Развитие мужских генеративных структур *Lamium glaberrimum* (C. Koch) Taliev (*Lamiaceae*)

АНАСТАСИЯ ДМИТРИЕВНА ЯРОСЛАВЦЕВА
СВЕТЛАНА ВАСИЛЬЕВНА ШЕВЧЕНКО

YAROSLAVTSEVA A.D., SHEVCHENKO S.V. 2007: **Development of male generative structures in *Lamium glaberrimum* (K. Koch) Taliev (*Lamiaceae*)**. *Chornomors'k. bot. z.*, vol. 3, № 2: 51-59.

In this article, the results of study of androecium and all stages of male generative structures development in *Lamium glaberrimum* are given. The anthecological morphology of androecium is elucidated. The critical periods of male gametophyte development are revealed.

Keywords: androecium, microsporogenesis, male gametophyte.

ЯРОСЛАВЦЕВА А.Д., ШЕВЧЕНКО С.В. 2007: **Розвиток чоловічих генеративних структур *Lamium glaberrimum* (C. Koch) Taliev (*Lamiaceae*)**. *Чорноморськ. бот. журн.*, Т. 3, № 2: 51-59.

В даній роботі представлені результати дослідження андроцея та всіх етапів розвитку чоловічих генеративних структур *Lamium glaberrimum*. Подана морфологічна характеристика андроцея з точки зору антекології та потенційних можливостей запилення та запліднення. Виявлені критичні періоди в процесі розвитку чоловічих генеративних структур.

Ключові слова: андроцей, мікроспорогенез, чоловічий гаметофіт

Lamium glaberrimum (C. Koch) Taliev (Яснотка голая) – рідкий ендемічний реликтовий вид горного Крима, занесён в Красную книгу Украины (1996) в IV категорию (неопределённые виды), в Европейский Красный список (1991) и в Красный список угрожаемых растений (1998) в категориях R (редкие таксоны с малочисленными популяциями). Поскольку негативные факторы среды провоцируют в первую очередь изменения в процессах репродукции, изучение особенностей репродуктивной биологии, а в частности особенностей развития генеративных структур, редких видов растений даёт возможность выявления причин слабого семенного размножения и естественного возобновления, а также разработки приемов сохранения и восстановления фиторазнообразия. Виды рода *Lamium*, в том числе *L. glaberrimum*, с этих позиций изучены слабо. В литературе имеются сведения, касающиеся общих ботанических и экологических особенностей *L. glaberrimum*, развития проростков, описания мест произрастания, состояния ценопопуляций, отношения к химизму субстрата [ФЛОРА СССР, 1954; ФЛОРА УССР, 1962; Вульф, 1966; ГОЛУБЕВ, 1984; РЫФФ, 2001, 2002; НИКИФОРОВ, ВОЛОШИН, 2005]. Что касается эмбриологических данных по развитию мужских генеративных структур, то они встречаются для других представителей рода *Lamium*. Так, в работе В.В. Финна описано развитие мужского гаметофита *L. laevigatum* L., R. Schnarf приводит описание 2-клеточной пыльцы у *L. flexuosum* L., G. L. Davis было установлено, что пыльцевые зёрна в клейстогамных цветках *L. amplexicaule* прорастают in situ [цит. по КУРБАНОВУ, 1981].

В данной работе представлены результаты изучения развития микроспорангия и мужского гаметофита *L. glaberrimum*, как одного из важнейших этапов процесса репродукции данного вида в естественных условиях произрастания.

Материал и методы исследований

Наблюдения и сбор материала осуществляли в локальной популяции, расположенной на южном склоне г. Чатырдаг, под вершиной Эклизи-Бурун в 2003 – 2007 гг. В соответствии с данными А.Р. Никифорова, Р.Р. Волошина [2005], численность её не превышает 450 растений. В выборку регулярно наблюдаемых нами растений входило 35 особей. Количество проанализированных цветков на различных этапах развития составило около 3000 штук. Из них было зафиксировано 190 цветков. Морфологическое описание репродуктивных структур осуществляли на живом и гербарном материале под бинокулярным МБС–1 согласно классификациям А.А. Фёдорова и З.Т. Артющенко [1975]. Материал фиксировали фиксатором Чемберлена (90:5:5) на всех стадиях, начиная с апикальных частей цветоносных побегов до цветков. Постоянные препараты готовили по общепринятым в цитозембриологии методикам [ПАУШЕВА, 1970]. Препараты окрашивали метиловым зеленым и пиронином с подкраской алциановым синим [ШЕВЧЕНКО и др., 1992]. Постоянные препараты анализировали под микроскопом JENAVAL-2 фирмы Цейсс. За период исследований в целом было подготовлено и проанализировано 430 препаратов. Графическую реконструкцию цитозембриологических картин осуществляли с помощью рисовального аппарата РА-7. Фотографии получали с помощью цифровой фотокамеры Olympus SP-350, съемка живого материала производилась в режиме супермакросъемки, а фиксированного – под микроскопом в обычном режиме.

Результаты исследований и их обсуждение

Lamium glaberrimum – это многолетнее растение высотой около 20-30 см, представитель петрофитной флоры, встречающийся исключительно на известняках и мергелях [Рыфф, 2002]. Растения характеризуются голыми неопушёнными стеблями и листьями. Репродуктивные структуры закладываются только на побегах текущего года. Количество побегов на одном растении различно – от 1-2 (редко) до 13-16. Первые раскрытые цветки появляются в конце мая. Пик цветения наблюдается в июле – начале августа. Цветёт фактически до первых морозов. Цветки на цветоносных побегах располагаются мутовками, образуя ложные соцветия. Количество цветков в мутовке от 2 до 6, они разновозрастные и не все доживают до этапа цветения.

Цветок полный, обоеполый, зигоморфный, гетеромерный, сидячий. Венчик крупный, спайнолепестный. Наружная поверхность венчика опушённая, внутренняя – голая. Верхняя губа дугообразно выпуклая, двулопастная, шлемовидная. Нижняя губа отогнутая, двураздельная, края лопастей слабо и неравномерно-выемчатые, в районе зева края нижней губы имеют выросты – плеридии. В конце цветения венчик опадает вместе с тычинками и столбиком пестика.

Андроцей четырёхчленный, двусильный, представлен 2 короткими и 2 длинными тычинками, которые в цветке расположены ассиметрично, тычиночные нити смещены к верхней части трубки венчика и верхней губе (рис. 1). По расположению в цветке относительно друг друга тычинки скученные, но между собой не срастаются, а срастаются с трубкой венчика и в районе зева: короткие тычинки с верхней губой, а длинные – ближе к нижней. В пространстве тычинки изогнуты (тычиночная нить в базальной и центральной части расположена параллельно вертикальной оси цветка, а в апикальной части изогнута к центру). Их подобное пространственное расположение, а в связи с этим рычажный механизм действия, является одним из проявлений синдрома энтомофилии. Несмотря на это, опылителей достаточных размеров для задевания

спинкой пыльников в период наблюдения практически не выявлено. Тычиночная нить цилиндрическая, нитевидная, упругая, в апикальной части голая, в базальной части и в районе срастания с венчиком имеются длинные немногочисленные волоски. Связник продолжает тычиночную нить. Пыльник центральной частью дорсальной поверхности полуподвижно сочленён с тычиночной нитью. Пыльники верхушечные, двутековые, четырёхгнездные. Теки смещены друг к другу и располагаются смежно. Характерно наличие выроста ткани связника – плацентоида, который вдаётся в полость гнезда микроспорангия. Созревают пыльники ещё в бутоне. Перед вскрытием пыльника гнезда в теках объединяются за счёт разрушения верхней половины перегородки между ними. Признаков дегенерации в пыльниках не выявлено. Раскрываются пыльники интрорзно относительно оси цветка и латрорзно относительно рыльца. Щели в пыльнике однонаправлены и обращены внутрь цветка. На поверхности стенки микроспорангия образуется неравномерное опушение: латеральная сторона имеет продольно-линейное опушение, которое на апикальных поверхностях заканчивается пучками длинных волосков, а внутренняя – лишена опушения. На поверхностях тек, смежных между собой, развиваются крупные железистые волоски. Пыльники характеризуются выразительной, привлекающей окраской за счёт тёмно-бордовой пигментации тек и ярко-оранжевого цвета пыльцы.

Рис. 1. Схема строения и расположения андроцея *L. glaberrimum*: (А – вид внутренней поверхности венчика, Б – общий вид андроцея, В – пыльник); вг – верхняя губа, нг – нижняя губа, л – лопасти верхней и нижней губы, плд – плеридии, пг – пигментация венчика (обозначена точками, штрихами, линиями).

Fig. 1. Scheme of structure and situation of androecium in *L. glaberrimum*: (А – the inner surface of the corolla, Б – general view of androecium, В – an anther); вг – upper lip, нг – lower lip, л – lobes of upper and lower lips, плд – pleuridies, пг – pigmentation of corolla (designed with points, strokes and lines).

Развитие андроцея у *L. glaberrimum* начинается с момента заложения примордиев в цветке на начальных этапах его формирования. Четыре зачатка тычинок закладываются вслед за чашелистиками на внутренней стороне их основания в виде куполообразных бугорков со слегка уплощённой вершиной, и только затем из латеральных тканей тычиночного примордия обособляется примордий венчика. Такая последовательность заложения различных кругов цветка характерна и для других видов

семейства *Lamiaceae* [ДЗЕВАЛТОВСКИЙ, ПОЛЩУК, 1974]. Далее в каждом бугорке в супэпидермальном слое соответственно гнёздам пыльника дифференцируется археспорий, клетки которого впоследствии периклинально делятся и дают начало первичной париетальной и спорогенной клеткам (рис.2,А,Б). В результате ряда антиклинальных делений образуется слой первичных париетальных клеток и спорогенная ткань, на этой стадии уже чётко выражена дифференциация гнёзд пыльника (рис. 2,В), а в цветке сформированы чашелистики и лепестки, мегаспорофиллы вытянуты и формируют столбик.

Рис. 2. Начальные этапы развития микроспорангия (А – дифференциация археспориальной клетки, Б – деление археспориальной клетки, В – формирование спорогенной ткани и слоя первичных париетальных клеток; пп – первичные париетальные клетки, сп т – спорогенная ткань). В рисунках 2 – 6 цена деления линейки 10 мкм.

Fig. 2. First stages of microsporangium development (А – archesporium cell differentiation, Б – archesporium cell division, В – formation of sporogenous tissue and the layer of initial parietal cells; пп – initial parietal cells; сп т – sporogenous tissue). Scale bars: in fig. 2– 6 =10 μ m.

Стенка микроспорангия формируется центробежно (рис. 3,А,Б), и сформированная – состоит из следующих слоёв: эпидермис, эндотеций, средний слой и тапетум (рис. 3,А; 4,А). Эпидермис представлен вытянутыми четырёхгранными клетками с мелкими ядрами и неплотным протопластом, а также характеризуется постепенным утолщением оболочек по всему периметру клеток, начиная с этапа дифференциации тапетума. Клетки эндотеция линзовидной или четырёхгранной формы с относительно крупными ядрами, занимающими большей частью центральное положение, цитоплазма не очень густая, средней степени вакуолизации. Средний слой – это тонкие уплощённые клетки с вытянутым ядром, характеризуется признаками начинающейся дегенерации, которая завершается в период дифференцирующего митоза. Тапетум формируется за счёт периклинальных делений первичных париетальных клеток (рис. 3, А). Интересно также отметить, что в этот момент под спорогенными клетками наблюдаются первые признаки дифференциации тапетума из клеток связника, в виде увеличения размеров ядер прилегающих клеток и уменьшения толщины оболочек. Следовательно, тапетум *L. glaberrimum* имеет двойственное происхождение. Впоследствии клетки выстилающих слоёв различного происхождения существенно различаются морфологически. Тапетум, являющийся дериватом связника, характеризуется более крупными 4-5-гранными клетками, которые радиально вытянуты и к периоду мейоза отличаются чётко прослеживаемым дистальным расположением крупной вакуоли, в то время как в тапетуме стенки микроспорангия не наблюдается закономерностей вакуолизации клеток. Выстилающий слой стенки микроспорангия всегда однорядный, при том, что тапетум связника может быть представлен двумя рядами. В целом, весь тапетум клеточный, секреторный, его клетки двуждерные, сильно вакуолизированные, с плотной цитоплазмой. Для него характерна длительная дегенерация, начинающаяся в процессе мейоза и завершающаяся практически перед раскрытием пыльника. В период лизиса тапетума протопласт

сжимается, светлеет, а позже дегенерируют ядра, интересно отметить, что при этом клетки тапетума редко отходят от стенки микроспорангия, что впоследствии приводит к образованию тапетальной плёнки.

Рис. 3. Формирование стенки микроспорангия (А – тапетума, Б – эндотеция и среднего слоя): э – эпидермис, вп – вторичные париеальные клетки, т – тапетум, т св – тапетум, являющийся дериватом связника, сс – средний слой, эн – эндотеций.

Fig. 3. Microsporangium wall formation (А – tapetum, Б – endothecium and middle layers; э – epidermis, вп – secondary parietal cells; т – tapetum; т св – tapetum as derivative of connective, сс – middle layer; эн – endothecium).

Спорогенные клетки отличаются крупными размерами и очень плотным, невакуолизированным протопластом, располагаются в 2 (редко 1) ряда. Каллоза вокруг мейоцитов откладывается довольно мощным слоем, но неравномерно, в местах соприкосновения дочерних микроспороцитов практически не просматривается (рис. 4,А). Мейоз проходит очень быстро, с образованием 4 микроспор, большей частью без видимых нарушений. В единичных случаях некоторые спорогенные клетки в мейоз могут не вступать. Формирование в редких случаях полиплоидных пыльцевых зёрен также может свидетельствовать о возможных нарушениях мейоза. Мейотическое деление идёт в плотно прилегающих друг к другу мейоцитах, поэтому тетрады микроспор также располагаются двумя рядами. В выстилающих слоях на этом этапе наблюдалось дальнейшее смещение крупных вакуолей к тетрадам микроспор. Образование тетрады микроспор симультанное. Тетрады тетраэдричного, реже изобилатерального типов и располагаются в каллозных оболочках (рис. 4,Б).

Развитие пыльцевых зёрен в длинных и коротких тычинках у *L. glaberrimum* происходит синхронно. Пыльца по размеру и по качеству более или менее однородна во всех 4-х пыльниках. Дифференцирующий митоз – весьма длительный процесс, который проходит в ещё закрытом бутоне. Результатом его является двуклеточная пыльца (рис. 5,Б). Пыльцевые зёрна вытянуты, продольные щели в экзине создают трояко-вогнутую в поперечном сечении структуру пыльцы. В стенке микроспорангия на данном этапе наблюдалась дегенерация среднего слоя и тапетума (рис. 5,А).

К моменту, когда пыльцевые зёрна сформированы, в стенке микроспорангия наблюдались остатки оболочек клеток и протопластов дегенерирующего тапетума как с наружной стороны, так и со стороны связника; в эпидермальных клетках уже видны признаки дегенерации, в эндотеции начали закладываться фиброзные пояски (рис. 6,А). Эндотеций на данном этапе представлен живыми клетками с разрушающимися ядрами, протопласт которых дегенерирует в процессе отложения фиброзы. В дистальной части стенки микроспорангия эндотеций нерегулярно однослойный, количество слоёв в проксимальной части увеличивается до 2 (редко 3). Фиброзные утолщения формируются также в 3-4 рядах клеток связника.

Рис. 4. Микроспорогенез (А, Б – фрагменты микроспорангиев на стадии обособления микроспороцитов и начала мейоза (А) и на стадии тетрады микроспор (Б): мкм – микроспороциты, тм – тетрады микроспор.

Fig. 4. Microsporogenesis (A, B – a part of microsporangiums at the stage of microsporocytes dividing and of meiosis beginning (A) and at the stage of megaspore's tetrads (B)): мкм – microsporocytes, тм – microspores tetrads.

В зрелом микроспорангии стенка состоит из 2 слоёв: эпидермиса и фиброзного эндотекция (рис. 6,Б). Процесс дегенерации эпидермиса продолжителен и даже в раскрытом пыльнике его клетки содержат остатки пристеночного протопласта, в котором просматривается значительное количество включений. К этому времени ядра в клетках дегенерируют. Наружные оболочки клеток покрыты кутикулой. Пыльца сферическая, двуклеточная (в центре вегетативной клетки расположено крупное, округлое ядро и веретеновидная генеративная клетка), продольно трехпоровая. Поверхность экзины гладкая, без видимых выростов, покрыта полленкином, что способствует склеиванию пыльцевых зёрен и прикреплению к насекомым-опылителям. Большинство пыльцевых зёрен в пыльниках морфологически нормальные (81,5%), но

изредка встречаются и дефективные (18,5%). Размер нормальных пыльцевых зёрен в среднем составляет $30,76 \pm 1,41$ мкм, дефективные, как правило, меньше ($27,02 \pm 1,68$ мкм).

Рис. 5. Некоторые этапы развития мужского гаметофита (А, Б – фрагменты стенок микроспорангиев на стадии распада микроспор, подготовки к дифференцирующему митозу (А) и завершающие этапы митоза (Б); пл – плацентоид, мс – микроспоры).

Fig. 5. Some stages of male gametophyte development. (А, Б – parts of microsporangium's walls at the stage of microspore's divergence and preparing to the differentiate mitosis (А) and final stages of mitosis (Б); пл – placentoide; мс – microspores).

Рис. 6. Фрагменты стенок зрелых пыльников (А – закрытого, Б – раскрытого): фэн – фиброзный эндотеций, тп – тапетальная плёнка, дтсв – дегенерирующий тапетум связника, з пз – зрелые пыльцевые зёрна.

Fig. 6. Parts of the mature anther's walls (А – closed, Б – opened); фэн – fibrous endothecium, тп – tapetal pellicle; дтсв – degenerative tapetum of connective; з пз – mature pollen grains.

Таким образом, на основании полученных результатов исследований можно сделать заключение о том, что наличие полленкита на пыльцевых зёрнах, развитие на пыльниках обращённых вниз волосков, облегчающих высыпание пыльцы на спинку насекомого, а также функционально направленное строение и расположение андроеца свидетельствуют о приспособлении вида к аллогамии, возможной гейтоногамии и энтомофилии. Наблюдаемые нами отклонения отмечены в основном в период мейоза, который может считаться критическим в процессе формирования мужской генеративной сферы. Несмотря на образование естественного для данного вида малого количества пыльцевых зёрен и отсутствие достаточного количества опылителей, что

может являться одной из причин уменьшения числа полноценных семян, отсутствие видимых нарушений микроспорогенеза и формирование большей частью выполненной пыльцы указывает на потенциальные возможности успешного опыления.

Список литературы

- Вульф Е.В. Флора Крыма. Вьюнковые – паслёновые. – М.: Колос. – Т. III – Вып. 2. – 1966. – 256 с.
- ГОЛУБЕВ В.Н. Биологическая флора Крыма. – Ялта, 1984. – 218 с. ВИНТИ
- ДЗЕВАЛТОВСКИЙ А.К., ПОЛЩУК В.С. Особливості морфогенезу квітки у деяких представників родини губоцвітих (Labiatae Juss.) // Укр. Ботан. журнал. – 1974. – Т. XXXI, №5. – С. 645-648.
- КУРБАНОВ Э.А. Цитозмбриология представителей семейства Lamiaceae. – Деп. в ВИНТИ. – Баку, 1981. – 89 с.
- НИКИФОРОВ А.Р., ВОЛОШИН Р.Р. *Lamium glaberrimum* (C. Koch) Taliev (Lamiaceae) в экосистеме подвижной осыпи южного склона горы Эклизи-Бурун (верхнее плато яйлы Чатыр-Дага) и в культуре ex situ в Южном Крыму // Тематический сб. науч. тр. «Экосистемы Крыма, их оптимизация и охрана». – Симферополь, 2005. – Вып. 15. – С. 29-38.
- ПАУШЕВА З.Г. Практикум по цитологии растений. – М.: Колос, 1970. – 246 с.
- РЫФФ Л.Э. Редкие растения осыпей Крыма // Тр. Никит. ботан. сада. – 2001. – Т. 120. – С. 58-63.
- РЫФФ Л.Э. Об отношении растений каменистых обнажений горного Крыма к химизму субстрата // Бюл. Никит. ботан. сада. – 2002. – Вып. 84 – С. 36-39.
- ФЕДОРОВ А.А., АРТЮШЕНКО З.Т. Атлас по описательной морфологии высших растений – Ленинград: «Наука». – 1975. – 350 с.
- ФЛОРА СССР. Под ред. Комарова В.Л. – М.-Л.: Академия наук СССР. – 1954. – Т. XX – 555 с., Т. XXI – 704 с.
- ФЛОРА УССР. – К.: Академия наук УССР, 1962. – Т. IX – 590 с.
- ШЕВЧЕНКО С.В., ЧЕБОТАРЬ А.А. Особенности эмбриологии маслины европейской (*Olea europaea*) // Тр. Никит. ботан. сада. – 1992. – Т. 113. – С. 52-61.

Рекомендує до друку
Т.П. Бланковська

Отримано 30.10.2007 р.

Адреса автора:

А.Д. Ярославцева
С.В. Шевченко
Никитский ботанический сад –
Национальный научный центр УААН
с.м.т. Нікіта, м. Ялта, 98648
АР Крим, Україна
e-mail: anastasiya-d@ukr.net

Author's address:

A.D. Yaroslavitseva
S.V. Shevchenko
Nikita Botanical Gardens
Nikita, Yalta, 98648
Crimea, Ukraine
e-mail: anastasiya-d@ukr.net