

**СТРОЕНИЕ СТЕНКИ МИКРОСПОРАНГИЯ
У *TROLLIUS LEDEBOURII* (RANUNCULACEAE)**

Л.В. Буглова

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН,
630090, Новосибирск, ул. Золотодолинская 101, astro11@rambler.ru

Изучено строение стенки микроспорангия у *Trollius ledebourii* Reichenb. В зрелом микроспорангии стенка трехслойная. Дифференциация ее слоев происходит центростремительно, установлена корреляция с периодами развития спорогенной ткани. Впервые обнаружены и описаны промежуточные клетки, которые развиваются между тапетумом и мейоцитами во время нарушений в ходе микроспорогенеза. Обнаружена взаимосвязь нарушений развития пыльцевых зерен с изменениями в строении тапетума и эндотеция.

Ключевые слова: микроспорангии, микроспоры, стенка микроспорангия, эпидермис, эндотеций, средний слой, тапетум, фиброзные утолщения.

**MICROSPORANGIUM WALL STRUCTURE
IN *TROLLIUS LEDEBOURII* (RANUNCULACEAE)**

L.V. Buglova

Central Siberian Botanical Garden, SB RAS,
630090, Novosibirsk, Zolotodolonskja str., 101, astro11@rambler.ru

We studied microsporangium wall structure in *Trollius ledebourii* Reichenb. The mature microsporangium has a 3 layer wall. Differentiation of its layers occurs centripetally, its correlation with periods of sporogenous tissue development was established. We first detected intermediate type of cells developing between meiocytes and tapetum during abnormal microsporogenesis. Dependence of pollen grains development abnormalities on tapetum and endothecium structure changes was revealed.

Key words: microsporangium, microspores, pollen sac wall, epidermis, endothecium, middle layer, tapetum, fibrous thickenings.

ВВЕДЕНИЕ

Род Купальница – *Trollius* L. (сем. *Ranunculaceae* Juss.) включает, по различным сведениям, 20–30 видов (Зиман, 1984; Miyabe, 1943; Doroszewska, 1974), распространенных преимущественно в холодных и умеренных областях Северного полушария. Систематика рода до настоящего времени остается предметом дискуссий в связи с нечеткостью межвидовых и межсекционных различий внутри рода, наличием видов с обширными и узколокальными эндемичными ареалами, большой ролью гибридизации в формировании видов (Зиман, 1985). Сбор материала для изучения рода затруднен тем, что многие виды произрастают в труднодоступных высокогорных регионах Сибири и Дальнего Востока.

Строение стенки микроспорангия имеет важное значение для уточнения вопросов, связанных с физиологией, систематикой растений, эволюционным учением (Батыгина, 1986; Бхандари, 1990; Bhandari, 1971). Этот признак длительное время

считался таксономически стабильным, характеризующим таксоны на уровне семейств и порядков (Davis, 1966). Однако изучение и систематизация данных по строению репродуктивных органов показали вариабельность в строении стенки микроспорангия внутри семейств, включая семейство *Ranunculaceae* (Соколовская, 1981; Терехин и др., 1994), а отдельных признаков – даже в пределах одного растения (Кордюм, 1978).

У большинства видов стенка микроспорангия состоит из эпидермиса, эндотеция среднего слоя и тапетума (Батыгина, 1994). Тапетум является слоем клеток, непосредственно прилегающим к спорогенной ткани, и оказывает влияние на развивающиеся микроспороциты. Аномалии в его развитии индуцируют дегенерацию тетрад и пыльцы (Симоненко, 1981). Авторы указывают на отличия тапетума от других слоев стенки микроспорангия, используя для этой структуры специализированный термин – тапетальная ткань (Симоненко,

1982, 1995). Настоящая статья является продолжением описания исследований микроспорангия у

неизученного вида *Trollius ledebourii* Reichenb и посвящена описанию слоев стенки микроспорангия.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования послужили экземпляры *T. ledebourii*, выращенные на коллекционном участке ЦСБС СО РАН (г. Новосибирск). Исходный материал был собран в Читинской области (ныне Забайкальский край).

Пыльники фиксировали FAA, постоянные препараты делали по общепринятым методикам (Прозина, 1960) с окраской гематоксилином Геденгайна – альциановым синим. Микропрепараты

просматривали на микроскопе Axioscop-40 и фотографировали видеокамерой AxioCam MRc-5 с программой для получения и обработки изображений AxioVision 4.8 в Центре коллективного пользования ЦСБС СО РАН.

Более крупные объекты разрезали бритвой и наблюдали с помощью стереомикроскопа – Stereo Discovery. V12 без окрашивания.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Пыльник у *T. ledebourii* двусторонне-симметричный, состоит из четырех микроспорангиев, расположенных попарно, и довольно широкого связника. Пары микроспорангиев разделены тонкой перегородкой (рис. 1, а). Стенка микроспорангия состоит из 5–6 слоев: эпидермального, эндотеция, 2–3 средних слоев и секреторного тапетума.

Перегородка между соседними теками состоит из 4–5 слоев паренхимы. В мейотический период ее клетки слегка уплощены и радиально вытянуты. В постмейотический период они увеличены в размерах, принимают форму, близкую к изодиаметрической, вакуолизируются. В зрелом микроспорангии перегородка частично сохраняется, лизируется только в районе ее прикрепления к обо-

лочке (см. рис. 1, б). По линии лизиса образуется стомуим. Вскрытие микроспорангиев происходит снизу вверх.

Развитие и дифференциация слоев микроспорангия центростремительные. В краткий премейотический период начинает обособляться эпидермальный слой. В это время его клетки крупнее клеток эндотеция, археспориальная ткань и тапетум не дифференцированы (см. рис. 1, в). При созревании ткани прекращается вытягивание клеток в радиальном направлении, но продолжается в аксиальном, происходят незначительное их уплощение и вакуолизация. В конце мейотического периода этот слой представлен крупными, сильно вакуолизированными клетками с мелким ядром.

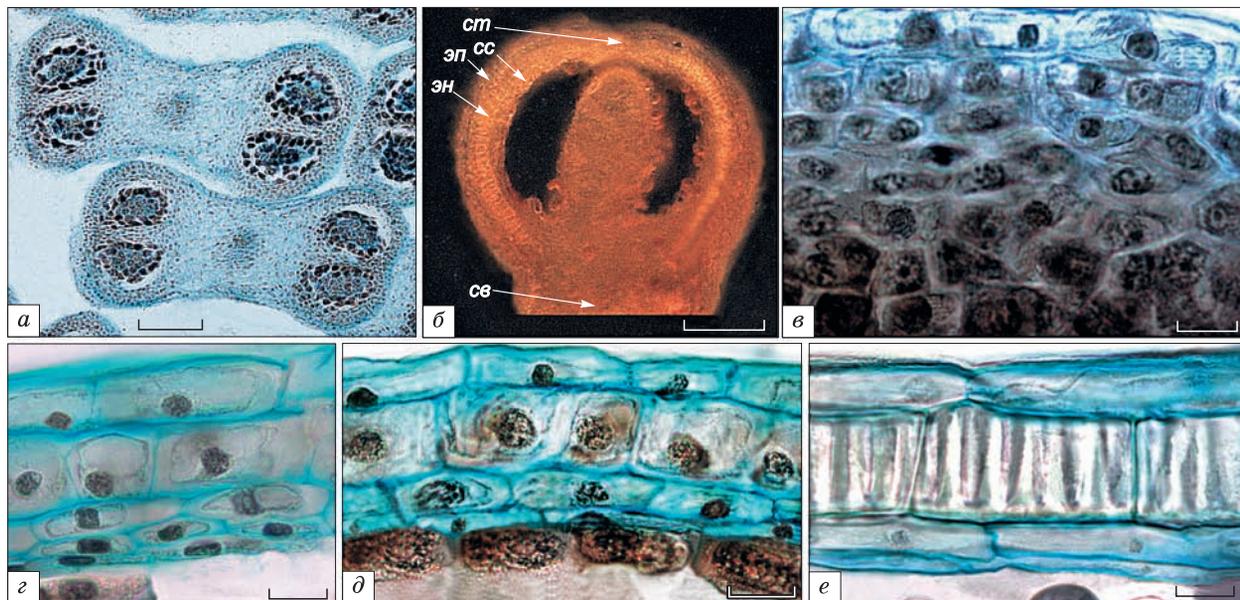


Рис. 1. Развитие стенки микроспорангия:

а – поперечный срез микроспорангия; б – общий контур зрелых пыльников (ст – стомуим, эп – эпидермис, эн – эндотеций, сс – средний слой, св – связник); в – стенка микроспорангия в премейотический период; г – стенка микроспорангия в начале мейотического периода; д – стенка микроспорангия с большим процентом нарушений в ходе мейоза микроспоритов в конце мейотического периода; е – постмейотический период (митоз в пыльцевых зернах). Масштабная линейка: рис. 1, б – 100 мкм, остальные – 10 мкм.

Его наружная (тангентальная) оболочка ровная без особенностей, кутикула и радиальные перегородки тонкие. В постмейотическом периоде цитоплазма радиально сжимается, лизируется. Эпидермис сохраняется в зрелом пыльнике.

Вслед за эпидермальным слоем дифференцируется эндотеций. Его клетки становятся крупнее эпидермальных (см. рис. 1, з). В мейотический период они вытягиваются в радиальном направлении (без увеличения размеров в аксиальном) и вакуолизируются (см. рис. 1, д). Фиброзные утолщения формируются ближе к завершению развития пыльников, после митоза в пыльцевых зернах. В зрелом микроспорангии этот слой является самым толстым, его клетки крупные, сильно вакуолизованные, в них сохраняется ядро. Фиброзные тяжи узкие, достигают противоположной стенки и образуют лестничную структуру (см. рис. 1, е). Фиброзный эндотеций сохраняется в зрелом пыльнике, что является нормой для большинства видов растений (Камелина, 1994).

Затем происходит дифференциация первого среднего слоя (прилегающего к эндотецию). При этом клетки незначительно увеличиваются в премейотическом периоде и сжимаются в постмейотическом. Этот слой сохраняется в зрелом пыльнике.

Клетки четвертого (второго среднего) слоя в процессе дифференциации слабо увеличиваются в размерах. В мейотический период они сжимаются в радиальном направлении и уплощаются, а в конце мейотического или в начале постмейотического периода дегенерируют.

У некоторых растений во время премейотического периода можно выделить пятый диффузный, не всегда четко выраженный слой, состоящий из рыхло расположенных клеток, которые не увеличиваются в размерах, рано сжимаются и уплощаются. Как правило, этот слой дегенерирует в начале мейотического периода, но в редких случаях сохраняется до его окончания (см. рис. 1, з). Время существования 4-го и 5-го слоев может заметно различаться в разных пыльниках даже в пределах одного растения. Поскольку из природы было привезено и использовано в исследованиях ограниченное количество растений, мы пока не можем решить, является ли существование третьего среднего слоя нормой для вида или это рудимент?

До стадии митоза в пыльцевых зернах все описанные слои стенки микроспорангия (за исключением тапетума) имеют схожее строение: сильная вакуолизация, мелкие размеры ядра. Слои формируются только на внешних стенках микроспорангия, со стороны связника не закладываются.

Клетки тапетума, в отличие от других слоев стенки пыльника, окружают спорогенную ткань со всех сторон.

Генезис тапетума начинается в премейотический период, до завершения процессов цитокинеза после последнего митотического деления мейоцитов. На ранних стадиях развития микроспорозитов клетки тапетума преимущественно двухъядерные, хотя встречаются и одноядерные. В дальнейшем фрагмопласт может формироваться, а может и не образоваться совсем.

На начальных стадиях мейоза материнских клеток пыльцы клетки тапетума прилегают к микроспорозитам. Между тапетумом и стенкой микроспорангия образуется полость, заполненная локкулярной жидкостью. По завершении мейоза увеличивающиеся в размерах микроспоры оттесняют тапетальные клетки к стенке микроспорангия. Во время мейоза микроспорозитов хромосомы в клетках тапетума частично спирализованы. Тапетум у *T. ledebourii* секреторный, его клетки крупные, располагаются рыхло. Соотношение размера ядра к цитоплазме различное. В нормальном состоянии большинство клеток имеют крупное ядро, которое занимает примерно половину объема цитоплазмы (рис. 2, а). Встречаются клетки с довольно большим количеством цитоплазмы, в этом случае формируется несколько мелких вакуолей. Клетки имеют различную форму – от изодиаметрической гексаэдрической до сильно вытянутой (см. рис. 2, б–з). Изодиаметрические клетки приурочены к окончаниям пыльника, изредка могут располагаться в два слоя. В латеральных областях микроспорангия клетки тапетума по мере развития сильно вытягиваются, формируя один рыхлый слой (см. рис. 2, з).

Во всех клетках тапетума хромосомы в мейотический период частично спирализованы, некоторые из них приступают к митотическому делению (см. рис. 2, г–з). Профаза очень короткая и, как правило, проходит с нарушениями. Часто отмечаются усиленная спирализация хромосом, их неравномерное расхождение с образованием мостов (см. рис. 2, д–е) или реституционных ядер. Фрагмопласт может не формироваться, а если формируется, то центробежно (см. рис. 2, ж). В результате деления и наличия или отсутствия клеткообразования получают двухъядерные, четырех- или трехъядерные клетки (см. рис. 2, б, в). Зрелый тапетум, как правило, состоит из двухъядерных клеток. Трех- и четырехъядерные встречаются редко и приурочены к внешним пыльникам. Расположение ядер зависит от степени вытянутости клетки.

При делении клеток тапетума нами обнаружено образование мостов в результате слипания хроматид и “клювиков” при расхождении хромосом к полюсам, описанным ранее Т.Ф. Петровой (1977) у *Erythronium sibiricum* для митотических делений клеток эндосперма.

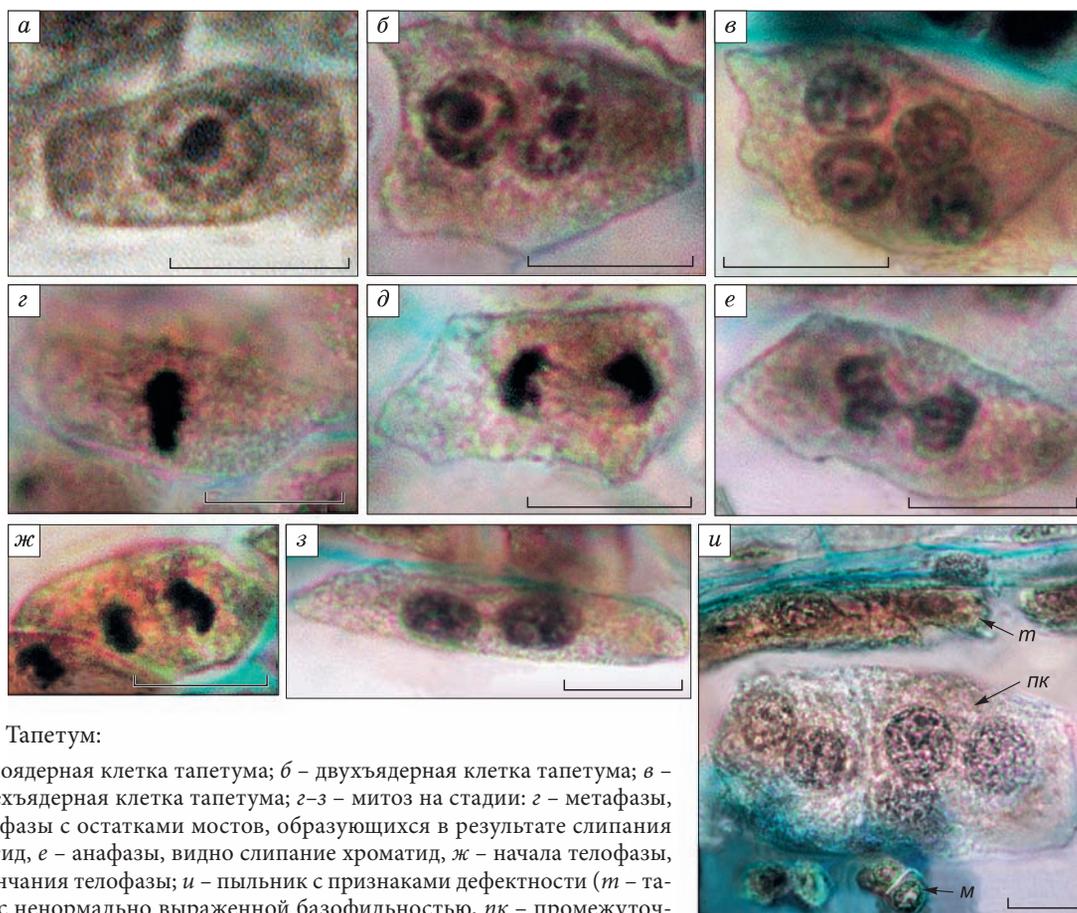


Рис. 2. Тапетум:

а – одноядерная клетка тапетума; *б* – двухъядерная клетка тапетума; *в* – четырехъядерная клетка тапетума; *г-з* – митоз на стадии: *г* – метафазы, *д* – анафазы с остатками мостов, образующихся в результате слияния хроматид, *е* – анафазы, видно слияние хроматид, *ж* – начала телофазы, *з* – окончания телофазы; *и* – пыльник с признаками дефектности (*т* – тапетум с ненормально выраженной базофильностью, *пк* – промежуточные клетки, *м* – микроспороциты). Масштабная линейка – 10 мкм.

Нарушения при делении ядер тапетума характерны для пыльников с высоким содержанием дефектной пыльцы.

Тапетум у *T. ledebourii* функционирует довольно долго. Окончание генезиса тапетума происходит в период, когда прекращаются деление клеток и изменение плотности и структуры цитоплазмы. Этот период и совпадает с начальной стадией образования тетрад микроспор.

Следующий этап – лизис клеток тапетума, который продолжается весь период формирования оболочки одноклеточных пыльцевых зерен и завершается к началу митоза.

В нашем случае установлено, что в крайних пыльниках, где формируется очень высокая доля дефектной пыльцы (вплоть до 100 %), тапетум более рыхлый и базофильный. Для него характерны интенсивные митотические деления и особенно крупные вакуолизованные клетки.

Клетки связника представлены крупной рыхлой паренхимой с проводящим пучком в центре. Снаружи он покрыт эпидермисом, в месте прилегания пыльников специфические ткани отсутствуют. Паренхиматические клетки связника крупные, сильно вакуолизованные, слегка удлинённые вдоль оси пыльника.

Нами впервые обнаружены переходные клетки, которые располагаются между тапетумом и микроспороцитами. Они не образуют выразительно слоя, встречаются, как правило, в концевых частях пыльников около тапетума. В центральной части гнезда пыльника мы не наблюдали их образования. Клетки очень крупные, рыхлые, двух- или четырехъядерные (см. рис. 2, *и*), хромосомы в крупных ядрах частично спирализованы. Подобные клетки рано лизируются – их можно наблюдать во время мейоза материнских клеток пыльцы, а на стадии тетрад микроспор они уже отсутствуют. Переходные клетки не являются типичным образованием, встречаются эпизодически, в отдельных пыльниках их масса может быть значительной. Эти клетки приурочены к пыльникам, формирующим большое количество дефектных тетрад. Скорее всего, они являются результатом деструктивного перерождения микроспороцитов на ранних стадиях дифференциации.

По В.К. Симоненко (1994), средний слой стенки микроспорангия метаболически активен и находится в тесной коррелятивной зависимости от развития тапетума. Нам не удалось соотнести формирование стенки микроспорангия (кроме тапетума) с типами нарушений при развитии микро-

спороцитов и образованием стерильных пыльцевых зерен. Даже в случае дефектного прохождения мейоза происходит дифференциация всех покровных слоев и вакуолизация клеток стенки. Однако в пыльниках со 100%-й дефектной пылью отсутствует развитие волокон в эндотеции, наблюдается повышенная базофильность тапетума и увеличивается период его существования.

Отличие тапетума от остальных слоев стенки обусловлено не столько происхождением ткани, сколько ее функциональной значимостью. Основная функция тапетума – питающая и сдерживающая рост мейоцитов; тогда как остальные слои несут защитную и покровную функции.

Таким образом, в формировании стенок микроспорангия можно выделить два важных пе-

риода – мейотический, когда его ткани созревают и выполняют питающую функцию, и постмейотический, когда в клетках стенки происходят изменения, подготавливающие их к вскрытию пыльников. В зрелых и сформированных микроспорангиях стенка трехслойная, состоит из удлинённых клеток эпидермиса, фиброзного эндотеция, уплощенного среднего слоя. Перегородка и связник состоят из крупных паренхиматических клеток. Тапетум в норме секреторного типа однослойный, рыхлый, с одно- и четырехъядерными клетками.

Благодарности. Автор выражает благодарность А.А. Красникову за помощь при работе в Центре коллективного пользования ЦСБС, Е.В. Романовой, О.Ю. Васильевой и Т.В. Коломийчук за ценные советы и замечания.

ЛИТЕРАТУРА

- Батыгина Т.Б.** Перспективы и основные направления развития эмбриологии в СССР // Тез. докл. 9 Всесоюз. совещ. по эмбриологии растений. Кишинев, 1986. С. 5–6.
- Батыгина Т.Б.** Стенка микроспорангия // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Т. 1. Генеративные органы цветка. СПб., 1994. С. 42–44.
- Бхандари Н.Н.** Микроспорангий // Эмбриология растений: использование в генетике, селекции, биотехнологии. Т. 1. М., 1990. С. 66–146.
- Зиман С.Н.** Морфологическая эволюция семейства лютиковых (*Ranunculaceae* Juss.): Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Киев, 1984. 48 с.
- Зиман С.Н.** Морфология и филогения семейства лютиковых. Киев, 1985. 248 с.
- Камелина О.П.** Эндотеций // Эмбриология цветковых растений. Терминологии и концепции. Т. 1. Генеративные органы цветка. СПб., 1994. С. 44–45.
- Кордюм Е.Л.** Эволюционная цитоэмбриология покрытосеменных растений. Киев, 1978. 219 с.
- Петрова Т.Ф.** Цитоэмбриология лилейных. Подсемейство *Lilioideae*. М., 1977. 214 с.
- Прозина М.Н.** Ботаническая микротехника. М., 1960. 199 с.
- Симоненко В.К.** Особенности развития пыльника и микроспор у фертильных форм и ЦМС линии подсолнечника // Репродуктивный процесс и урожайность полевых культур. Одесса, 1981. С. 83–90.
- Симоненко В.К.** Развитие пыльника и микроспор у фертильных и ЦМС линий подсолнечника // Цитология и генетика. 1982. Т. 16, № 5. С. 34–41.
- Симоненко В.К.** Цитология развития пыльника в норме и при различных типах мужской стерильности, используемой в селекции: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Ялта, 1995. 43 с.
- Соколовская Т.Б.** Семейство *Ranunculaceae* // Сравнительная эмбриология цветковых растений. *Winteraceae–Juglandaceae*. Л., 1981. С. 130–138.
- Терехин Э.С., Батыгина Т.Б., Шамров И.И.** Новый подход к классификации типов формирования стенки микроспорангия // Эмбриология цветковых растений. Терминологии и концепции. Т. 1. Генеративные органы цветка. СПб., 1994. С. 60–68.
- Bhandari N.N.** Embryology of the *Magnoliales* and comments on their relationships // J. Arnold Arboretum. 1971. V. 52. P. 1–39, 285–304.
- Davis G.L.** Systematic embryology of angiosperms. N.Y. etc., 1966. 528 p.
- Doroszewska A.** The genus *Trollius* L. A taxonomical study // Monogr. bot. 1974. V. 41. P. 1–184.
- Miyabe K.** On the species of *Trollius* in Japan // Acta Phytotaxon. Geob. 1943. No. 13. P. 1–13.