných mieškov pri druhoch rodu *Cotoneaster* prináša Hjelmqvist (1962). Zárodočné miešky, ktoré

pozoroval mali dobre vyvinutý vajcový aparát s oosférou a so synergidami hruškovitého tvaru, dvoma pólovými jadrami a tromi antipódami klinovitého tvaru. V zreých zárodočných mieškoch pozoroval veľké množstvo škrobových zrn.

Anatropné, bitegmické a krasinucelátne vajíčka, ktoré sme pozorovali pri obidvoch sledovaných druhoch rodu *Cotoneaster* sa vyskytujú pri väčšine zástupcov čeľade *Rosaceae* (Davis 1966, Poddubnaja – Arnoldi, 1982, Jakovlev, 1985). Masívny obturátor, ktorý Hjelmqvist (1962) pozoroval pri druhoch rodu *Cotoneaster* sme zaznamenali aj pri skúmaných druhoch.

Pri hybridných taxónoch čeľade *Rosaceae* sa často vyskytujú poruchy vo vývine samčieho gametofytu. Poruchy počas mikrosporogenézy prejavujúce sa v asynchrónnosti II. meiotického delenia, kde sa okrem metafázy II. vyskytovali aj anafázy II. a telofázy II. zaznamenala Ptak (1986, 1989) pri niektorých druhoch rodu *Crataegus*. Asynchrónny priebeh mikrosporogenézy s podobnými prejavmi sme zaznamenali pri *Cotoneaster matrensis*.

Degeneráciu tapeta, ktorú sme pozorovali pri obidvoch sledovaných druhoch rodu *Cotoneaster* pozorovala aj Ptak (1989) pri *Crataegus macrocarpa*. Autorka uvádza, že degenerácia tapetovej vrstvy môže byť príčinou úplnej aborcie pletiva v peľových komôrkach, čo potvrdzujú aj naše pozorovania pokročilejších vývinových štádií v peľnicicach *Cotoneaster matrensis*.

Normálne vyvinuté sekretorické tapetum, ktoré sme pozorovali pri *C. matrensis* malo najčastejšie 3 – 8 jadier, čo je obvyklý počet pre zástupcov čeľade *Rosaceae* (Davis 1966, Poddubnaja – Arnoldi, 1982, Jakovlev, 1985), avšak pri tomto druhu sme zaznamenali aj tapetové bunky s 10 – 12 jadrami.

Stavba zrelej peľnice a peľových zrn pozorovaných pri *C. matrensis* sú charakteristické pre čeľaď *Rosaceae* (Jakovlev, 1985).

Cytoembryologické údaje zistené pri skúmaní druhu *C. matrensis* a literárne údaje o príbuzných druhoch z podčeľade *Maloideae* podporujú indície o predpokladanom hybridnom pôvode tohto druhu, avšak túto domienku je nevyhnutné potvrdiť karyologickými analýzami.

6 ZÁVER

Na základe našich mikroskopických aj makroskopických pozorovaní jednotlivých štádií vývinu samčieho a samičieho gametofytu taxónov *Cotoneaster matrensis* a *Cotoneaster alaunicus* sme zistili originálne údaje.

Podľa našich zistení sa generatívne púčiky taxónu *C. matrensis* zakladajú koncom mája až začiatkom júna predchádzajúceho roka a *C. alaunicus* v júni predchádzajúceho roka.

Pri druhu *C. matrensis* sme v peľniciach pozorovali degeneráciu tapetovej vrstvy, čo v neskoršom štádiu vedie k degenerácii vyvíjajúceho sa samčieho gametofytu. Zistili sme, že nástup a trvanie jednotlivých fáz vývinu samčieho gametofytu je rôzny v závislosti od postavenia púčika, neskoršie kvetu v rámci súkvetia. Rôzne vývinové štádiá v peľniciach *C. matrensis* sa vyskytujú aj v závislosti od postavenia peľnic v kvete. V peľniciach sme zaznamenali asynchrónnosť vo vývine samčieho gametofytu, ktorá sa prejavovala rôznym stupňom vývinového štádia peľových komôrok v rámci jednej peľnice.

Mikrosporogenéza prebiehala v najrýchlejšie sa vyvíjajúcich púčikoch *C. matrensis* v polovici marca a v oneskorenejšie sa vyvíjajúcich púčikoch ešte koncom apríla. Mikrosporogenéza prebiehala simultánne, výsledkom čoho boli tetrády mikrospór, najčastejšie tetradrického tvaru. Bunky tapeta obsahovali najčastejšie 5 – 6 jadier. Zaznamenali sme aj tvarovo a veľkostne nevyrovnaný peľ, ktorý je výsledkom porúch počas diferenciácie mikrospór.

Mikrogametogenezu *C. matrensis* sme pozorovali v apríli a jej výsledkom boli dvojbunkové peľové zrná. Zrelé vajíčka *C. matrensis* sú anatropné, bitegmické a krasinucelátne. Zárodočné miešky sa vyvíjali podľa typu Polygonum. Pozorovali sme aj prípad, kedy sa vo vajíčkach vyvíjali dva zárodočné miešky. Zárodočné miešky boli neúplné, osemjadrové a multiplikatívne mnohojadrové s prítomnosťou 8 – 10 aposporických iniciál. V plodoch *C. matrensis* sa vyvíjali dve až štyri kôstky, v kôstkovičiach sa nachádzalo jedno až štyri normálne sa vyvíjajúce semená.

Štúdiom druhu *C. alaunicus* na mikroskopickej úrovni sme zaznamenali peľnice so silne vakuolizovanými sporogénnymi bunkami, ktoré boli degenerované. V plodoch *C. alaunicus* sa vyvíjali štyri kôstky a v kôstkovičiach dozrievalo jedno až tri normálne sa vyvíjajúce semená.

7 NÁVRH NA VYUŽITIE POZNATKOV

Pri štúdiu reprodukčného procesu vybraných taxónov čeľade *Rosaceae*: *Cotoneaster alaunicus* a *Cotoneaster matrensis* so zameraním na mikroskopické a makroskopické pozorovanie vývinu samičieho a samčieho gametofytu a jednotlivých etáp embryogenézy boli zistené jedinečné poznatky.

Embryológia semenných rastlín skúma proces vývinu zárodka v jeho spojitosti s vývinom ostatných pletív semena a v organickej nadväznosti na procesy sporogenézy, gametogenézy a oplodnenia, ktoré podmieňujú jeho vznik. Získané poznatky majú uplatnenie v šľachtiteľskej, semenárskej i pestovateľskej praxi. Embryologické poznatky sa využívajú napríklad pri in vitro embryogenéze, pri využívaní adventívnej embryónie na množiteľské ciele alebo pri využití a indukovaní samčej a samičej sterility atď. (Erdelská, 1981).

Poznanie mechanizmov generatívneho reprodukčného procesu, jeho normálny priebeh, objasnenie jeho príp. porúch vplyvom vonkajších a vnútorných faktorov má u skalníkov, ako predstaviteľov xerotermej krovinej vegetácie, z dlhodobej perspektívy otepľujúcej sa klímy význam z hľadiska prognózy a stratégie prežívania rastlín v zmenených podmienkach. Výskum xerofytných druhov rastlín sa v súčasnosti dostáva do popredia najmä v súvislosti s globálnym otepľovaním klímy (zvýšenie teploty, zníženie množstva zrážok a ich nerovnomerná distribúcia), pretože práve xerofyty majú vyvinuté viaceré morfológické a ekofyziologické adaptácie, pomocou ktorých prežívajú v období nedostatku vlhky, vysokých teplôt a vysokých dávok fotosynteticky aktívnej radiácie (Ružička, 2006).

Druhy rodu *Cotoneaster* sú mnohostranné v spôsobe rozmnožovania. Vyskytujú sa všetky spôsoby: vegetatívne rozmnožovanie, inkompatibilita, apomixia a zapájajú sa aj do extenzívnej hybridizácie a polyploidie. Zaznamenaná bola aj gametofytická apomixia (Campbell et al., 1991). Apomixia je pre využitie v poľnohospodárstve a najmä v šľachtiteľstve veľmi dôležitá a perspektívna. Jedince vyznačujúce sa pseudogamnou gametofytickou apomixiou vyžadujú opelenie pre tvorbu semien a šľachtitelia sa o ne zaujímajú pre ich schopnosť produkovať semenáčky s novou úrovňou ploidity (Talent et Dickinson, 2007).

Pozorovaním a štúdiom vybraných taxónov a konkrétnych druhov možno aktívne prispieť k ochrane a zachovaniu xerotermných biotopov Slovenska.

8 POUŽITÁ LITERATÚRA

1. BARANEC, T. 1990. Arboréta a záchrana ohrozených druhov dendroflóry Slovenska – Dendrol. sdělení, 34. s. 1 – 4.
2. BARANEC, T. 1995. *Biodiverzita niektorých zástupcov čeľade Rosaceae L. na Slovensku*. In: Ochrana biodiverzity rastlín, Nitra: VŠP, 1995, s. 39.
3. BARANEC, T. – BERTOVIÁ, L. – GOLIAŠOVÁ, K. et al. 1992. Flóra Slovenska IV/3: *Angiospermophytina, Dicotyledonepsida, Rosales*. Bratislava: Veda, 1992.
4. BARANEC, T. – ELIÁŠ, P.ml. 2004. Taxonómia a chorológia rodu *Cotoneaster Medicus* na území Nízkyh Tatier. In: *Príroda Nízkyh Tatier*, Banská Bystrica, 1:101-106, 2004.
5. BARTISH, V. I. – HYLMÖ, B. – NYBON, H. 2000. RAPD analysis of interspecific Relationships in presumably apomictic *Cotoneaster* species. Swedish University of Agricultural Sciences, 2000. s. 273-280.
6. BOROWICZ, K. 1959. *Gatunki z rodzaju Cotoneaster EHRH. W Polsce*. Arboretum Kórnickie, 1959, s. 1-108.
7. CAMPBELL, CH. S. – GREEN, C. W. – DICKINSON, T. A. 1990. Apomixis, Patterns of Morphological Variation, and Species Concepts in Subfam. *Maloideae (Rosaceae)*. In *Systematic Botany*, roč. 15, 1990, č. 1, s. 124-135.
8. CAMPBELL, CH. S. – GREEN, C. W. – DICKINSON, T. A. 1991. Reproductive Biology in Subfam. *Maloideae (Rosaceae)*. In: *Systematic Botany*, roč. 16, 1991, č. 2, s. 333-349.
9. DAVID, S., KALIVODA, H., KALIVODOVÁ, E., ŠTEFFEK, J. et al. 2007. *Xerothermné biotopy Slovenska*. Bratislava: Biosféra, 2007.
10. DAVIS, G. L. 1966. *Systematic embryology of the Angiosperms*. New York: John Wiley and sons, 1966. 528 s.
11. DICKINSON, A. T. – CAMPBELL. S. CH. 1991. Population Structure and Reproductive Ecology in the *Maloideae (Rosaceae)*. Toronto, Ontario, 1991, s. 350-362.
12. DOSTÁL, J., ČERVENKA, M. 1991. *Veľký kľúč na určovanie vyšších rastlín*, 1, SPN, Bratislava.

13. ERDELSKÁ, O. 1981. Embryológia krytosemenných rastlín. Bratislava: Veda, 1981. 232 s.
14. ERDELSKÁ, O. 1984. Využitie poznatkov embryológie pri štúdiu biológie druhov. In: Zpráva Bot. Čs. Společ. roč. 19, 1984, č. 3, s. 43-46.
15. ERDELSKÁ, O. 2000. Double fertilisation of angiosperms 1889-2000. *Biologia*, roč. 55, č. 4, s. 311-319.
16. FUTÁK, J. 1966. Morfologická terminológia. In: FUTÁK, J.[red.]: Flóra Slovenska I., SAV Bratislava.
17. HJELMQVIST, H. 1962. The Embryo sae development of some *Cotoneaster* species. *Bot. Noti. ser 115*, 208-36. Embryology ovule, Rosaceae.
18. HRABĚTOVÁ-UHROVÁ, A. 1962. Beitrag zur Taxonomie und Verbreitung der Gattung *Cotoneaster* in der Tsechoslovakei. *Pr. Brněn. Zakl. Čs. Akad. Věd.* 34/6, s. 197-248.
19. JAKOVLEV, M. S. 1985. Sravnitel'naja embryologija cvetkových rastenij. Leningrad: Nauka, 1985, s. 55-64.
20. JELŠOVSKÝ, R. 1997. *Chorológia a reprodukčná charakteristika lokálnych populácií taxónov rodu Cotoneaster Med. Vo Veľkej Fatre*: diplomová práca. Nitra: SPU, 1997. 87 s.
21. JOHRI, B. M. et al. 1992. Comparative Embryology og Angiosperms. Springer Verlag, Berlin Heidelberg, 1992, 1221 s. ISBN 3-540-53-633-7.
22. KIRPICZNIKOV, M., ZABINKOVA, N. 1977. Lexicon Rossico- Latinum in usum Botanicorum, Nauka, Leninopoli.
23. LEVINA, P., E. 1961. O klassifikaciji i nomenklature plodov, *botaničeskij žurnal*, 46/4, Moskva, s. 488-495.
24. LIPTÁK, L. 2004. *Rozšírenie a reprodukčná biológia druhov rodu Cotoneaster v NP Slovenský raj (NPR Stratená a PR Ostrá skala)*: diplomová práca. Nitra: SPU, 2004. 53 s.
25. MARHOLD, K. – HINDÁK, F. [eds.] 1998. Zoznam nižších a vyšších rastlín Slovenska. 1. vyd. Bratislava: Veda, 1998. 688 s. ISBN 80 – 224 – 0526 – 4.
26. MUNIYAMMA, A. et PHIPPS, J. B. 1979a. Cytological proof of apomixis in *Crateagus (Rosaceae)*. In *American Journal of Botany*, roč. 66 1979, č. 2, s. 149-155.

27. MUNIYAMMA, M.-PHIPPS, J. B. 1979b. Cytological proof of apomixis in *Crataegus* (*Rosaceae*). In: Amer. J. Botany, roč. 66, 1979, č. 2, s. 149-155.
28. NOVÁK, F. A. 1961. Vyšší rostliny – Tracheophyta, ČAV, Praha.
29. OLMEZ, Z. et al. 2007. Effect of cold stratification treatments on germination of drought tolerant shrubs seeds. Journal of Enviromantal Biology. roč. 28, 2007, č. 2, s.447-453.
30. PAZOURKOVÁ, Z. 1986. Botanická mikrotechnika. Vyd. Praha ed. KU, 1986, 166 s. ISBN 60-82-85.
31. PODDUBNAJA-ARNOELDI, V. A. 1964. Obščaja embryologija pokrytosemennych rastenij. Moskva: Nauka, 1964. 482 s.
32. PODDUBNAJA-ARNOELDI, V. A. 1982. Charakteristika semejstv pokrytosemennych rastenij po citoembryologičeskim priznakam. Moskva: Nauka, 1982. 482 s.
33. PTAK, K. 1986. Cyto-embryological investigations on the Polish representatives of the genus *Crataegus* L. I. Chromosome numbers, embryology of diploid and tetraploid species. In: Acta biologica cracoviensia, roč. 28, 1986, č. 9–10, s. 107-124.
34. PTAK, K. 1989. Cyto-embryological investigations on the Polish representatives of the genus *Crataegus* L. II. Embryology of triploid species. In: Acta biologica cracoviensia, roč. 31, 1989, č. 5, s. 97-112.
35. RĚHOŘEK, V. et al. 2007. Lišajníky, machorasty a cievnaté rastliny Zoborských vrchov. Nitra: Universum, 2007. ISBN 978-80-8069-897-3.
36. ROHRER, J.R.-ROBERTSON, K.R.-PHIPPS, J.B. 1994. Floral morphology of Maloideae (*Rosaceae*) and its systematic relevance. American Journal of Botany, roč. 81, 1994, č. 5, s.574-581.
37. RUŽIČKA, M. 2006. Xerothermné biotopy Slovenska. Bratislava: Biosféra, 2006, 89 s.
38. SVOBODOVÁ, Z.. manuscript, 1973.
39. SVOBODOVÁ, Z.. manuscript, 2007.
40. TALENT, N. – DICKINSON, T. A. 2007a. Endosperm formation in aposporous *Crataegus* (*Rosaceae*, *Spiraeoideae*, tribe *Pyreae*): parallels to *Ranunculaceae* and *Poaceae*. In *New Phytologist*, roč. 173, 2007, č. 2, s. 231-249.
41. TALENT, N. – DICKINSON, T. A. 2007b. Apomixis and hybridization in *Rosaceae* subtribe *Pyrinae* Dumort.: a new tool promises new insights.

Apomixis. Evolution, Mechanism and Perspectives. Gantner Verlag, 2007 s. 301-316, ISBN 13-9783906166605.

42. TALENT, N. – DICKINSON, T. A.. 2007. The potential for ploidy level increases and decreases in *Crataegus* (Rosaceae, Spiraeoideae, tribe Pyreae). In: Canadian Journal of Botany, roč. 85, 2007, č. 6, s. 570 – 584.
43. VOLF, F. 1990. Poľnohospodárska botanika. Bratislava: Príroda, 1990. 540 s.
44. <<http://www.gymml.sk/studovna/bio/geollipt.htm>>

PRÍLOHA



Obr. 1:
C. matrensis v štádiu
rašenia listov
(prvá polovica marca)



Obr. 2:
C. matrensis –
prezimujúci plod
(prvá polovica marca)



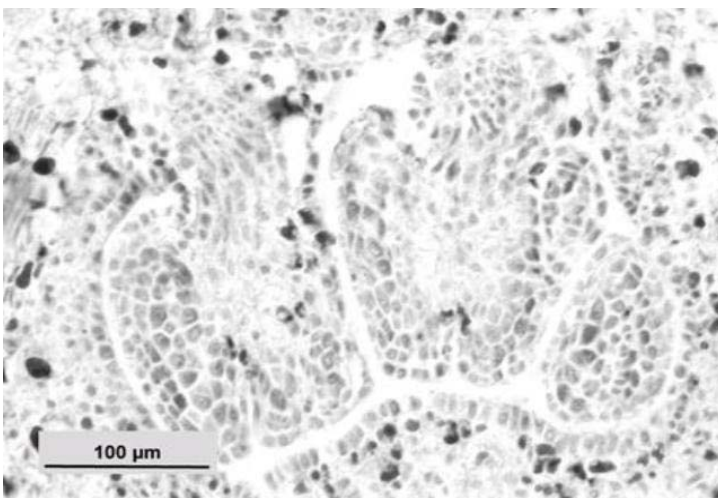
Obr. 3:
C. matrensis – kvitnúce
konáriky z lokality
(koniec apríla)



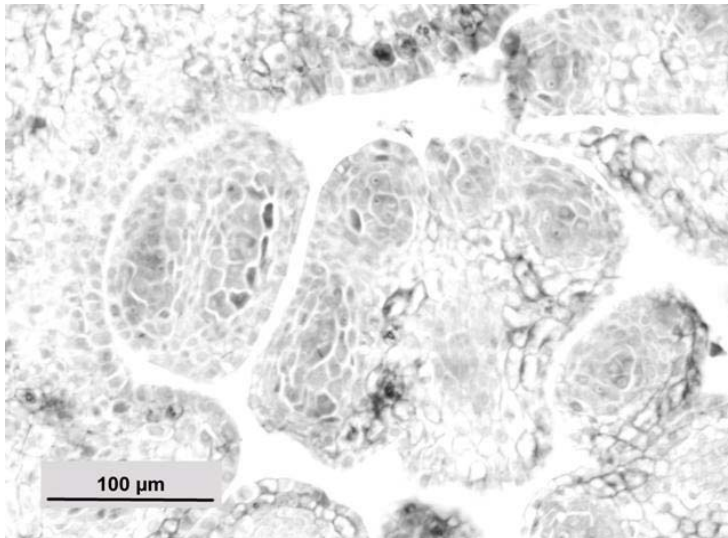
Obr. 4:
C. matrensis – detail
súkvetia pred
rozkvitnutím
(polovica apríla)



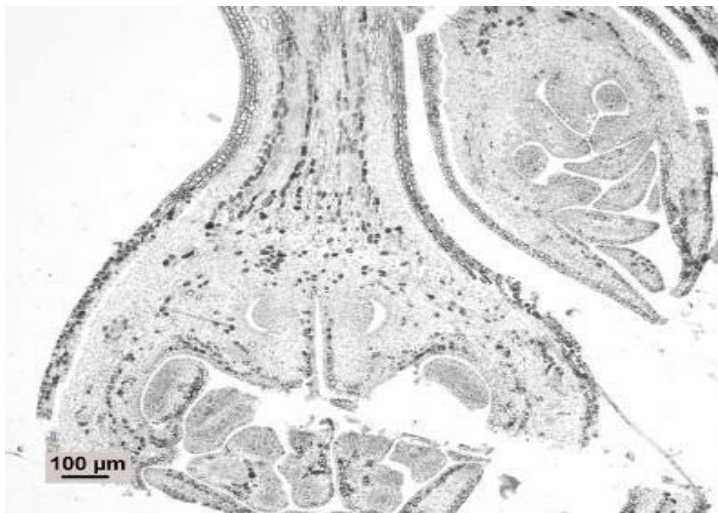
Obr. 5:
C. matrensis – detail
súkvetia na začiatku
kvitnutia
(koniec apríla)



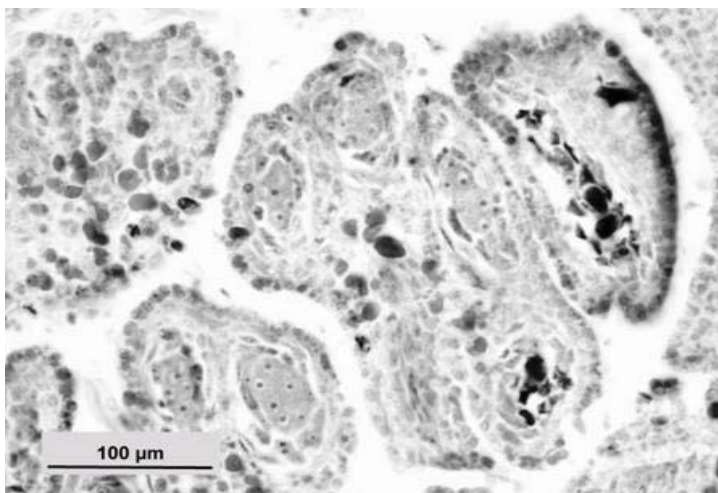
Obr. 6 :
C. alaunicus – peľnice
s archespórovým
pletivom (13. 2. 2008)



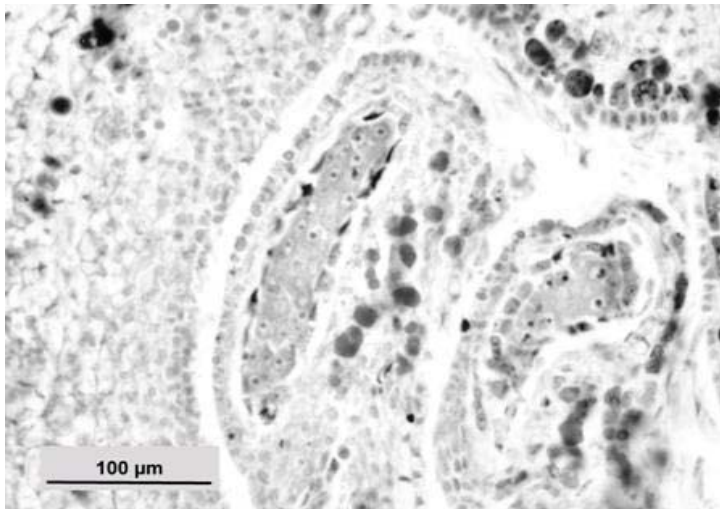
Obr. 7:
C. alaunicus –
 delenie jadier
 archespóru a tapetovej
 vrstvy
 (14. 2. 2008)



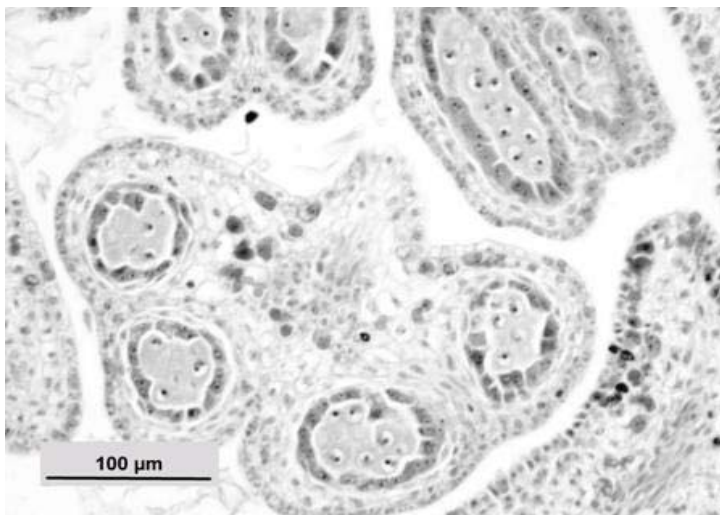
Obr. 8:
C. alaunicus – prierez
 časťou súkvetia
 s dormantnými púčikmi
 (14. 2. 2008)



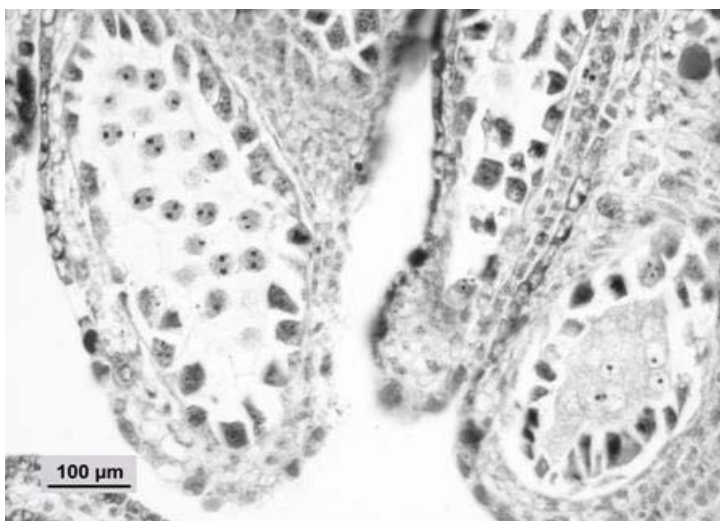
Obr. 9:
C. matrensis – peľnice
 s normálne vyvinutým
 a degenerovaným
 obsahom peľových
 komôrok v štádiu
 mikrosporocytov
 (18. 2. 2008)



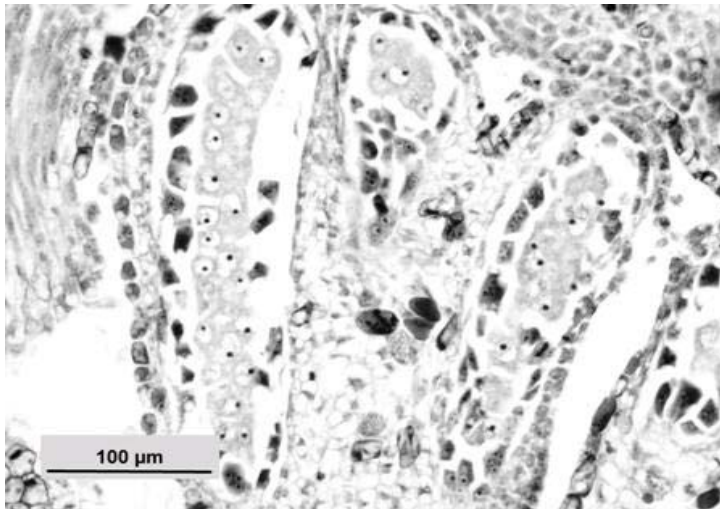
Obr. 10:
C. matrensis –
 degenerácia tapeta
 (18. 2. 2008)



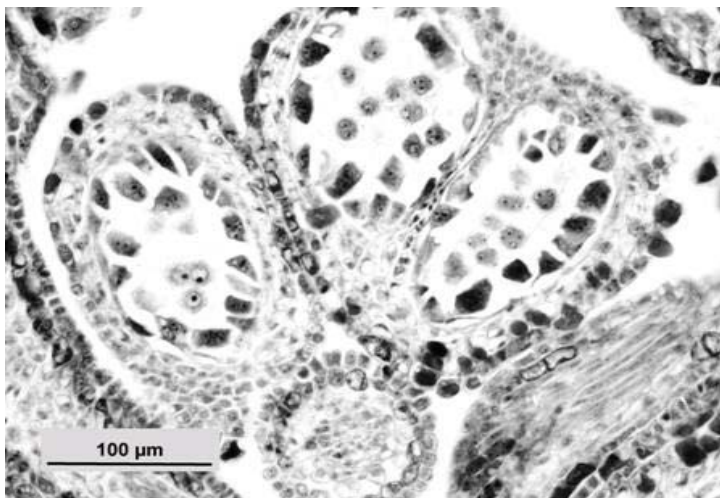
Obr. 11:
C. alaunicus – 4-
 komôrkové peľnice
 s mikrosporocytmi
 (18. 2. 2008)



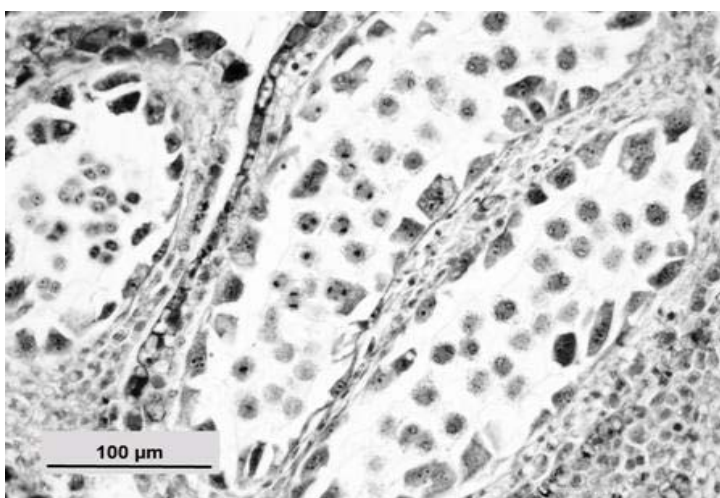
Obr. 12:
C. matrensis – anafáza
 I. meiózy (vľavo)
 a sporogénne pletivo
 (vpravo) (15. 3. 2008)



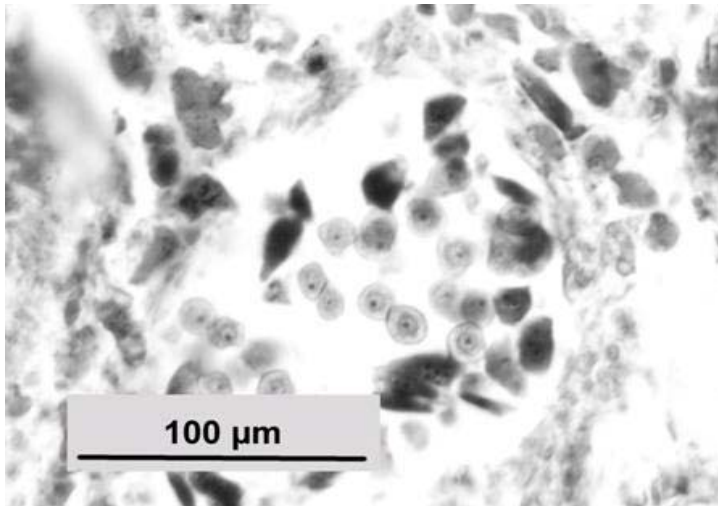
Obr. 13:
C. matrensis –
 osamostatňujúce sa
 mikrosporocyty
 (15. 3. 2008)



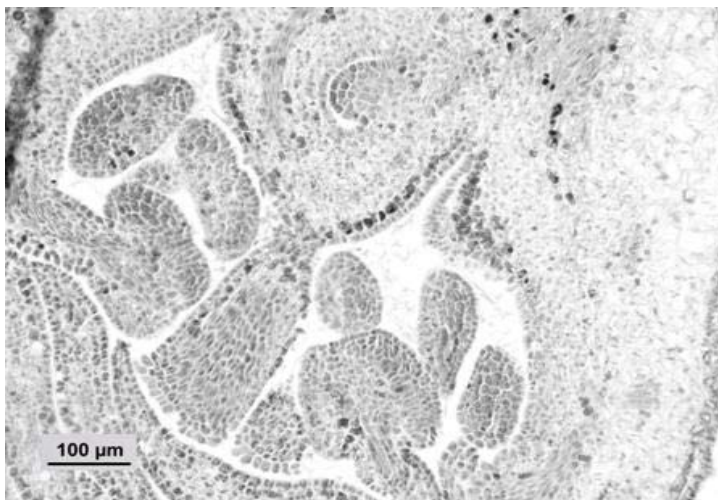
Obr. 14:
C. matrensis –
 mikrosporocyty (vľavo)
 a telofáza II.meiózy
 (vpravo) (15. 3. 2008)



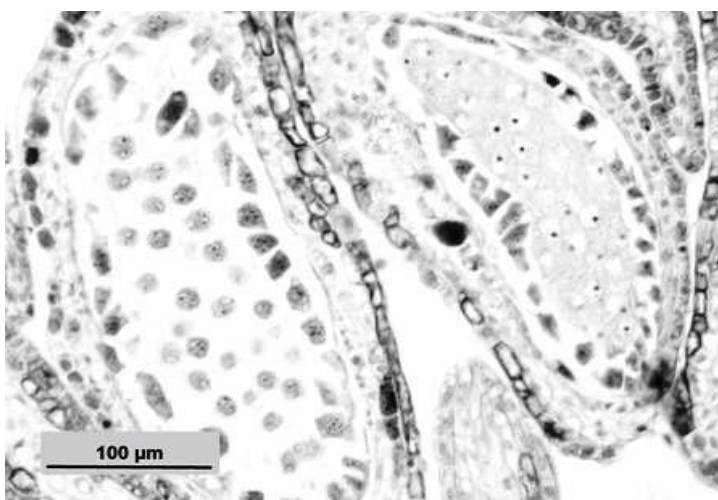
Obr. 15:
C. matrensis –
 mikrosporogenéza –
 vľavo tetrády mikrospór
 (15. 3. 2008)



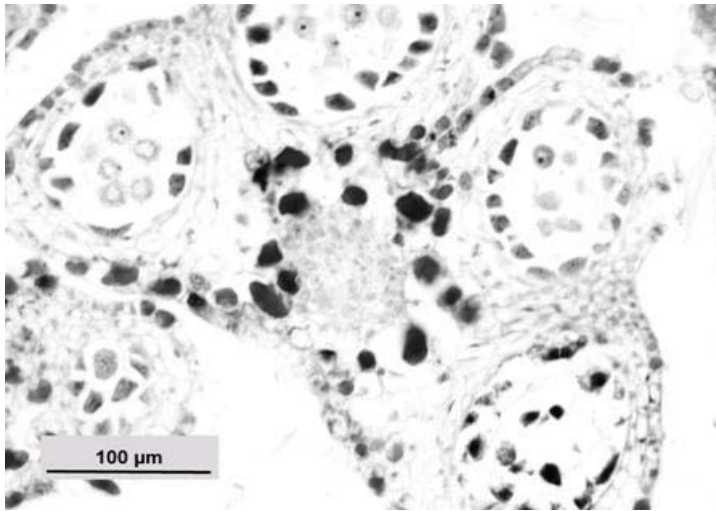
Obr. 16:
C. matrensis –
peľová komôrka
s osamostatnenými
mikrospórmi
(15. 3. 2008)



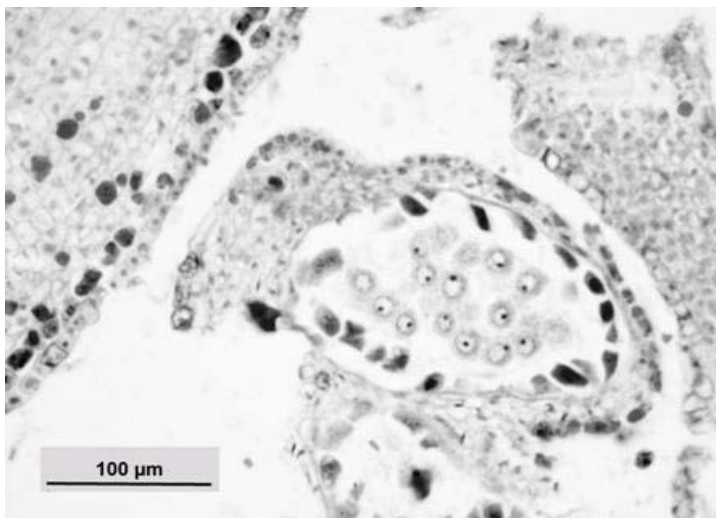
Obr. 17:
C. matrensis –
oneskorene sa
vyvíjajúci púčik so
základom piestika
a peľníc v štádiu
archespóru (15. 3. 2008)



Obr. 18:
C. matrensis –
asynchrónny priebeh
mikrosporogenézy
(21. 3. 2007)



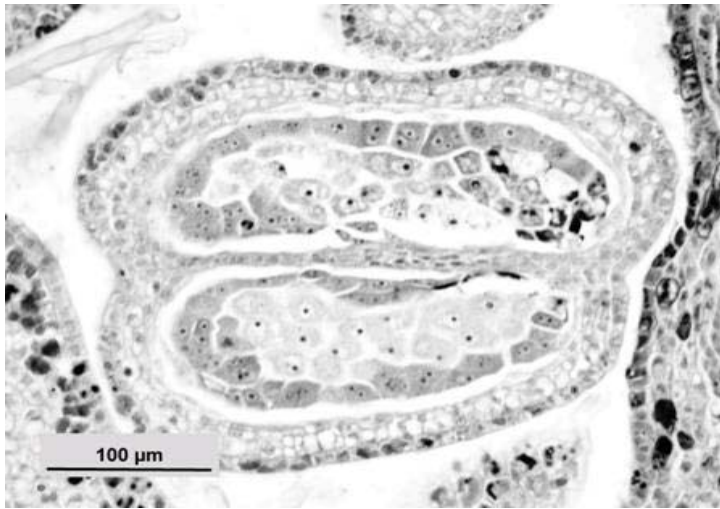
Obr. 19:
C. matrensis – peľnica
s 1 degenerovanou
peľovou komôrkou
v štádiu
mikrosporocytov
(21. 3. 2007)



Obr. 20:
C. matrensis –
osamostatnené
mikrosporocyty
(21. 3. 2007)

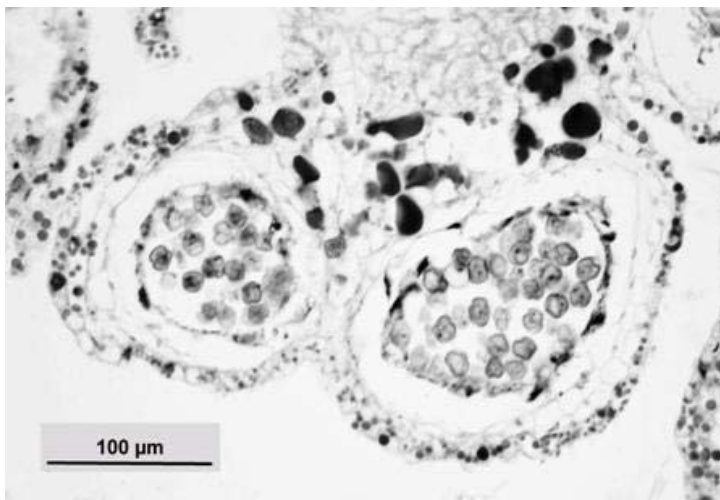


Obr. 21:
C. alaunicus – prierez
peľnicami
s osamostatňujúcimi sa
mikrosporocytmi
a diferencujúce sa
tapetum (21. 3. 2007)



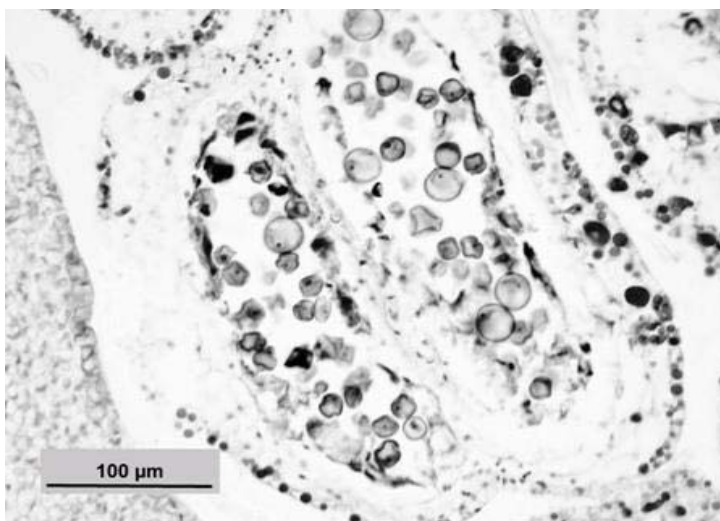
Obr. 22:

C. alaunicus – detail
peľnice
s degenerujúcim
obsahom 1 peľového
vačku (21. 3. 2007)



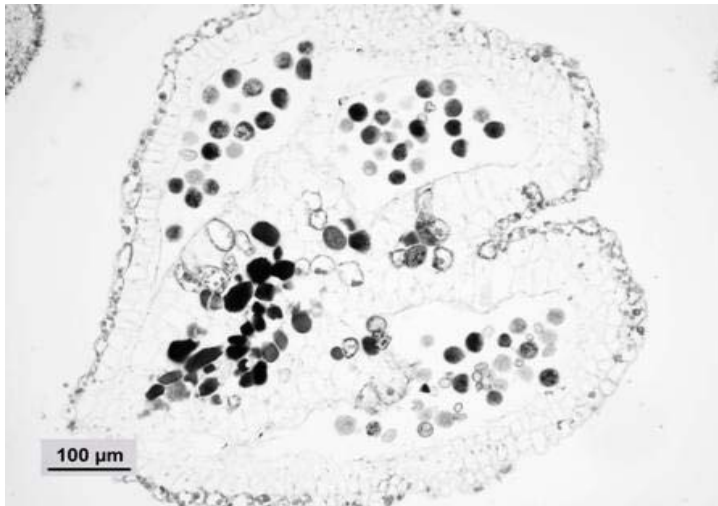
Obr. 23:

C. matrensis – normálne
sa vyvíjajúce 1-jadrové
mikrospóry
(26. 3. 2007)

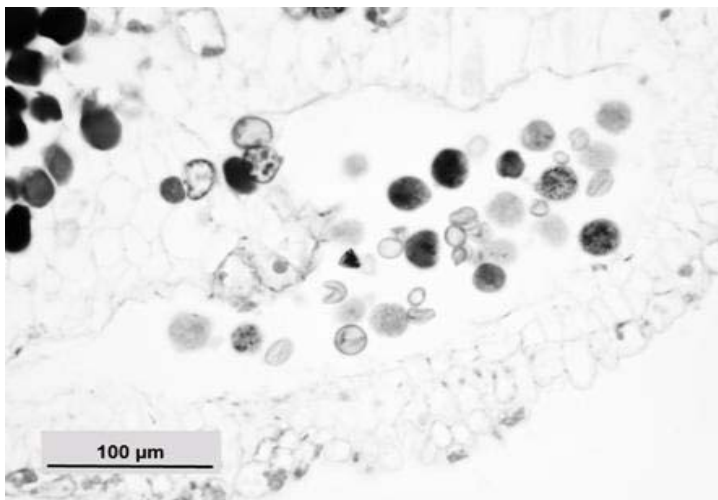


Obr. 24:

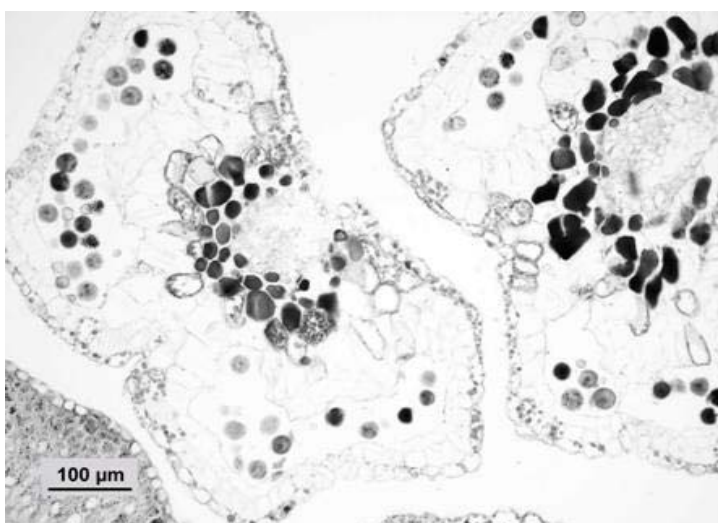
C. matrensis – 1-
jadrové mikrospóry
normálnej veľkosti
a zväčšené mikrospóry
(26. 3. 2007)



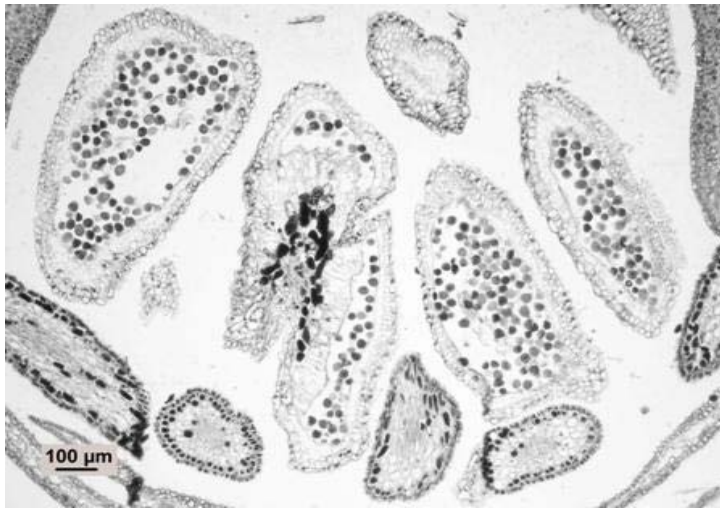
Obr. 25:
C. matrensis – peľové
komôrky s normálne
vyvinutým peľom
a nevyrovnaným peľom
(4. 4. 2007)



Obr. 26:
C. matrensis – detail
peľového vaku
s nevyrovaným peľom
(4. 4. 2007)

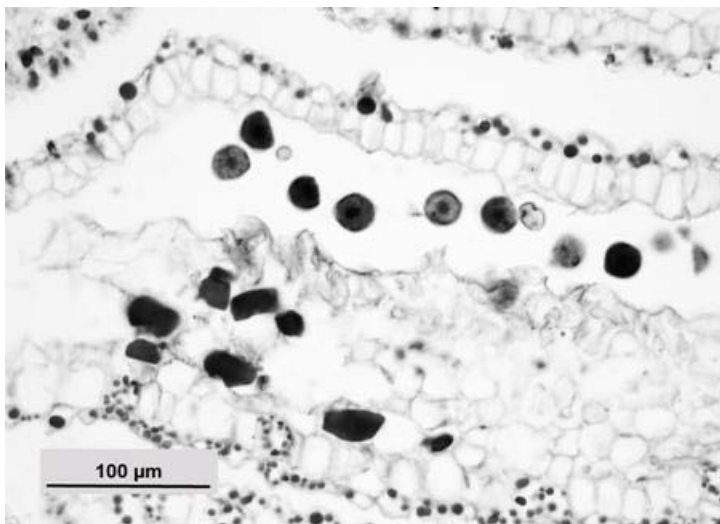


Obr. 27:
C. matrensis – detail
peľníc s 1-jadrovými
peľovými zrnami
(4. 4. 2007)



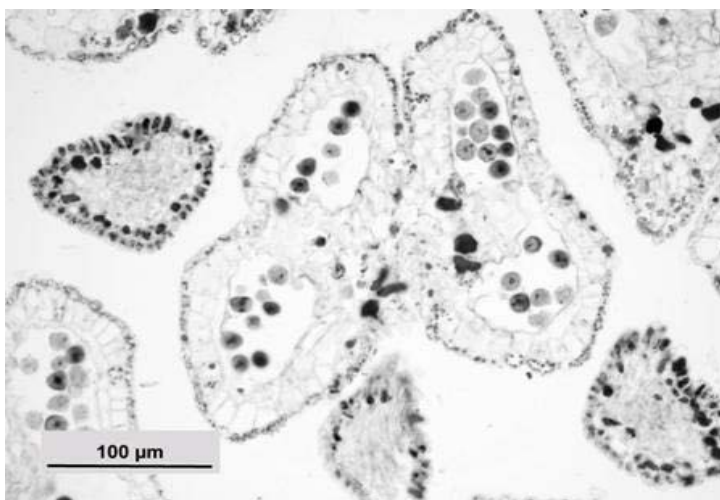
Obr. 28:

C. matrensis – peľnice s normálne vyvinutými 1-jadrovými peľovými zrnami (4. 4. 2007)



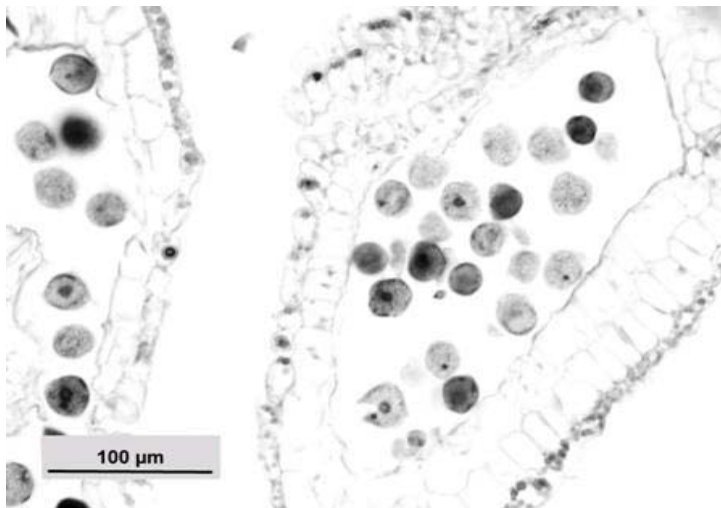
Obr. 29:

C. matrensis – detail steny peľnice s tvoriacim sa endotéciom (4. 4. 2007)

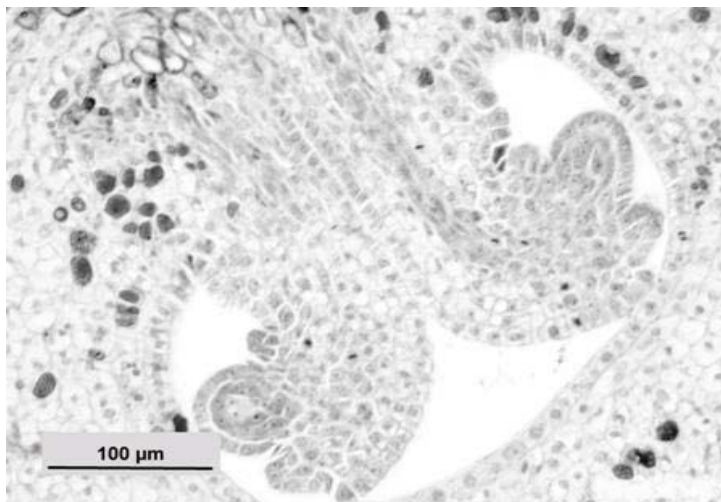


Obr. 30:

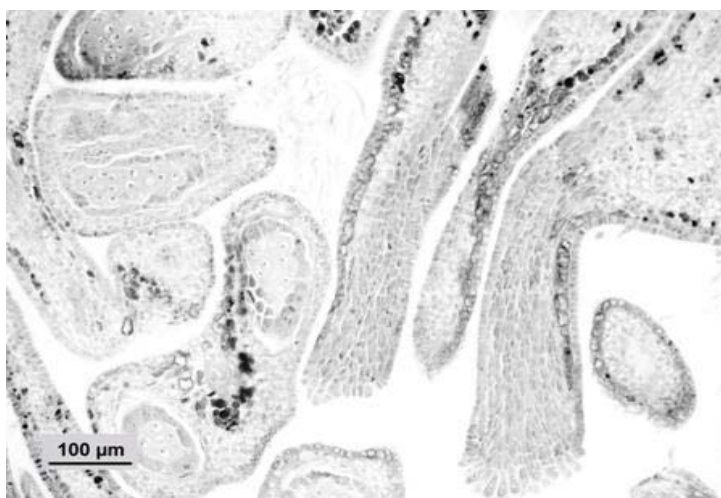
C. matrensis – peľnica s deliacimi sa 1-jadrovými peľovými zrnami (10. 4. 2008)



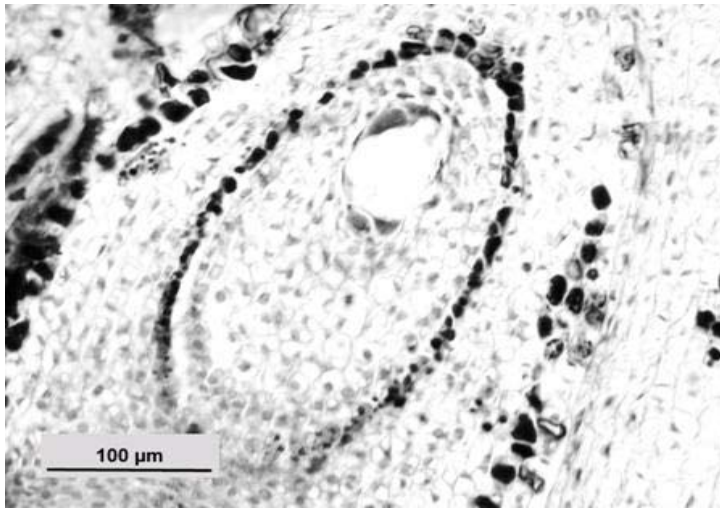
Obr. 31:
C. matrensis – 2-
 vrstvé endotécium
 (10. 4. 2008)



Obr. 32:
C. matrensis –
 diferenciácia
 integumentov
 a nucelusu vajíčok
 (21. 3. 2007)



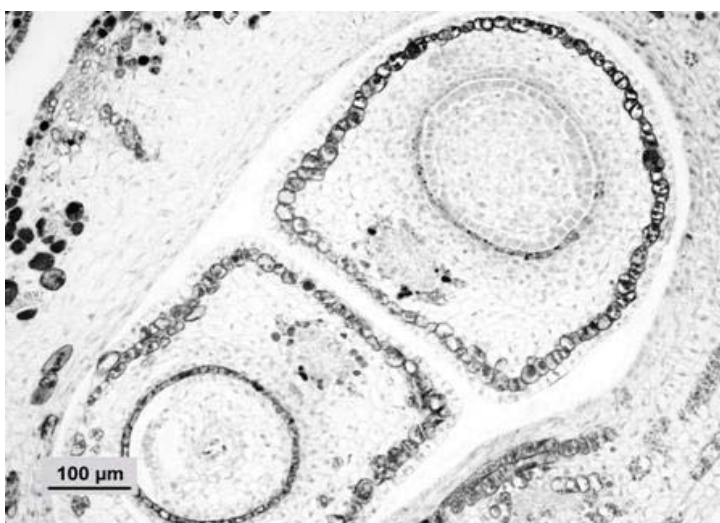
Obr. 33:
C. alaunicus – časť
 piestika s 3 čnelkami
 (21. 3. 2007)



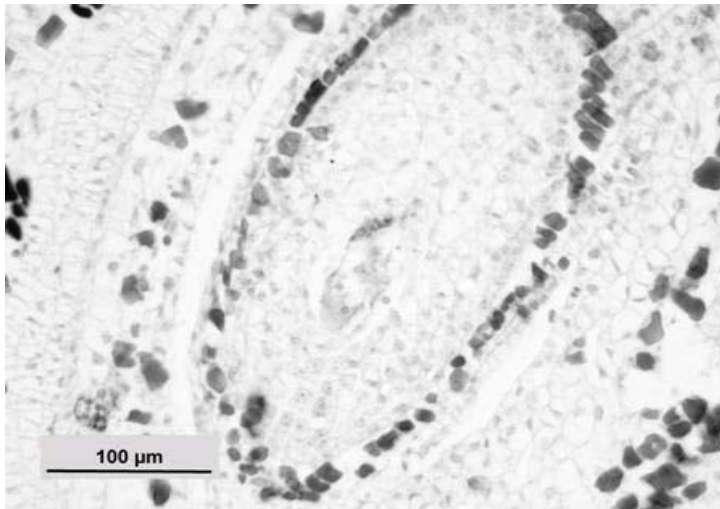
Obr. 34:
C. matrensis – vývin
dvoch zárodočných
mieškov (4. 4. 2007)



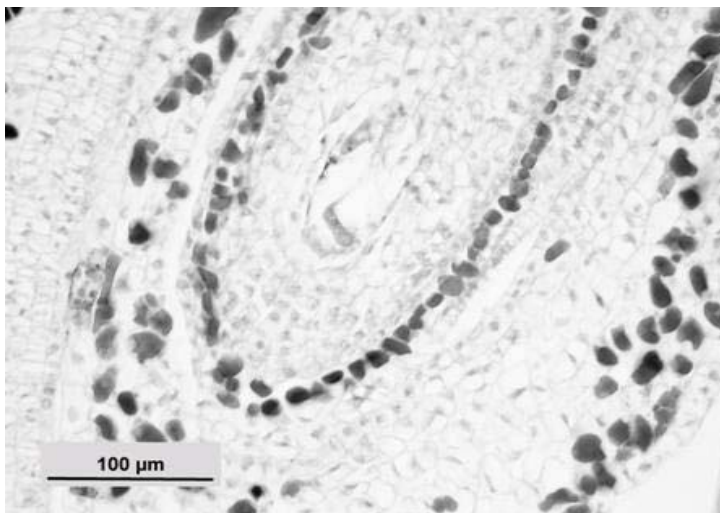
Obr. 35:
C. matrensis – prierez
semenníkom
s dvojicami vajíčok
(17. 4. 2008)



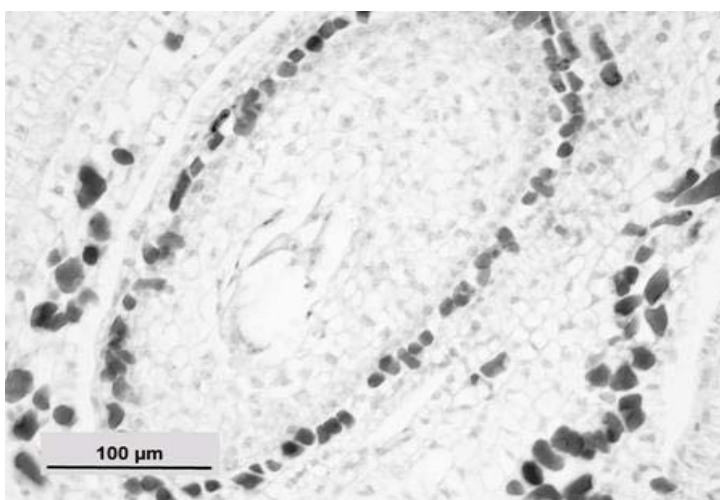
Obr. 36:
C. matrensis – detail
jedného púzdra
semenníka (17. 4. 2008)



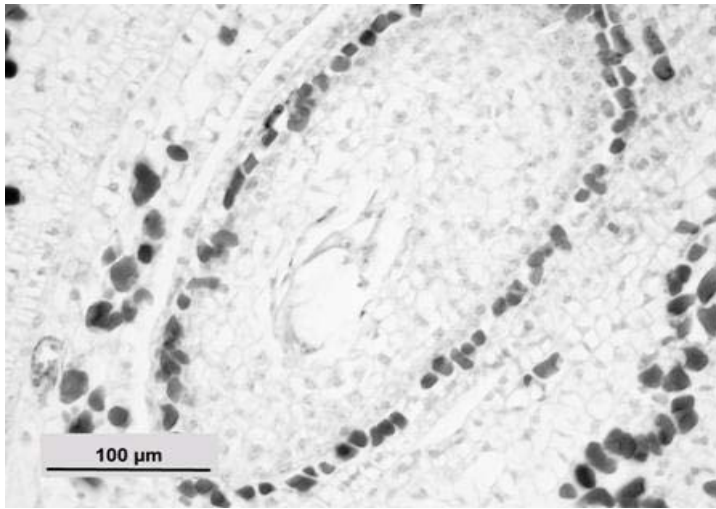
Obr. 37:
C. matrensis – časť
multiplikatívneho
zárodočného mieška
(23. 4. 2008)



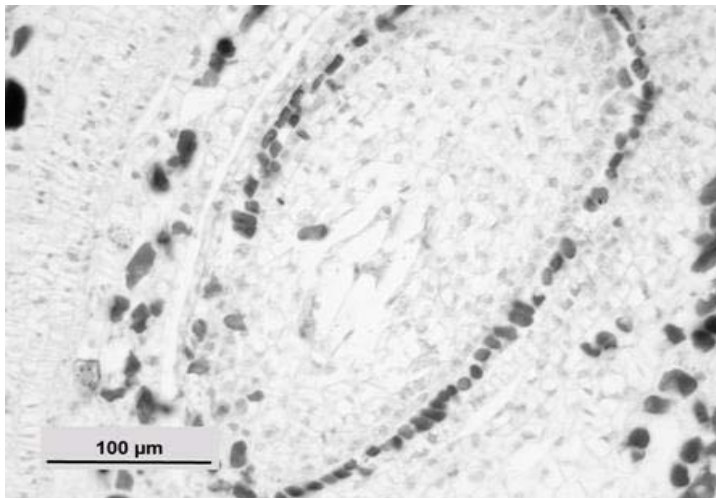
Obr. 38:
C. matrensis - časť
multiplikatívneho
zárodočného mieška
(23. 4. 2008)



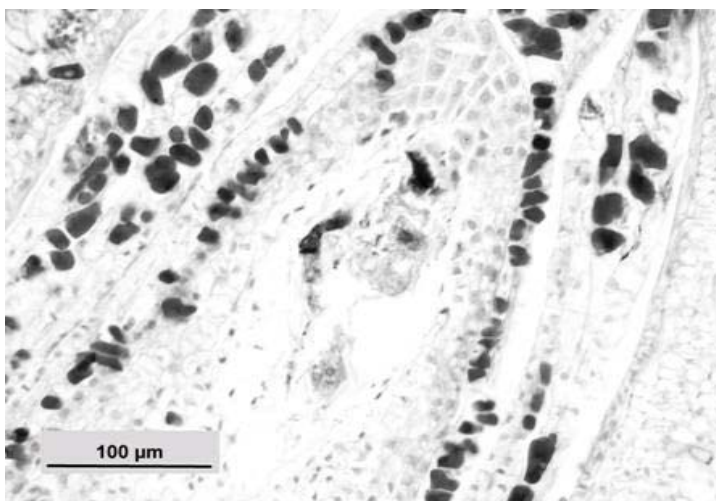
Obr. 39:
C. matrensis - časť
multiplikatívneho
zárodočného mieška
(23. 4. 2008)



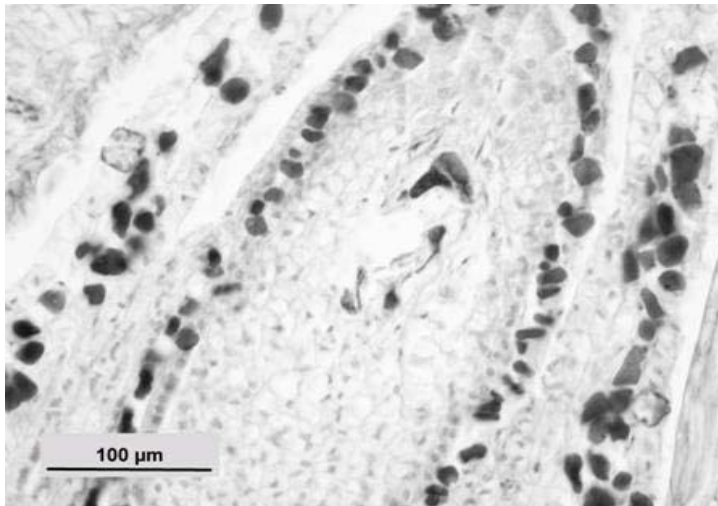
Obr. 40:
C. matrensis - časť
multiplikatívneho
zárodočného mieška
(23. 4. 2008)



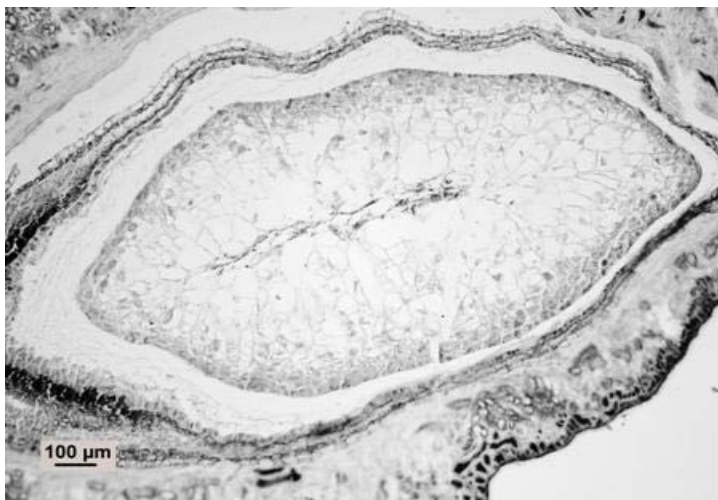
Obr. 41:
C. matrensis - časť
multiplikatívneho
zárodočného mieška
(23. 4. 2008)



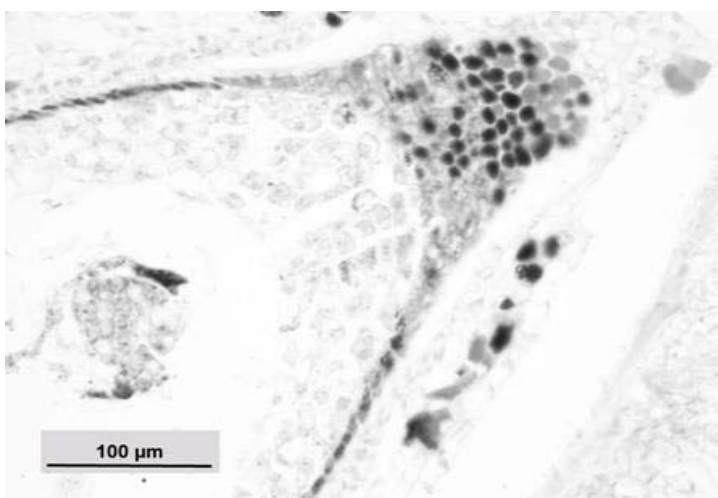
Obr. 42:
C. matrensis – zvyšky
degenerovaného
multiplikatívneho
zárodočného mieška
(5. 5. 2008)



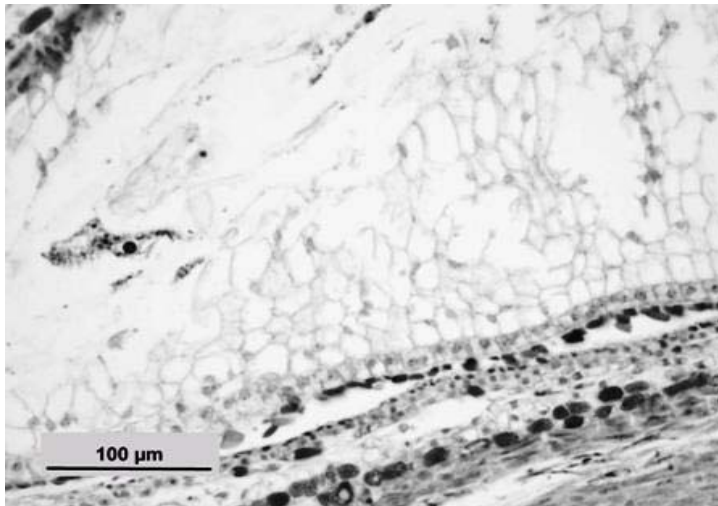
Obr. 43:
C. matrensis – zvyšky
degenerovaného
zárodočného mieška
(5. 5. 2008)



Obr. 44:
C. matrensis – normálne
vyvíjajúce sa semeno
(11. 5. 2007)



Obr. 45:
C. matrensis – detail
globulárneho embrya
(14. 5. 2008)



Obr. 46:
C. matrensis – časť
vyvíjajúceho sa
endospermu s detailom
jadra (14. 5. 2008)



Obr. 47:
C. alaunicus – prierez
plodom s 1 vyvíjajúcim
sa semenom
(polovica júna)



Obr. 48:
C. alunicus – prierez
plodom s 2 vyvíjajúcimi
sa semenami
(polovica júna)



Obr. 49:

C. alaunicus – prierez
plodom s 3 vyvíjajúcimi
sa semenami
(polovica júna)

