

БИОТЕХНОЛОГИЯ И ЭМБРИОЛОГИЯ**НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ МУЖСКИХ И ЖЕНСКИХ
ГЕНЕРАТИВНЫХ СТРУКТУР *FUMANA THYMIFOLIA* (L.) SPACH ET WEBB
(СЕМ. CISTACEAE)**

М.А.ГАФАРОВА;

С.В.ШЕВЧЕНКО, доктор биологических наук

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр

Введение

Одной из актуальных задач в рамках проблемы сохранения биологического разнообразия является охрана редких видов как наиболее уязвимой части генофонда. Распространение растений ограничивается определенными биоэкологическими параметрами, в пределах которых виды характеризуются различной численностью или плотностью популяций. Биологические свойства видов и влияние антропогенного фактора часто приводят к тому, что численность популяций некоторых видов заметно сокращается, уменьшается их ареал.

Следует акцентировать внимание на том, что связь процессов репродукции и численности популяций тесно сопряжена. Детальное изучение процессов репродуктивной биологии редких видов позволит проанализировать репродуктивную стратегию вида, выявить критические периоды в репродуктивном цикле.

Одним из редких видов флоры Крыма является *Fumana thymifolia* Spach et Webb (сем. Cistaceae) [7]. В Красной книге Украины этот вид отнесен к категории «уязвимых», которые в ближайшее время могут быть отнесены к категории «исчезающих», если продолжится воздействие угнетающих факторов [9]. Для Красной книги АР Крым этот вид предложили отнести ко II категории (редкие и очень редкие) [1].

F. thymifolia – средиземноморский реликт, единственным местом ее произрастания в Крыму является юго-восточный щебнистый склон горы Кошка (вблизи п. Симеиз), и фактическая численность данного вида в 1978 году насчитывала около 1000 особей [7].

Целью данной работы было выявление особенностей развития генеративных структур данного вида и оценка качества его мужских и женских гамет.

Объекты и методы исследований

Антропоэкологические наблюдения осуществляли согласно методикам А.Н.Пономарева [4], В.Н.Голубева и Ю.С.Волокитина [2]. Эмбриологические исследования проводили на постоянных препаратах, приготовленных по общепринятым методикам [3, 6]. Для фиксации бутонов разной величины и цветков использовали фиксатор Чемберлена (спирт этиловый 50–70% – 90 частей: формалин 40% – 5 частей: ледяная уксусная кислота – 5 частей). Препараты окрашивали гематоксилином по Гейденгайну с подкраской алциановым синим. Срезы толщиной 8–10 мкм выполняли на ротационном микротоме. Анализ препаратов проводили с помощью микроскопа «Jenamed 2» фирмы Carl Zeiss. Фотоснимки сделаны с помощью цифровой фотокамеры Canon A 550.

Результаты и обсуждение

Семейство Cistaceae (Ладанниковые), к которому относится род *Fumana*, является довольно малочисленным. В его состав входят всего 8 родов и 180 видов. Большинство видов данного семейства, в том числе и виды рода *Fumana*, произрастает в Средиземноморской области, и только немногие из них произрастают в Центральной Европе, проникая на север до Южной Швеции, Южной Финляндии и Кольского

полуострова. Одним из редких видов, занесенных в Красную книгу Украины, является вид *F. thymifolia*.

F. thymifolia – летне-зимнезеленый кустарничек рыхлой подушковидной формы, высотой 10–15 см. Листья линейные, супротивные, по краям загнуты вниз, с мелкими прилистниками. Цветки собраны в цимозные кистевидные соцветия, актиноморфные, обоеполые, пятичленные. Околоцветник двойной, представлен венчиком и чашечкой. Чашечка имеет 5 свободных чашелистиков, причем два наружных отличаются от внутренних размерами и формой. Форма внутренних чашелистиков обратно-йцевидная, длина 5–7 мм, наружных – игольчатая, длина – 2–3 мм. Чашечка увядающая, остающаяся при плоде. Венчик свободнолепестный, состоит из 5 обратнойцевидных лепестков ярко-желтой окраски, длина которых 8–10 мм. Цветоножки тонкие, немного опушенные, в 2–3 раза длиннее прицветных листьев. Растение опушено простыми волосками. Плод – трехгранная коробочка, с 4–6 семенами.

По срокам цветения *F. thymifolia* может быть отнесена к поздневесенне-позднелетней группе растений. Активная бутонизация ее начинается в конце апреля – начале мая при среднесуточной температуре воздуха +15–18°C. Пик цветения приходится на середину – конец мая, когда в Крыму устанавливается сухая и теплая погода. Продолжительность цветения одного цветка 1–3 сут, после чего лепестки венчика опадают, а чашелистики смыкаются, но в целом период цветения довольно продолжителен. На одном и том же растении можно наблюдать одновременное завязывание бутонов и плодоношение.

В раскрытом цветке андроцей представлен большим количеством свободных тычинок (20–25), которые располагаются в несколько кругов (3–5), причем наружные тычинки бесплодны (не имеют пыльников). Длина тычиночной нити в 3–4 раза превышает длину пыльников. Тычинки короче пестика, что практически исключает автогамию и способствует аллогамии.

Пыльники *F. thymifolia* двутековые, 4-гнездные. Стенка микроспорангия развивается центробежно. Полностью сформированная стенка микроспорангия состоит из следующих слоев: эпидермис, эндотеций, один средний слой, тапетум (рис. 1).

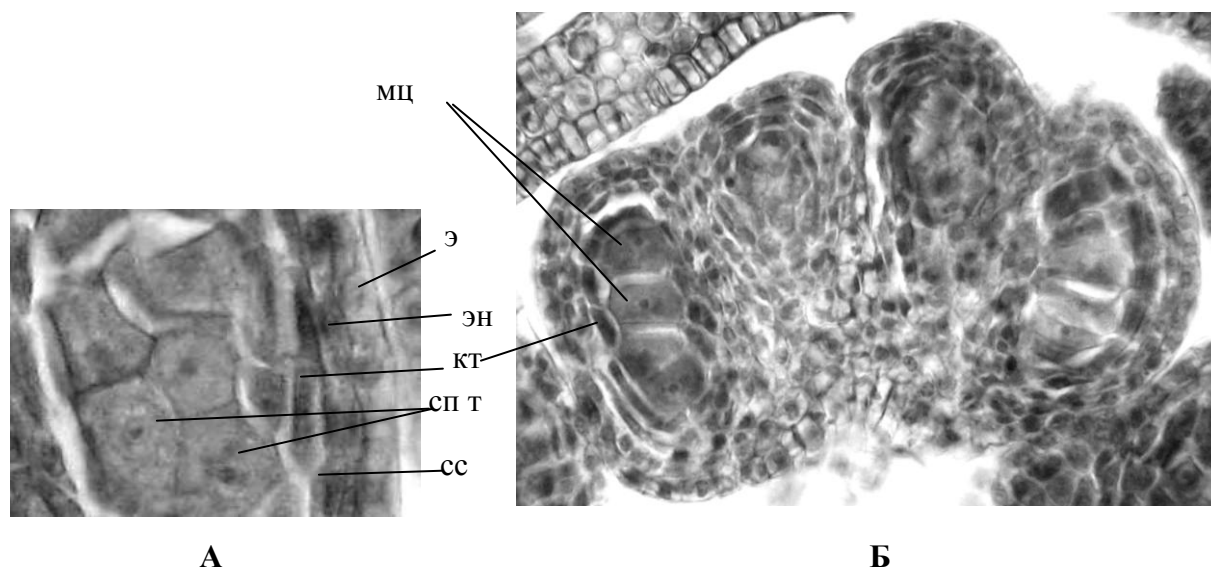


Рис. 1. Фрагменты микроспорангия *F. thymifolia* на стадиях спорогенной ткани (А) и обособления микроспороцитов (Б) (э – эпидермис, эн – эндотеций, сс – средний слой, кт – клетки тапетума, сп т – спорогенная ткань, мц – микроспороциты)

Клетки эпидермиса имеют форму прямоугольника и формируют плотный слой, ядро округлой формы, цитоплазма густая, хорошо окрашивается гематоксилином. Клетки эндотеция мельче эпидермальных, прямоугольные, сплюснены с боков. Ядра расположены в центре клеток, имеют дисковидную форму. Средний слой эфемерен и представлен одним рядом вытянутых клеток, прижатых к эндотецию. Тапетум неравномерно двуслойный, клетки имеют кубическую форму, в некоторых клетках насчитывается до 4, иногда 6 ядер. Тапетум является дериватом первичного париетального слоя.

Стенка зрелого пыльника состоит из эпидермиса и эндотеция, имеется тапетальная пленка. Некоторые клетки эпидермиса теряют свою форму, ядро принимает более уплощенную форму и оттесняется вакуолью к стенке клетки. На этапе сформированных пыльцевых зерен тапетум обнаруживается в виде тапетальной пленки, клеточные стенки практически смыкаются, содержимое клетки не определяется. Наиболее заметна тапетальная пленка в дорзальной части стенки пыльника, ближе к связнику. В связнике и боковых частях гнезд пыльника хорошо заметны крупные клетки кубической формы, заполненные танином или смолой.

Микроспоры формируются симультанно, тетрада имеет форму тетраэдра (рис. 2), в одном гнезде обычно их образуется незначительное число, может быть всего 6–8 тетрад.

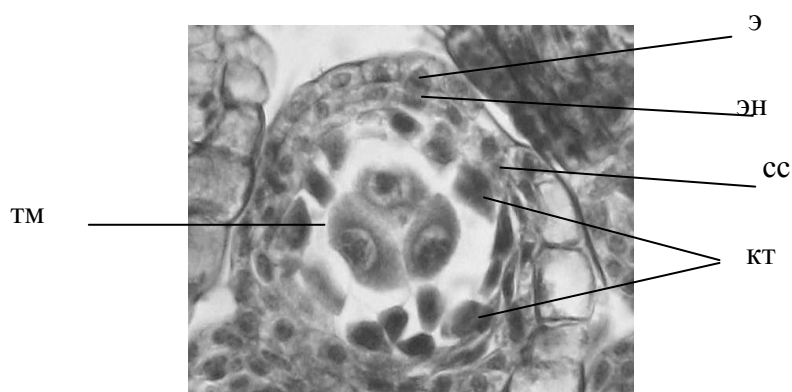


Рис. 2. Фрагмент микроспорангия на стадии тетрады микроспор (тм – тетрада микроспор)

Пыльца двуклеточная, образуется в результате дифференцирующего митоза, когда в центре располагается крупная вакуоль, оттесняющая ядро микроспоры к стенке, где и происходит его деление. Стенка микроспорангия в это время представлена клетками эпидермиса, сплюсненными клетками эндотеция и остатками клеток тапетума (рис. 3).

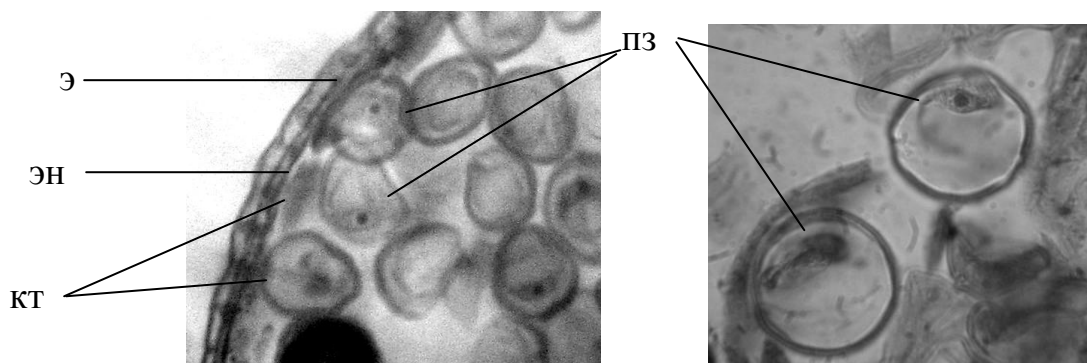


Рис. 3. Фрагменты микроспорангиев на стадии дифференцирующего митоза (пз – пыльцевые зерна)

Зрелые пыльцевые зерна трехпоровые (реже двухпоровые), содержат ядро вегетативной клетки и генеративную клетку. Следует отметить, что в массе пыльцевых зерен *F. thymifolia* значительная часть их дефективна (более 30%).

Процесс микроспорогенеза в разных тычинках происходит асинхронно. На разных срезах можно наблюдать в одних пыльцевых гнездах распад тетрад на отдельные микроспоры, а в других только обособление микроспороцитов.

Женская генеративная сфера цветка представлена сросшимися пестиками, свободными лишь в области рыльца. Гинецей состоит из 3 сросшихся плодолистиков, рыльце трехлопастное, лопасти рыльца влажные, гладкие (рис. 4). Завязь верхняя, трехгнездная. В каждом гнезде формируется по 2 семязчатка.



Рис. 4. Лопasti рыльца пестика *F. Thymifolia*

Семязчаток *F. thymifolia* атропный, как и у многих видов *Cistaceae*, битегмальный, крассинуцеллятный. Наружный интегумент состоит из 2 слоев, внутренний – из 2–3. По скорости развития значительно опережает в росте наружный интегумент (рис. 5).

Семязчаток расположен на хорошо определенном подиуме, состоящем из 3–4 слоев клеток. Микропиле образовано обоими интегументами, экзостом – наружным, эндостом – внутренним. Имеется фуникулярный обтуратор. Проводящий пучок хорошо развит, доходит до халазы.

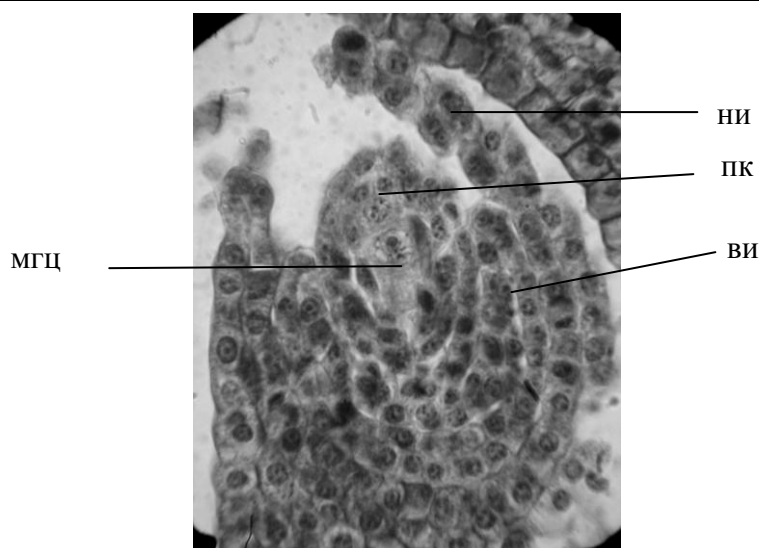
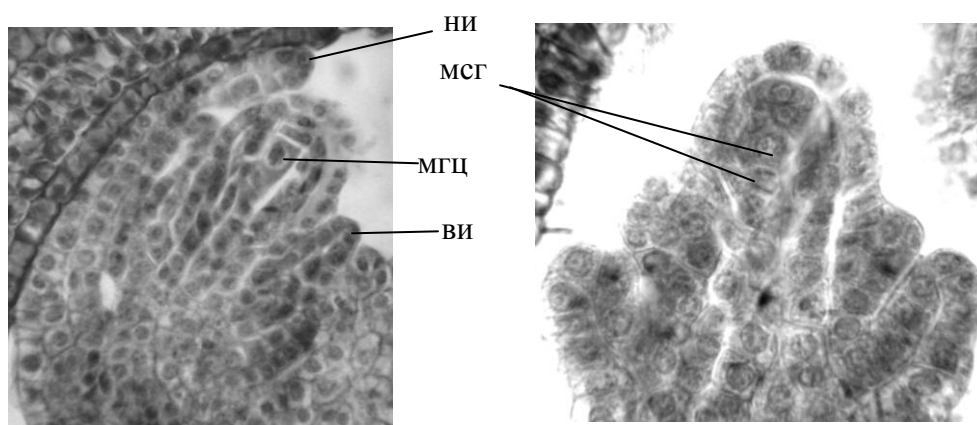


Рис. 5. Фрагмент семязачатка *F. thymifolia* на стадии мегаспороцита (ни – наружный интегумент, ви – внутренний интегумент, пк – париетальные клетки, мгц – мегаспороцит)

В субэпидермальном слое семязачатка формируется одна археспориальная клетка, отличная от других клеток размерами и формой. Иногда наблюдали закладку и второй археспориальной клетки, но в последующем на стадиях двухядерного или четырехядерного зародышевого мешка структура дегенерировала, что было отмечено и у других видов, например у видов рода *Helianthemum* [8, 10, 11]. Археспориальная клетка периклинально делится, давая начало париетальной и спорогенной клеткам. Париетальная клетка дает начало париетальной ткани, а спорогенная клетка преобразуется в мегаспороцит (рис. 6, А), в котором происходит мейоз, приводящий к образованию линейной тетрады мегаспор (рис. 6, Б).

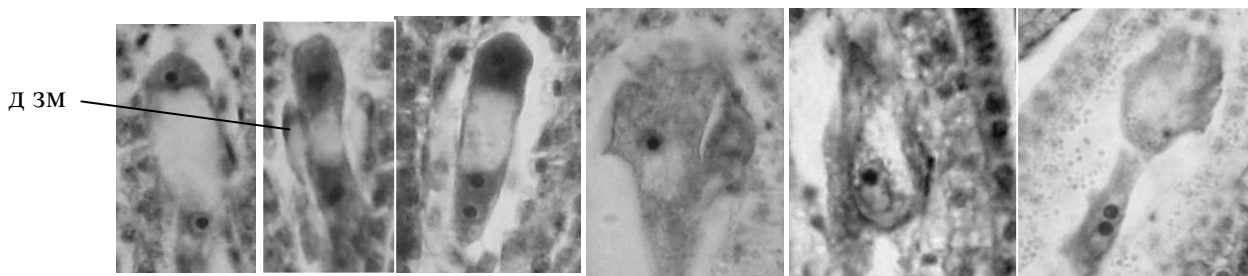


А Б

Рис. 6. Семязачаток *F. thymifolia* на стадии дифференциации мегаспороцита (А) и в период мегаспорогенеза (Б) (мсг – мегаспорогенез)

Развитие типичного восьмиядерного зародышевого мешка происходит в результате ряда последовательных делений: в результате первого деления ядро мегаспоры делится на два, затем каждое из этих двух делится в свою очередь на два и, наконец, каждое из четырех ядер также делится на два. Из восьми образовавшихся таким

образом ядер три располагаются у микропиллярного конца, два – в центре зародышевого мешка и три – у халазального конца. Далее дифференцируется 7-клеточный зародышевый мешок Polygonum-типа с ярко выраженным яйцевым аппаратом (рис. 7).



А Б В Г Д

Рис. 7. Фрагменты зародышевого мешка на разных стадиях развития:

А – двухядерный зародышевый мешок,

Б – четырехядерные зародышевые мешки (д зм – дегенерировавший зародышевый мешок),

В – синергиды, Г – яйцеклетка,

Д – яйцевой аппарат и полярные ядра

Яйцеклетка крупная, грушевидной формы, с крупным ядром, смещенным вакуолью к базальной части клетки. Синергиды *F. thymifolia*, как и у многих других видов семейства Cistaceae [5, 11], имеют хорошо развитый нитчатый аппарат, расположены по бокам яйцеклетки, имеют округлую форму с выростом, в центральной или базальной части клетки расположено крупное ядро. Вакуоль небольших размеров, цитоплазма густая, хорошо окрашивающаяся гематоксилином с подкраской алциановым синим.

Полярные ядра занимают центральное положение в зародышевом мешке, располагаться могут друг под другом либо рядом, сливаются до оплодотворения или во время тройного слияния (рис. 8).

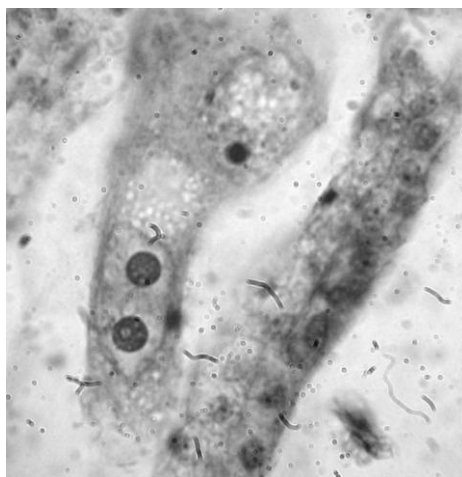


Рис. 8. Слияние полярных ядер

В халазальной части зародышевого мешка расположены три клетки-антиподы. Формы клеток варьируют от кубической до треугольной. Клеточные стенки тонкие, внутреннее содержимое клеток хорошо окрашивается, цитоплазма густая, без включений и вакуолей. Ядро крупное, округлой формы, занимает центральное положение. В зрелом зародышевом мешке антиподы могут располагаться в строго

вертикальном порядке или их расположение может напоминать перевернутый треугольник. Дегенерируют обычно до оплодотворения. Всю полость центральной клетки зародышевого мешка занимает крупная вакуоль с цитоплазматическими тяжами. У *F. thymifolia* наблюдается четко выраженная протерандрия. Следует обратить внимание на то, что асинхронное развитие мужской и женской генеративных сфер можно наблюдать на всех этапах развития цветка. На стадии дифференцирующего митоза в пыльцевых зернах – в зародышевом мешке идет закладка и дифференциация мегаспороцита или мейоз; на стадии 2-ядерного зародышевого мешка в пыльниках наблюдаются уже сформированные 2-клеточные пыльцевые зерна. Разновременное созревание и полноценное функционирование мужской и женской генеративных сфер обеспечивают данному виду аллогамиию.

Выводы

В целом формирование и строение мужских и женских генеративных структур такое же, как у многих других видов семейства Cistaceae. Однако имеются некоторые специфические черты: бесплодные наружные тычинки, довольно малое число пыльцы в пыльнике, наличие большого количества дефективных пыльцевых зерен.

Временное и пространственное разграничения мужской и женской генеративных сфер практически исключают автогамию и способствуют аллогамии.

Формирование морфологически нормальных зародышевых мешков и пыльцевых зерен может обеспечить эффективное опыление и оплодотворение.

Список литературы

1. Вопросы развития Крыма. Материалы к Красной книге Крыма: Научно-практический дискуссионно-аналитический сборник / Сост. В.В.Корженевский, А.В.Ена, С.Ю.Костин. – Симферополь: Таврия-Плюс, 1999. – Вып. 13. – 164 с.
2. Методические рекомендации по изучению антропоэкологических особенностей цветковых растений. Функционально-экологические принципы организации репродуктивной структуры / Сост. В.Н. Голубев, Ю.С. Волокитин. – Ялта: ГНБС, 1986. – 37 с.
3. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. – М.: Колос, 1990. – 283 с.
4. Пономарев А.Н. Изучение цветения и опыления растений // Полевая геоботаника. В 5 т. / Под общ. ред. Е.М. Лавренко, А.А. Корчагина. – М.: Наука, 1960. – Т. 2. – С. 9–19.
5. Романова Г.С. Цитоэмбриологические исследования некоторых видов цистуса // Тр. Никит. ботан. сада, 1970. – Т. 46. – С. 184–193.
6. Ромейс Б. Микроскопическая техника. – М.: Изд-во иностр. лит-ры, 1954. – 718 с.
7. Рубцов Н.И., Купатадзе Г.А. *Fumana thymifolia* – новый вид флоры СССР // Ботан. журн. – 1978. – Т. 63, № 2. – С. 254–255.
8. Соколовская Т.Б. Семейство Cistaceae // Сравнительная эмбриология цветковых. Phytolaccaceae – Thymelaeaceae. – Л.: Наука, 1983. – С. 117–120.
9. Червона книга України. Рослинний світ / За ред. Я.П. Дідуха. – К.: Глобалконсалтинг, 2009. – 900 с.
10. Chiarugi A. Embriologia delle Cistaceae // Nuovo Giorn. Bot. Ital., nuova ser. – 1925. – V. 32. – P. 223–316.
11. Kapil R.N., Maheshwari R. Embryology of *Helianthemum vulgare* // Phytomorphology. – 1974. – V. 14, №4. – P. 547–557.

Рекомендовано к печати д.б.н. Митрофановой И.В.