

ФОРМИРОВАНИЕ СТЕНКИ ПЫЛЬНИКА У *AEONIUM BALSAMIFERUM* И *A. CILIATUM* (CRASSULACEAE)

© 2022 г. Г. М. Анисимова^{1,*}, И. И. Шамров^{1,2,**}

¹ Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН
ул. Проф. Попова, 2, Санкт-Петербург, 197376, Россия

² Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена
Наб. р. Мойки, 48, Санкт-Петербург, 191186, Россия

*e-mail: galina0353@mail.ru

**e-mail: ivan.shamrov@gmail.com

Поступила в редакцию 23.02.2022 г.

После доработки 05.03.2022 г.

Принята к публикации 29.03.2022 г.

У *Aeonium balsamiferum* и *A. ciliatum* выявлены черты сходства (признаки, характерные для семейства Crassulaceae) и различия в развитии и строении пыльника. Микроспорангии у *A. ciliatum* имеют округлую форму, а у *A. balsamiferum* овально-продолговатую. Вследствие этого септа между микроспорангиями тек оказывается протяженной у *A. ciliatum* и очень короткой у *A. balsamiferum*. У последнего вида пыльца может высыпаться как через стомиум, так и через апикальную пору (этот феномен обнаружен нами впервые у представителей сем. Crassulaceae), причем оба способа вскрытия тек осуществляются одновременно, что свидетельствует, вероятно, о большей специализации пыльника *A. balsamiferum* к опылению. Хотя наружный тапетум у обоих видов однослойный, его клетки одноядерные у *A. ciliatum* и 2-ядерные у *A. balsamiferum*. Внутренний тапетум обычно 1-слойный, редко нерегулярно 2-слойный, при этом его клетки в ходе развития увеличиваются в размерах в 2 раза у *A. ciliatum* и в 3–4 раза у *A. balsamiferum* (у последнего напоминают по строению папиллоподобные клетки).

В строении пыльника обнаружено сходство между родами *Aeonium* и *Sedum*. К ним относятся следующие: изобилатеральный (на поперечном срезе) пыльник с надсвязником, 4-лучевым связником и кольцевидным фиброзным слоем с внутренней стороны связника в нижней области, где нет срастания пыльника и тычиночной нити; 3-бороздно-оровые пыльцевые зерна, их поверхность – струйчатая. Полученные данные не противоречат кладистическим построениям, свидетельствующим о том, что виды полифилетического рода *Sedum* включаются в состав триб Aeonieae, Semperviveae и Sedeae. Изученные виды *Aeonium balsamiferum* и *A. ciliatum*, входящие в *Aeonium*-кладу, занимают промежуточное положение между кладами *Telephium* (*Sedum kamtschaticum*) и кладой *Acre* (*S. palmeri*).

Ключевые слова: андроцей, пыльник, стенка микроспорангия, Crassulaceae, *Aeonium*, *Aeonium balsamiferum*, *A. ciliatum*

DOI: 10.31857/S0006813622060035

Эмбриология представителей сем. Crassulaceae до сих пор изучена недостаточно. Ранее нами были исследованы некоторые виды родов *Kalanchoe* и *Sedum*. При рестриктазном анализе ДНК хлоропластов в семействе *Crassulaceae* выделяются 7 клад: *Crassula*, *Kalanchoe*, *Telephium*, *Sempervivum*, *Aeonium*, *Leucosedum* и *Acre*. Клада *Kalanchoe* является монофилетической и находится почти в основании филогенетического древа (Nikulin, Goncharov, 2017). Виды *Kalanchoe laxiflora* Baker, *K. tubiflora* (Harv.) Raym.-Hamet мало различаются как по строению пыльника, так и семязачатка (Anisimova, 2016; Anisimova, Shamrov,

2018). Структура полифилетического рода *Sedum* остается мало исследованной. Большинство его видов, включенных в трибу *Sedeae*, расположены между кластером *Leucosedum* и кладой *Acre*. Изученные нами виды относятся к кладам *Acre* (*Sedum palmeri* S. Watson) и *Telephium* (*S. kamtschaticum* Fisch.) (Anisimova, 2020; Anisimova, Shamrov, 2021a, b). Следует отметить, что некоторые виды рода *Sedum* (*S. surculosum* Cosson, *S. atlantica* Ball.) рассматривались в составе рода *Monanthes*, вероятного родственного таксона рода *Aeonium*. Последний включает около 40 видов (Mes et al., 1996, 1997). Именно наличие возможной филогенети-

ческой близости родов *Sedum* и *Aeonium* побудило нас провести исследование морфогенеза андроеца, развития и строения стенки пыльника у двух видов рода *Aeonium*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Для исследования были выбраны два вида *Aeonium*: *A. balsamiferum* Webb et Berthel. (эониум бальзамический) и *A. ciliatum* (Willd.) Webb et Berthel (эониум реснитчатый). В природных условиях они являются эндемичными растениями Канарских островов (Mes et al., 1996).

Материалом для изучения послужили растения коллекции Ботанического сада Петра Великого Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН. Изученные виды произрастают в условиях оранжереи.

Бутоны и цветки на разных стадиях развития фиксировали в смеси FAA (70° этиловый спирт, 40% формалин, ледяная уксусная кислота в пропорции 100 : 7 : 7). Затем проводили инфильтрацию парафином. Срезы толщиной 12 мкм окрашивали фуксин-сернистой кислотой по Фельгену (ядра клеток) с подкраской гематоксилином по Эрлиху (цитоплазма) и алциановым синим (клеточные стенки), сафранином по Картису, генциан—виолеттом по Ньютону с подкраской оранжем “G” в гвоздичном масле (Pausheva, 1974).

Постоянные препараты исследовали с помощью светового микроскопа Amplival (фирмы Carl Zeiss). Микрофотосъемка с препаратов проводилась с использованием светового микроскопа AxioPlan-2 mot, камеры AxioCam MRc 5 и программы AxioVision 4.8 (фирмы Carl Zeiss). Рисунки выполнены с помощью рисовального аппарата. Живой и фиксированный материал исследовали с помощью бинокулярного микроскопов МБС-1 и Stemy. Строение пыльцевых зерен осуществлено с помощью сканирующего электронного микроскопа Jeol JSM-6390 LA в Центре коллективного пользования БИН РАН.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Соцветие и цветок. У *Aeonium balsamiferum* и *A. ciliatum* цветки собраны в сложные цимозные соцветия. У *A. balsamiferum* они представлены как монохазиями, так и дихазиями (рис. 1, 2, 3). Структурной единицей соцветия является завиток, который является двойным в дихазиях. У *A. ciliatum* соцветия образованы преимущественно сложными дихазиями (рис. 1, 6). Число элементов цветка в пределах одного соцветия варьирует, при этом в одном цветке оно может быть кратным 8: 8 чашелистиков, 8 лепестков, 16 тычинок (8 наружного и 8 внутреннего кругов), 8 плодolistиков, 8 нектарников. В других случаях чис-

ло элементов в кругах цветка может различаться: 9 чашелистиков, 9 лепестков венчика, 18 тычинок (9 наружного и 9 внутреннего кругов), но 8 плодolistиков и 8 нектарников. Проведенный анализ показал, что у *A. balsamiferum* доминируют цветки с числом элементов в кругах, равным 8 и 9. Отмечены в небольшом количестве цветки, число элементов в которых иное — 7 и 10. У *A. ciliatum* в большинстве цветков число элементов в кругах составляет 7. Выявлены цветки с числом элементов 5, 6 и 8.

Цветок характеризуется двойным околоцветником. Чашечка и венчик — сростнолистный. Свободные лопасти чашечки треугольной формы (рис. 1, б). Окраска венчика различается у изученных видов. У *A. balsamiferum* лепестки желтого (рис. 1, 1), а у *A. ciliatum* белого (рис. 1, б) цвета.

Тычинка и пыльник. Как уже было отмечено, в цветках разного строения андроецей чаще всего состоит из 16 и 18 тычинок у *A. balsamiferum*, 14 тычинок у *A. ciliatum* (см. рис. 3, 1; 4, 1). Выявлены случаи с 10, 12 и 20 тычинками. Чаще всего они располагаются в 2 круга. Лепестки венчика и тычинки наружного круга находятся между лопастями чашечки. Тычинки внутреннего круга прикрепляются в средней части лепестков венчика (рис. 1, 4). Чашечка, венчик и тычинки андроеца долго сохраняются в цветке после опыления (рис. 1, 5).

В базальной части пыльник не срастается с тычиночной нитью (составляет примерно 1/3 его длины). Его края опускаются, напоминая шляпку гриба (рис. 2, 1; 3, 2б). К месту прикрепления на цветоложе тычиночная нить уплощается и становится продолговато-овальной (рис. 2, б; 3, 1). Однако на уровне вхождения в пыльник она принимает цилиндрическую форму и расширяется по мере приближения к зоне срастания с ним. У *A. ciliatum* на поверхности тычинки формируются железистые волоски. Они имеют эпидермальное происхождение. На тычиночной нити волоски расположены густо, а на пыльнике редко (см. рис. 3, 2а). В центре тычиночной нити, состоящей из паренхимных клеток, проходит проводящий пучок (рис. 2, 1; 3, 3–8; 4, 2–5). Продолжением тычиночной нити, соединяющей теки пыльника, является связник, клетки которого вокруг проводящего пучка заполняются танинами. Позднее в некоторых из них появляются фиброзные утолщения (см. рис. 3, 5; 4, 2–5). Особый случай представляет образование кольцевидного фиброзного слоя с внутренней стороны связника в нижней области, где нет срастания пыльника и тычиночной нити (см. рис. 3, 5; 4, 4). В период микроспорогенеза развивается надсвязник. Апикальная часть пыльника округлая и слегка заостренная в области надсвязника (рис. 2, 1–3; 3, 2б).

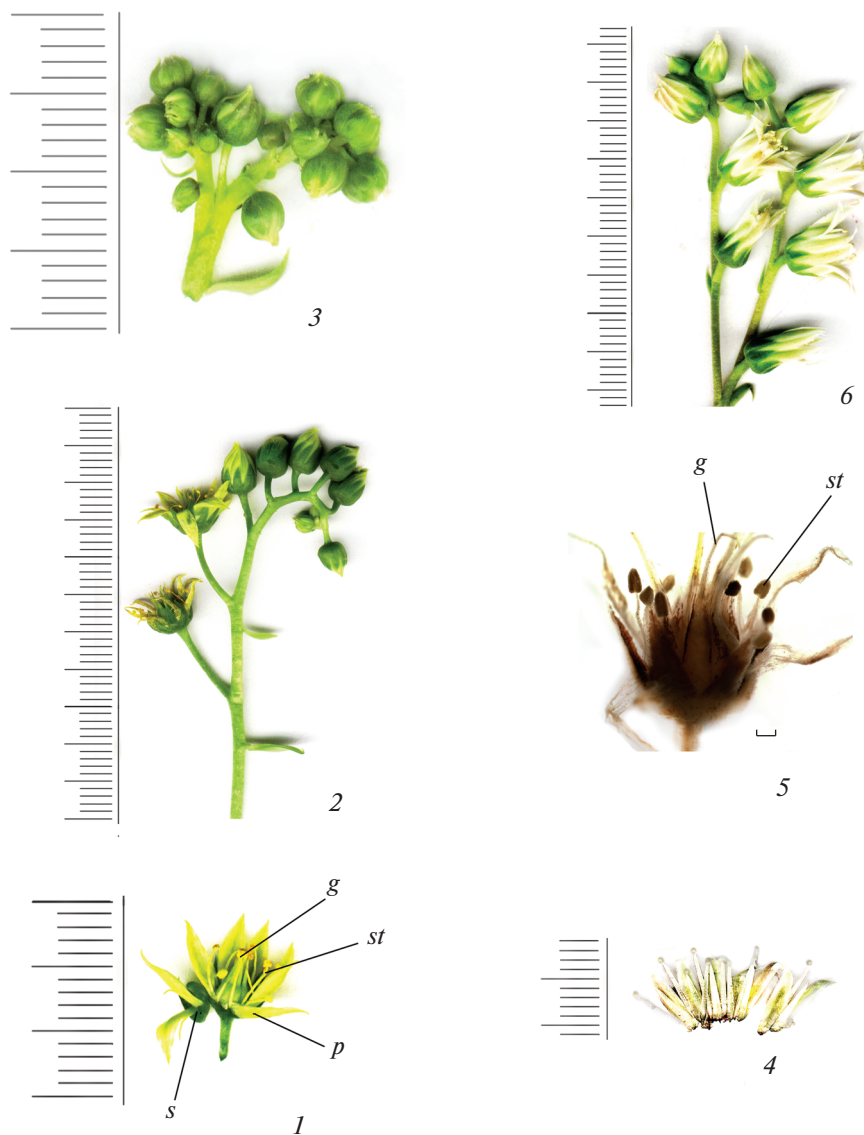


Рис. 1. Строение цветка и соцветия у *Aeonium balsamiferum* (1–3) и *A. ciliatum* (4–6).

Строение цветка: во время цветения (1), после опыления (5), тычинки и лепестки перед опылением (4). Строение соцветий: монохазий в форме завитка (2) и дихазий, представленный двойным завитком (3, 6). *g* – гинецей, *p* – лепесток, *s* – чашелистик, *st* – тычинка. Масштабная линейка, мм: 1.

Fig. 1. Structure of flower and inflorescence in *Aeonium balsamiferum* (1–3) and *A. ciliatum* (4–6).

Flower structure: during flowering (1), after pollination (5), stamens and petals before pollination (4). The structure of inflorescences: monochasium in the form of a cincinnus (2) and dichasium represented by a double cincinnus (3, 6). *g* – gynoecium, *p* – petal, *s* – sepal, *st* – stamen. Scale bar, mm: 1.

В ходе развития, особенно при подготовке к вскрыванию, в апикальной части пыльника *A. balsamiferum* происходит образование группы густоплазменных клеток (рис. 2, 2), которые затем разрушаются. Образуется полость, объединяющая пространства обеих тек с пыльцой (рис. 2, 3, 4). В итоге формируется клювовидная структура, в которой образуется пора, вскрывающаяся подобно стомиуму (рис. 2, 4). Перед открыванием края поры лишь сомкнуты, а в окружающих клет-

ках эндотеция обнаруживаются фиброзные утолщения (рис. 2, 5). Пыльца может высыпаться как через пору, так и через стомиум. У *A. ciliatum* апикальная часть пыльника также вытягивается в клювовидную структуру, клетки связника между теками сохраняются, при этом полость не образуется, теки остаются свободными и пора не формируется. Поэтому пыльник у этого вида вскрывается только в области стомиума (рис. 3, 2–5, 8; 4, 3, 4).

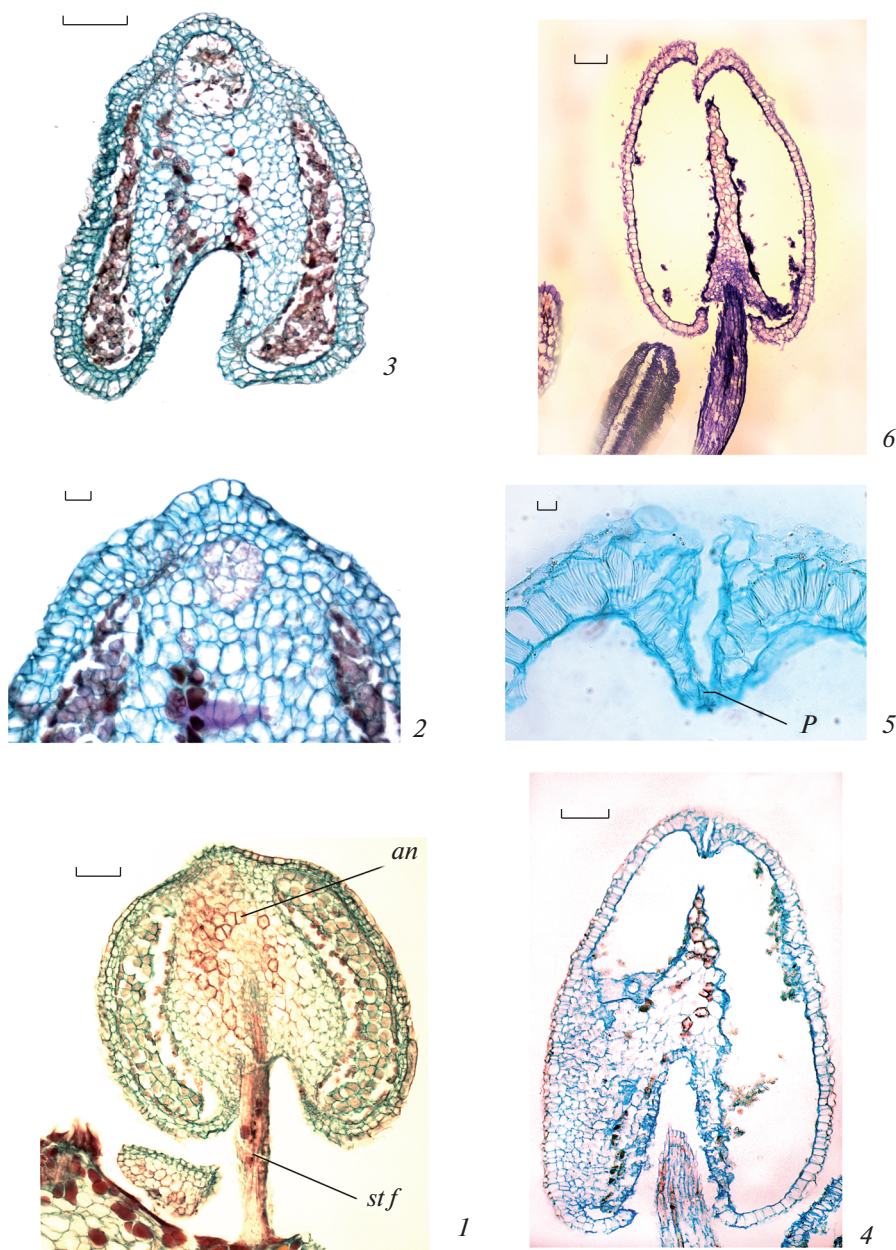


Рис. 2. Строение тычинок у *Aeonium balsamiferum* (продольные срезы).

Строение тычинки (1); образование группы густоплазменных клеток в апикальной части пыльника (2), их разрушение и образование полости, которая соединяет пространства обеих тек с пыльцой (3, 4), формирование клювовидной структуры и поры (5), вскрывшаяся пора (6). *an* – пыльник, *p* – пора, *stf* – тычиночная нить. Масштабная линейка, мкм: 1 – 50, 2, 8 – 20, 3, 4, 6 – 100, 5 – 10.

Fig. 2. Stamen structure in *Aeonium balsamiferum* (longitudinal sections).

Structure of the stamen (1); formation of a group of cells with dense cytoplasm in the apical part of the anther (2), their destruction and formation of a cavity to unite the spaces of both thecae with pollen (3, 4), formation of a beak-like structure and a pore (5), open pore (6). *an* – anther, *p* – pore, *stf* – stamen filament. Scale bars, μm : 1 – 50, 2, 8 – 20, 3, 4, 6 – 100, 5 – 10.

Пыльники – тетраспорангиатные (рис. 3, 2–4; 4, 4–6). На ранних этапах развития они асимметричные, широкой (абаксиальной) частью направлены наружу, а узкой (адаксиальной) – внутрь (рис. 4, 2). Но постепенно размеры абаксиальных и адаксиальных микроспорангиев выравнивают-

ся, и пыльник на поперечном срезе напоминает изобилатеральную структуру (рис. 3, 5; 4, 2). Однако у *A. ciliatum* некоторые пыльники сохраняют форму “бабочки” (рис. 4, 4, 6; 7, 1a). У изученных видов выявлено особое строение связника. Его форма характеризуется 4 лучами, напоминая первичное

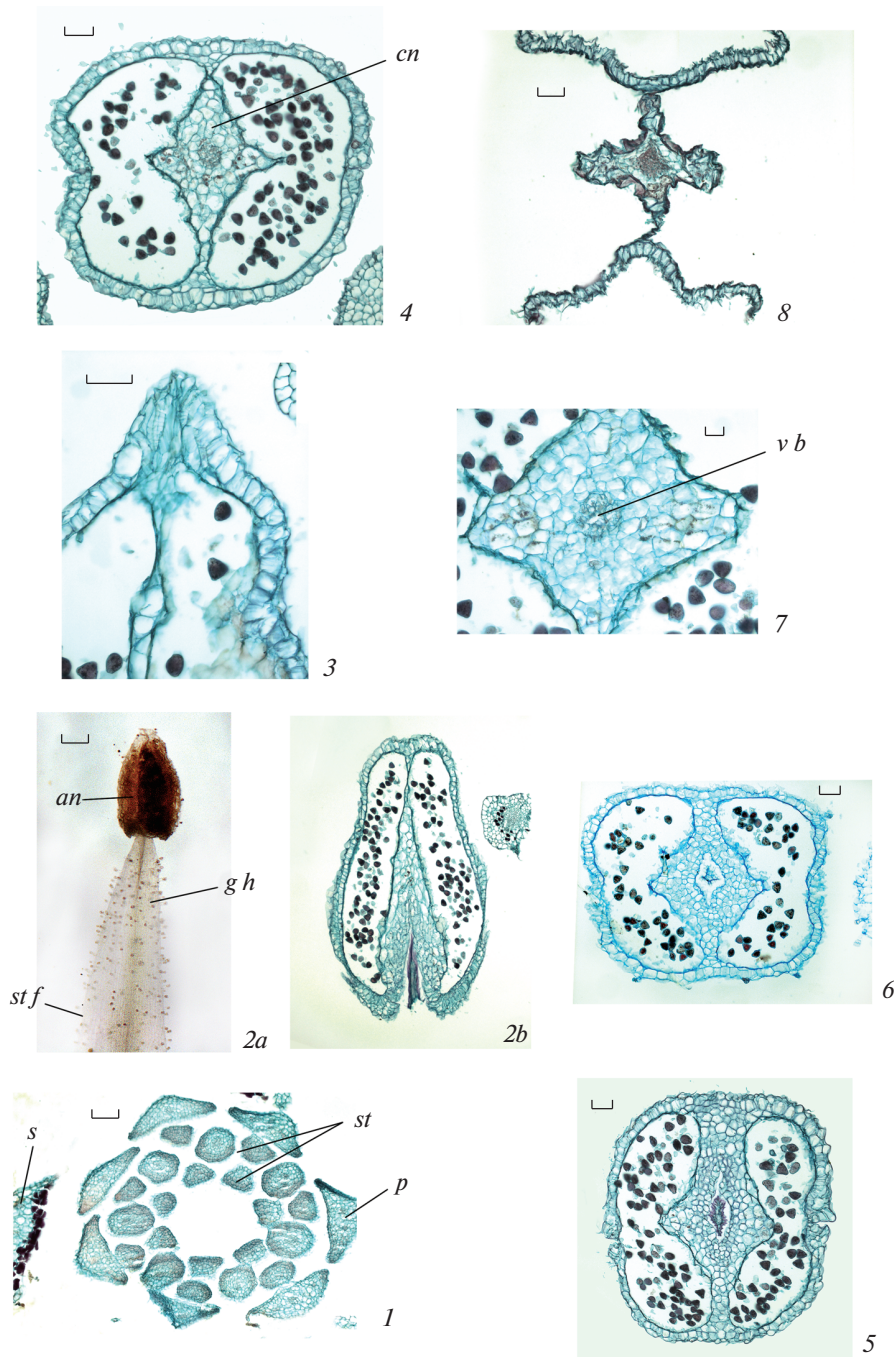


Рис. 3. Строение тычинок у *Aeonium ciliatum* (2, 3 – продольные, 4–8 – поперечные срезы).

Число и положение тычинок в цветке (1); строение тычинок (2а, 2б), покрытых железистыми волосками (2а); апикальная часть пыльника вытягивается в клювовидную структуру, часть клеток связника разрушается, но полость не образуется и теки остаются свободными (2б, 3); строение пыльника в разных его частях: в области, сросшейся с тычиночной нитью (4), свободной от тычиночной нити (ближе к месту срастания – 5, в базальной части – 6); связник, видны клетки с танинами, а в центре проводящий пучок (7); вскрытый пыльник (8). *an* – пыльник, *cn* – связник, *gh* – железистый волосок, *p* – лепесток, *s* – чашелистик, *st* – тычинка, *stf* – тычиночная нить, *vb* – проводящий пучок. Масштабная линейка, мкм: 1 – 50, 2а – 150, 2б – 100, 3–6, 8 – 50, 7 – 20.

Fig. 3. Stamen structure in *Aeonium ciliatum* (2, 3 – longitudinal and 4–8 – transverse sections).

Number and position of stamens in a flower (1); structure of the stamens (2a, 2b) covered with glandular hairs (2a); the apical part of an anther extends into a beak-like structure, a part of cells of the connective tissue is destroyed, but the cavity is not formed and the thecae remain free (2b, 3); structure of the anther in its different portions: in the zone fused with the stamen filament (4), free from the stamen filament (5 – closer to the place of fusion, 6 – in the basal part); connective, cells with tannins are visible, in the center there is a vascular bundle (7); dehiscent anther (8). *an* – anther, *cn* – connective, *gh* – glandular hair, *p* – petal, *s* – sepal, *st* – stamen, *stf* – stamen filament, *vb* – vascular bundle. Scale bars, μm : 1 – 50, 2a – 150, 2b – 100, 3–6, 8 – 50, 7 – 20.

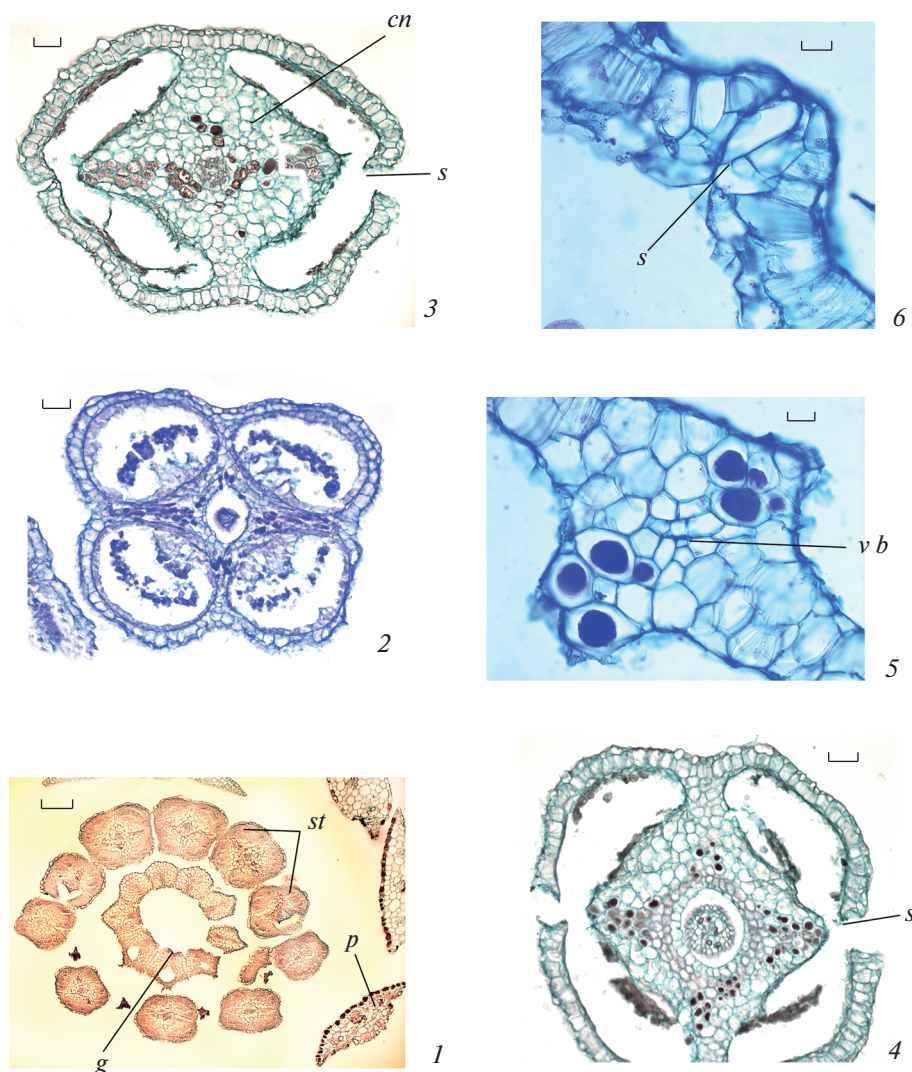


Рис. 4. Строение тычинок у *Aeonium balsamiferum* (поперечные срезы).

Число и положение тычинок в цветке (1); строение пыльника в разных его частях: в области, сросшейся с тычиночной нитью (3), свободной от тычиночной нити (ближе к месту сращения – 4, в базальной части – 2); связник, видны клетки с танинами, с фиброзными утолщениями, а в центре проводящий пучок (5); пыльник перед вскрыванием (6). *g* – гинецей, *cn* – связник, *p* – лепесток, *s* – стомийум, *st* – тычинка, *vb* – проводящий пучок. Масштабная линейка, мкм: 1 – 100, 2–4 – 50, 5, 6 – 10.

Fig. 4. Stamen structure in *Aeonium balsamiferum* (transverse sections).

Number and position of stamens in a flower (1); structure of the anther in its different portions: in the zone fused with the stamen filament (3), free from the stamen filament (4 – closer to the place of fusion, 2 – in the basal part); connective, cells with tannins and fibrous thickening are visible, in the center there is a vascular bundle (5); anther before dehiscence (6). *g* – gynoecium, *cn* – connective, *p* – petal, *s* – stomium, *st* – stamen, *vb* – vascular bundle. Scale bars, μm : 1 – 100, 2–4 – 50, 5, 6 – 10.

тетрахное строение корня. Подобно тому, как в корне между лучами ксилемы располагается флоэма, в пыльнике между лучами связника находятся микроспорангии. У *A. ciliatum* они имеют округлую форму и, соответственно, септа между микроспорангиями тек оказывается протяженной (рис. 3, 4–6). У *A. balsamiferum* микроспорангии овально-продолговатые, а септа оказывается очень короткой (рис. 4, 2–4).

Формирование стенки микроспорангия. Вопросы типизации стенки микроспорангия и последовательность возникновения ее слоев обсуждаются в литературе. В нашем исследовании мы используем представления, разработанные И.И. Шамровым (Shamrov, 2008) и группой его коллег (Shamrov, Anisimova, Vabro, 2019, 2020). Изучение пыльника у *A. balsamiferum* и *A. ciliatum* показало, что в его субпидермальном слое на ран-

них этапах развития дифференцируется группа инициальных клеток (центральная и латеральные — см. рис. 7, 1), которые образуют как слой стенки микроспорангия со всех сторон микроспорангия, так и сам археспорий, а затем спорогенные клетки и микроспороциты. После периклиналильного деления центральной субэпидермальной клетки наружу отделяется археспориальная клетка, а внутрь — клетка, из которой формируется проксимальная (ближайшая к связнику) часть стенки микроспорангия, преобразующаяся в клетки внутреннего тапетума. Латеральные субэпидермальные инициальные клетки за счет делений образуют латеральные части стенки микроспорангия (рис. 5, 1; 6, 1–4; 7, 2). В результате периклиналильных делений археспориальных клеток возникают наружный (париетальные клетки) и внутренний (спорогенные клетки) слои.

Клетки париетального слоя делятся периклиналильными и антиклиналильными делениями, в результате чего образуются слои, входящие в состав дистальной части стенки микроспорангиев. Периклиналильные деления происходят в определенной последовательности. После деления клеток исходного париетального образуются два слоя, участие которых различно в дальнейшем построении стенки микроспорангия (рис. 6, 4; 7, 3). Клетки внутреннего париетального слоя становятся тапетумом, тогда как клетки наружного слоя образуют 2 слоя (наружный — эндотеций и внутренний — средний слой). Таким образом, завершаются начальные стадии формирования стенки микроспорангия — возникновение и дифференциация ее слоев (от археспория до спорогенной ткани).

В дальнейшем на стадии преобразования спорогенных клеток в микроспороциты (рис. 8, 1) или в начале мейоза (рис. 8, 2; 9, 1, 2) происходят дополнительные (формирующие) периклиналильные деления во всех слоях, кроме эпидермы. Делятся клетки среднего слоя, иногда эндотеция и тапетума. Устанавливается окончательное число слоев микроспорангия. Сформированная стенка микроспорангия у исследованных видов состоит из 5 слоев клеток — эпидермы, эндотеция, 2 средних слоев и тапетума. Тапетум и эндотеций могут быть нерегулярно 2-слойными. Латеральные и, главным образом, проксимальная части стенки микроспорангия становятся 4–5-слойными (рис. 8, 1, 2; 9, 1–3). Таким образом, на отдельных этапах развития стенка микроспорангия может быть 6–7-слойной.

Затем во время микроспорогенеза и формирования пыльцевых зерен происходят преобразования слоев стенки микроспорангия. Рассмотрим

подробно характеристику каждого слоя стенки микроспорангия.

На стадии микроспороцитов клетки **эпидермального слоя** линзовидные, с крупным ядром и плотной цитоплазмой. Затем они принимают прямоугольную форму с закругленными углами. Клетки теряют содержимое и становятся сильно вакуолизированными. 2–3 клетки этого слоя в области стомиума отличаются меньшими размерами. У обоих изученных видов по периферии эпидермальных клеток на границе цитоплазмы и вакуоли накапливаются танины, за исключением клеток, которые формируют стомиум (рис. 8, 2, 3; 9, 2–4; 10, 1, 2, 3a; 11, 1a, 2, 3).

Вытянутые клетки **эндотеция** постепенно увеличиваются в радиальном направлении. У *A. balsamiferum* этот процесс становится заметным после стадии тетрад микроспор, особенно к началу деления отдельных микроспор (рис. 8, 3; 10, 1, 2a), тогда как у *A. ciliatum* — лишь в период созревания пыльцевых зерен (рис. 11, 2, 3). Стенки клеток эндотеция к моменту созревания пыльника приобретают неравномерно утолщенные фиброзные утолщения (рис. 10, 3; 11, 2, 3). Только 1–2 клетки эндотеция, входящие в состав стомиума, остаются меньших размеров и без фиброзных утолщений (рис. 11, 3). Ранее нами был отмечен особый случай образования кольцевидного фиброзного слоя с внутренней стороны связника в нижней области, где нет срастания пыльника и тычиночной нити (рис. 3, 5; 4, 4), при этом хорошо видно, что внутреннее кольцо контактирует с наружным слоем эндотеция. Клетки, соединяющие наружный и внутренний эндотеций, располагаются тяжами и имеют фиброзные утолщения.

Средние слои состоят из небольших узких клеток. Обычно их 2, иногда может 3 (рис. 8, 2; 9, 3). В ходе развития они постепенно вытягиваются, и к моменту формирования пыльцевых зерен их остатки представлены в виде темноокрашенных ступцов (рис. 8, 3; 9, 3; 10, 1, 2a, 3; 11, 1a, 2, 3). В некоторых пыльниках клетки сохраняются до вскрывания тек. Обычно такие клетки, бедные цитоплазмой, обнаруживаются со стороны связника.

Тапетум. Существующие определения типов и форм тапетума крайне противоречивы (обзор проблемы см. Shamrov et al., 2021). Особенно сложное положение обстоит с одним из распространенных типов тапетума, который часто называют секреторным (клеточным). Такой тип тапетума описан у исследованных видов, и мы будем называть его париетальным, как это предложено в упомянутом исследовании.

Тапетум у обоих видов гетероморфный, что связано как с происхождением, так и положением

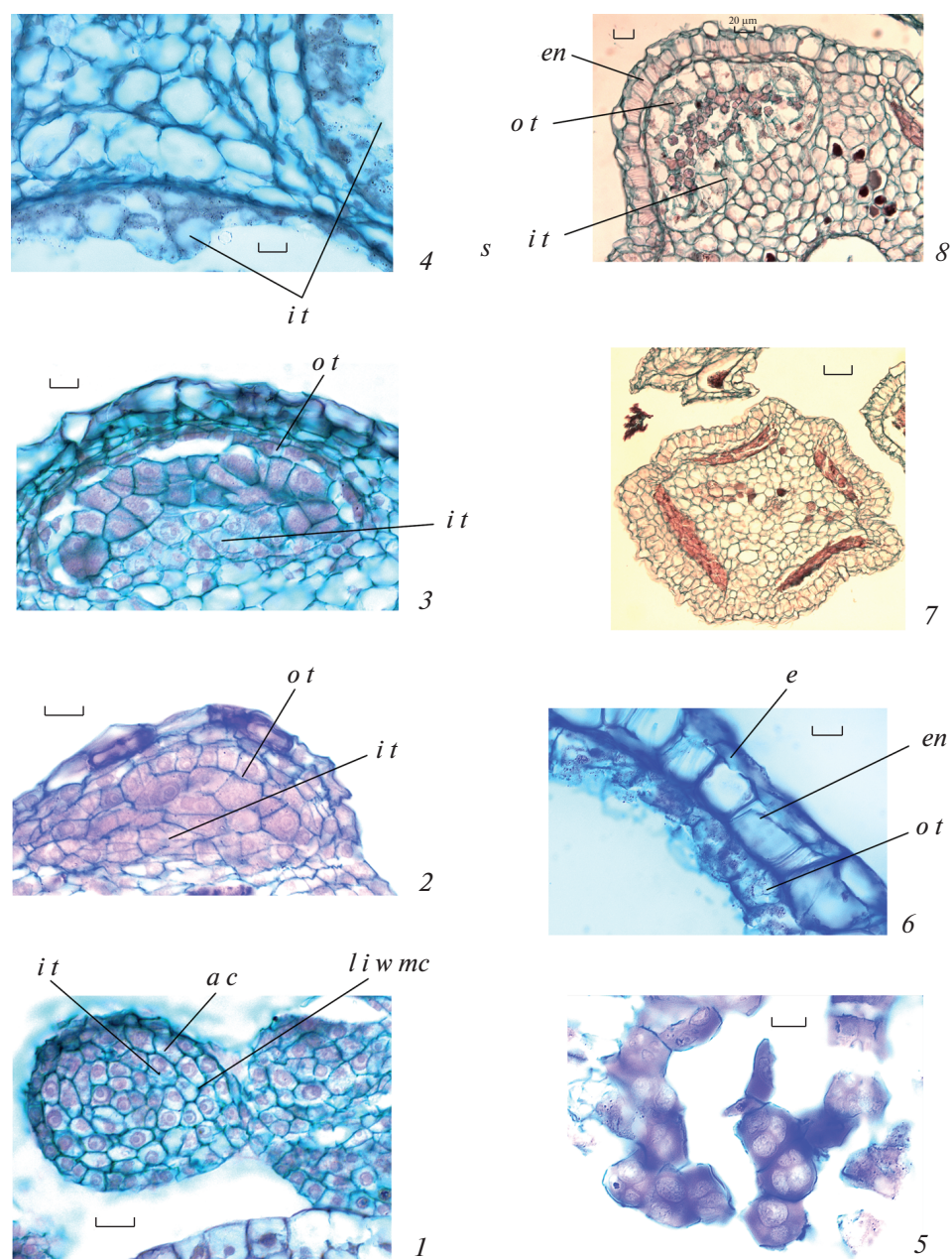


Рис. 5. Стадии развития пыльника у *Aeonium balsamiferum* (1, 3, 5–8) и *A. ciliatum* (2, 4) (поперечные срезы).

1 – буторок пыльника, деления инициалей микроспорангия, образование клеток внутреннего тапетума, археспория и инициалей латеральных частей стенки; 2, 3 – сформированная стенка микроспорангия, клетки тапетума с внутренней и наружной сторон стенки различаются; 4 – строение клеток внутреннего тапетума на стадии тетрад микроспор; 5 – тетраэдральные тетрады микроспор; 6 – стенка микроспорангия с наружной стороны на стадии одиночных микроспор; 7, 8 – аномалии в развитии пыльника во время микроспорогенеза, в клетках эндотеция уже сформировались фиброзные утолщения, в тапетуме наблюдается разрастание и образование крупных клеток во всех областях. *ac* – археспориальная клетка, *e* – эпидерма, *en* – эндотеций, *it* – внутренний тапетум, *li w mc* – инициали латеральной части стенки микроспорангия, *ot* – наружный тапетум. Масштабная линейка, мкм: 1–6 – 10, 7–50, 8 – 20.

Fig. 5. Anther formation in *Aeonium balsamiferum* (1, 3, 5–8) and *A. ciliatum* (2, 4) (transverse sections).

1 – anther primordium, divisions of the microsporangium initials, formation of cells of the inner tapetum, archesporium and the initials of the lateral parts of the wall; 2, 3 – formed microsporangium wall, the cells of the tapetum on the inner and outer sides of the wall are different; 4 – cell structure of the inner tapetum at the stage of microspore tetrads; 5 – tetrahedral tetrads of microspores; 6 – wall of microsporangium from the outside at the stage of free microspores; 7, 8 – abnormalities in the anther development during microsporogenesis, fibrous thickenings have already formed in the endothecium cells, growth and formation of large cells in all areas in the tapetum are observed. *ac* – archesporial cell, *e* – epiderm, *en* – endothecium, *it* – inner tapetum, *li w mc* – lateral initials of microsporangium wall, *ot* – outer tapetum. Scale bars, μm : 1–6 – 10, 7–50, 8 – 20.

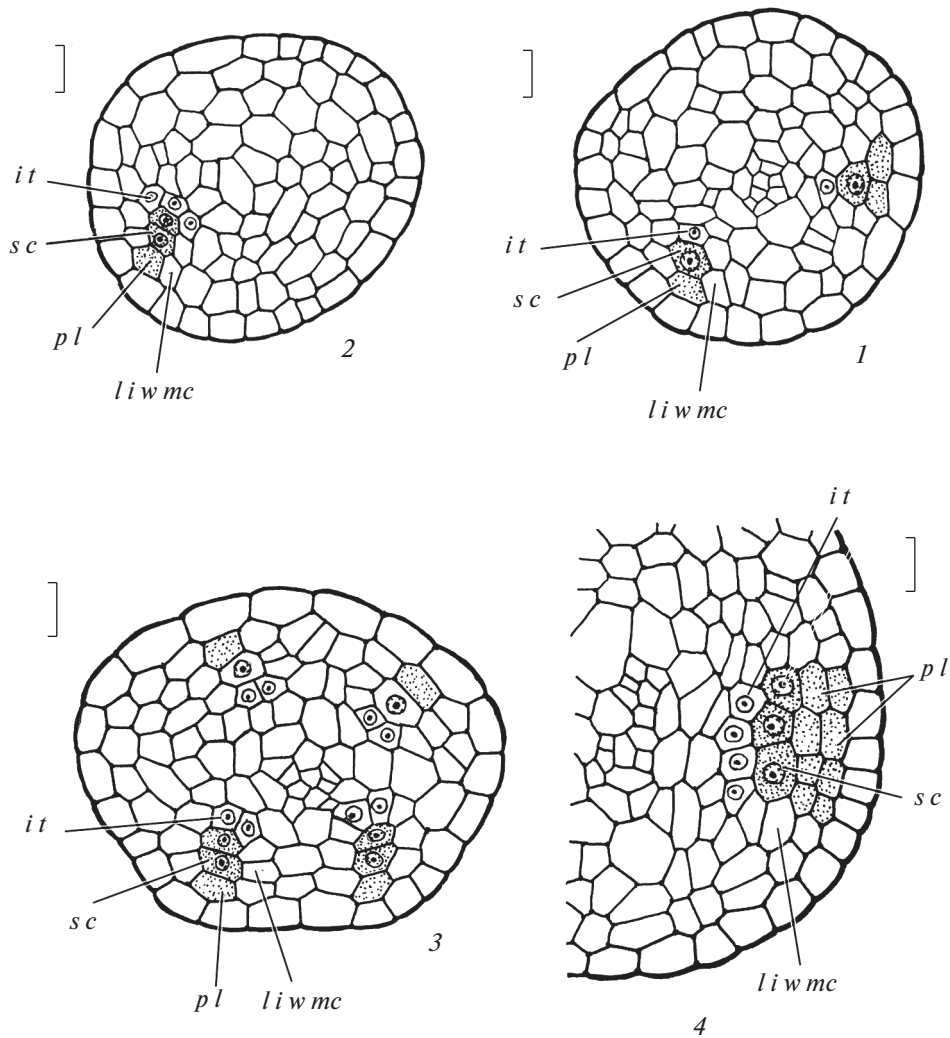


Рис. 6. Формирование пыльника в премейотический период развития у *Aeonium balsamiferum* (поперечные срезы).

1–3 – начальные стадии формирования стенки микроспорангия: деления центральной и латеральных инициалей микроспорангия, образование единого слоя вокруг спорогенных клеток, дифференциация внутреннего тапетума и парietальных слоев; 4 – образование двух парietальных слоев. *it* – внутренний тапетум, *liwmc* – инициали латеральной части стенки микроспорангия, *pl* – парietальный слой, *sc* – спорогенная клетка. Масштабная линейка, мкм – 10.

Fig. 6. Anther formation during premeiotic period of development in *Aeonium balsamiferum* (transverse sections).

1–3 – early stages of microsporangium wall formation: dividing central and lateral initials of the microsporangium, arising of unite layer around sporogenous cells, differentiation of inner tapetum and parietal layers; 4 – formation of two parietal layers. *it* – inner tapetum, *liwmc* – lateral initials of microsporangium wall, *pl* – parietal layer, *sc* – sporogenous cell. Scale bar, μm – 10.

в стенке микроспорангия. Внутренний тапетум дифференцируется первым и образуется из клеток, которые возникают при делении центральных инициалей микроспорангия. Следующими появляются клетки латеральных областей тапетума, которые формируются из латеральных инициалей микроспорангия. Последними дифференцируются клетки наружного тапетума из клеток внутреннего парietального слоя.

У обоих видов клетки тапетума до мейоза вытянутые (рис. 8, 2; 9, 2, 3). Но уже с началом мик-

роспорогенеза хорошо видно, что у обоих видов наружный тапетум однослойный с одноядерными у *A. ciliatum* (рис. 9, 3) и 2-ядерными у *A. balsamiferum* клетками (рис. 8, 2). В дальнейшем эта тенденция сохраняется (рис. 9, 4; 11, 1a; 8, 3; 10, 1, 2). Следует отметить, что размер клеток увеличивается почти в 2 раза. Внутренний тапетум обычно 2–3-слойный на ранних стадиях развития (рис. 8, 2; 9, 2, 3). Но после стадии тетрад микроспор обычно наблюдается 1-слойный, редко нерегулярно 2-слойный тапетум, при этом его клетки сильно увеличиваются в размерах, особенно у

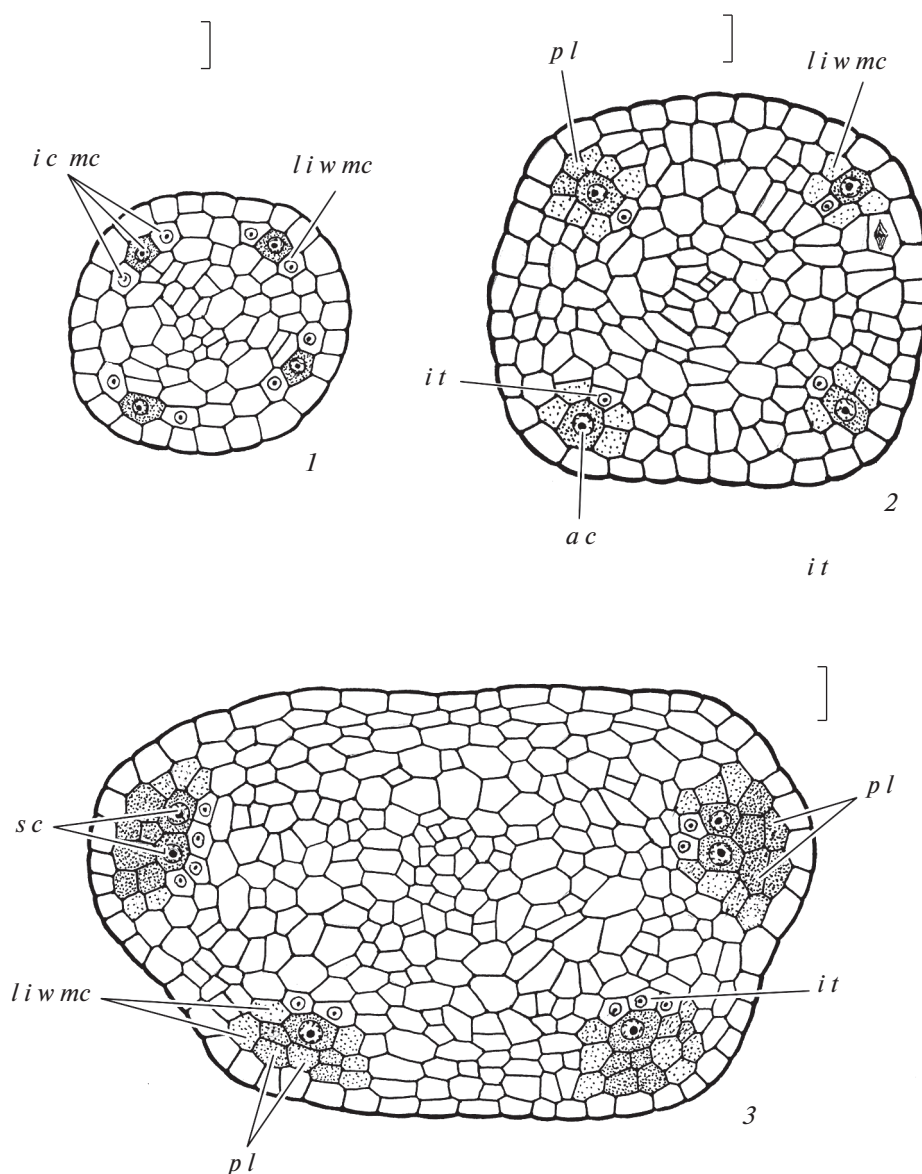


Рис. 7. Формирование пыльника в премейотический период развития у *Aeonium ciliatum* (поперечные срезы).

1 – бугорок пыльника, дифференциация инициалей микроспорангия; 2 – начальные стадии формирования стенки микроспорангия, образование археспориальных клеток, инициалей внутреннего тапетума и латеральных частей стенки; 3 – образование единого слоя вокруг спорогенных клеток, дифференциация внутреннего тапетума и парietальных слоев. *ac* – археспориальная клетка, *icmc* – инициальные клетки микроспорангия, *it* – внутренний тапетум, *liwmc* – инициали латеральной части стенки микроспорангия, *pl* – парietальный слой, *sc* – спорогенная клетка. Масштабная линейка, мкм – 10.

Fig. 7. Anther formation during premeiotic period of development in *Aeonium ciliatum* (transverse sections).

1 – anther primordium, differentiation of microsporangium initial cells; 2 – early stages of microsporangium wall formation, forming archesporial cells, initials of inner tapetum and lateral parts of wall; 3 – arising of unite layer around sporogenous cells, differentiation of inner tapetum and parietal layers. *ac* – archesporial cell, *icmc* – initial cells of microsporangium, *it* – inner tapetum, *liwmc* – lateral initials of microsporangium wall, *pl* – parietal layer, *sc* – sporogenous cell. Scale bar, μm – 10.

A. balsamiferum – в 3–4 раза, напоминая по строению папилловидные. Уменьшение числа слоев клеток внутреннего тапетума, возможно, связано с тем, что дополнительные потенциальные слои преобразуются не в клетки тапетума, а в клетки

средних слоев. Но оставшиеся клетки тапетума продолжают активно функционировать, вследствие чего они сильно увеличиваются в размерах.

У *A. ciliatum* клетки тапетума одноядерные, а у *A. balsamiferum* – 1–2-ядерные (рис. 5, 4; 10, 1, 2b).

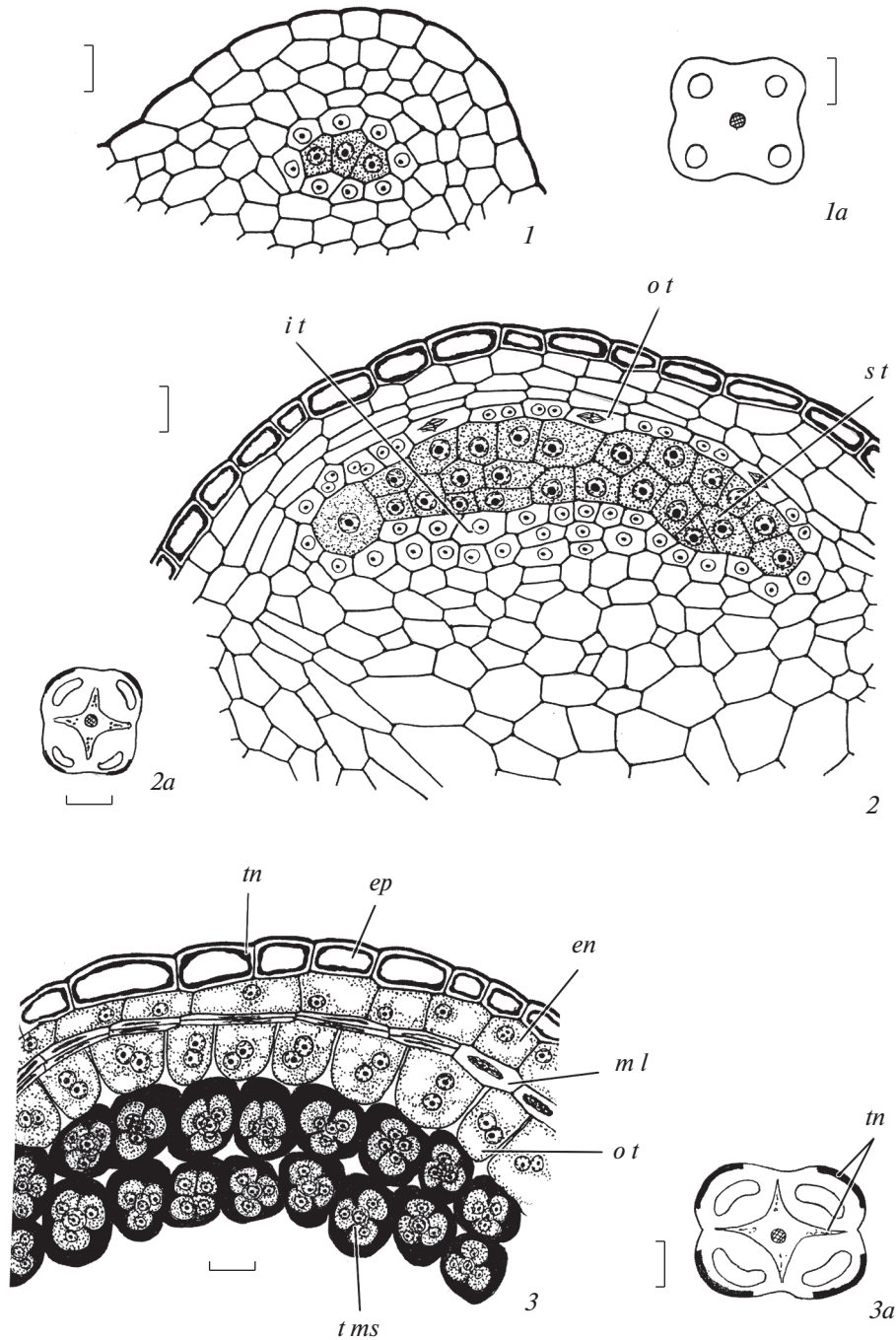


Рис. 8. Заключительные стадии формирования стенки микроспорангия в мейотический период у *Aeonium balsamiferum* (поперечные срезы).

1, 2 – формирующие деления в слоях стенки микроспорангия, по периферии клеток эпидермы начинается отложение танинов, видны различия в строении тапетума; 3 – стенка микроспорангия на стадии тетрад микроспор, произошло разрушение стенок между клетками тапетума, также разрушаются клетки средних слоев. 1а–3а – схемы пыльника. *en* – эндотеций, *ep* – эпидерма, *it* – внутренний тапетум, *ml* – средний слой, *ot* – наружный тапетум, *st* – спорогенная ткань, *tms* – тетрада микроспор, *tn* – танины. Масштабная линейка, мкм: 1–3 – 10, 1а – 50, 2а – 20, 3а – 100.

Fig. 8. Last stages of microsporangium wall formation during meiotic period in *Aeonium balsamiferum* (transverse sections).

1, 2 – forming divisions in the layers of the microsporangium wall, deposition of tannins begins along the periphery of epidermal cells, differences in the tapetum structure are visible; 3 – the microsporangium wall at the stage of microspore tetrads, the walls between the tapetum cells were destroyed, the cells of the middle layers were also destroyed. 1a–3a – anther schemes. *en* – endothecium, *ep* – epiderm, *it* – inner tapetum, *ml* – middle layer, *ot* – outer tapetum, *st* – sporogenous tissue, *tms* – tetrad of microspores, *tn* – tannins. Scale bars, μm : 1–3 – 10, 1a – 50, 2a – 20, 3a – 100.

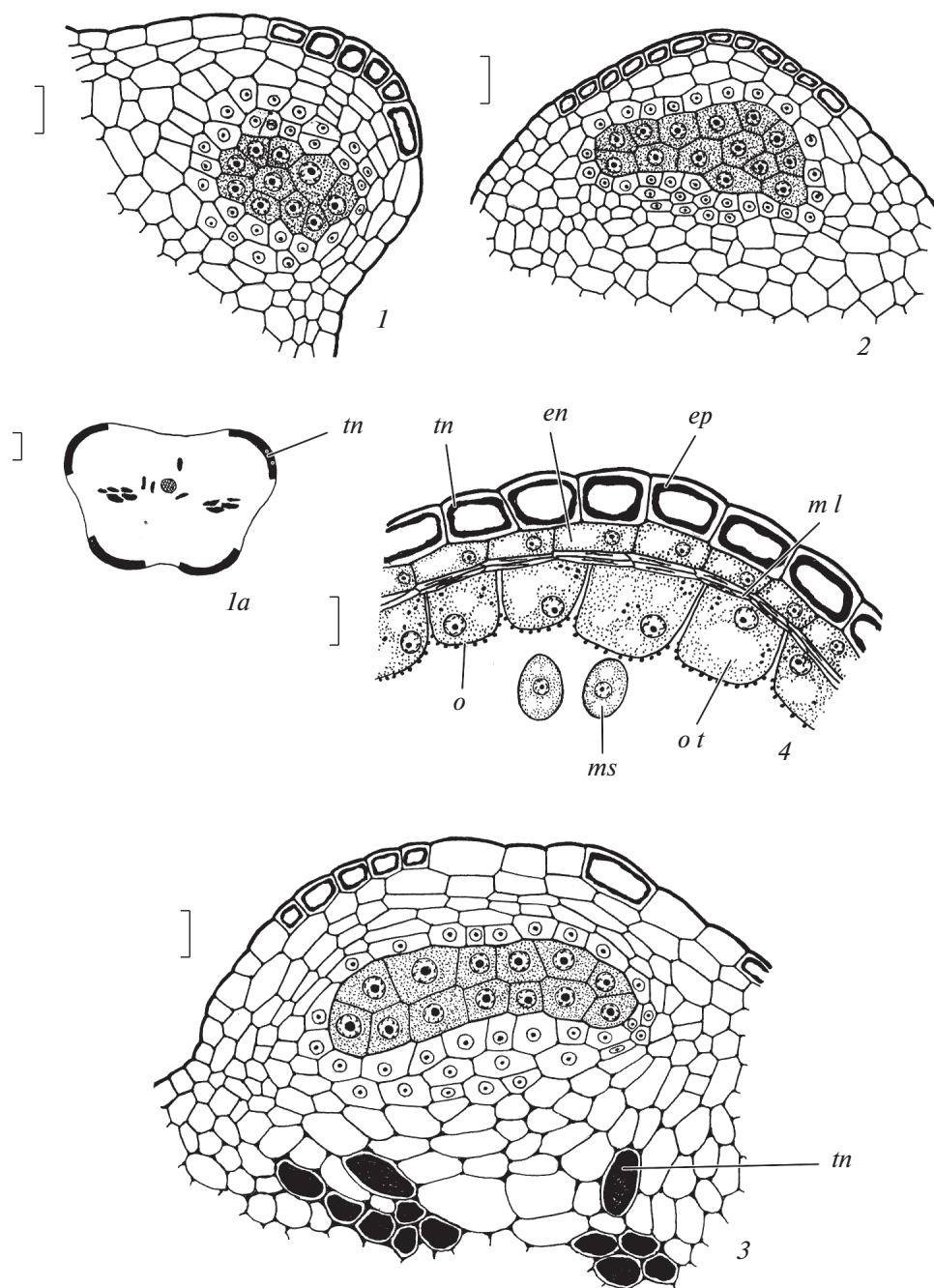


Рис. 9. Заключительные стадии формирования стенки микроспорангия в премейотический (1, 2), мейотический (3) и в начале постмейотического (4) периодов у *Aeonium ciliatum* (поперечные срезы).

1–3 – формирующие деления в слоях стенки микроспорангия, по периферии клеток эпидермы начинается отложение танинов, видны различия в строении тапетума; 4 – стенка микроспорангия на стадии одиночных микроспор, произошло разрушение стенок между клетками тапетума, также разрушаются клетки средних слоев, на внутренних мембранах тапетума орбикулы. 1а–3а – схемы пыльника. *en* – эндотеций, *ep* – эпидерма, *ml* – средний слой, *ms* – микроспора, *o* – орбикулы, *ot* – наружный тапетум, *tn* – танины. Масштабная линейка, мкм: 1–4 – 10, 1а – 20.

Fig. 9. Last stages of microsporangium wall formation during premeiotic (1, 2), meiotic (3) and beginning of postmeiotic (4) periods in *Aeonium ciliatum* (transverse sections).

1–3 – forming divisions in the layers of the microsporangium wall, deposition of tannins begins along the periphery of epidermal cells, differences in the tapetum structure are visible; 4 – the microsporangium wall at the stage of single microspores, the walls between the tapetum cells were destroyed, the cells of the middle layers were also destroyed, the orbicules are formed at inner membranes of tapetum. 1a–3a – anther schemes. *en* – endothecium, *ep* – epiderm, *ml* – middle layer, *ms* – microspore, *o* – orbicules, *ot* – outer tapetum, *tn* – tannins. Scale bars, μm : 1–4 – 10, 1a – 20.

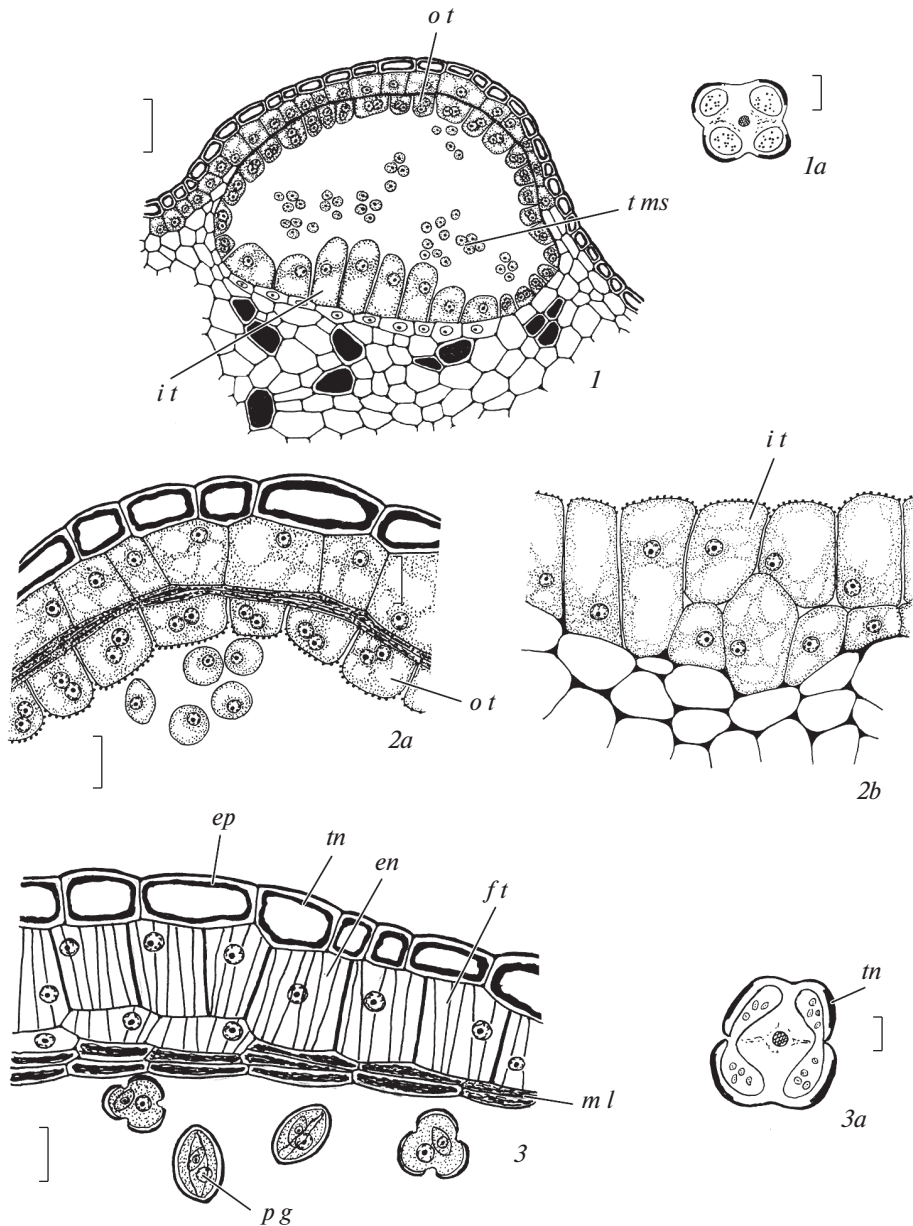


Рис. 10. Развитие пыльника в постмейотический период у *Aeonium balsamiferum* (поперечные срезы).

1 – стенка микроспорангия на стадии распада тетрад микроспор, видны различия в строении тапетума; 2a, 2b – стенка микроспорангия на стадии микроспор перед делением, видны различия в строении тапетума; 3 – стенка микроспорангия перед вскрыванием тек; 1a, 3a – схемы пыльника. en – эндотеций, ep – эпидерма, ft – фиброзные утолщения, it – внутренний тапетум, ml – средний слой, ot – наружный тапетум, pg – пыльцевое зерно, tms – тетрада микроспор, tn – танины. Масштабная линейка, мкм – 20.

Fig. 10. Anther development during postmeiotic period in *Aeonium balsamiferum* (transverse sections).

1 – microsporangium wall at the stage of disintegration of microspore tetrads, differences in the tapetum structure are visible; 2a, 2b – microsporangium wall at the stage of microspores before division, differences in the tapetum structure are visible; 3 – microsporangium wall before dehiscence of thecae; 1a, 3a – schemes of anther. en – endothecium, ep – epiderm, ft – fibrous thickenings, it – inner tapetum, ml – middle layer, ot – outer tapetum, pg – pollen grain, tms – tetrad of microspores, tn – tannins. Scale bars, μm – 20.

Клетки тапетума сначала характеризуются плотной цитоплазмой, но затем происходит их вакуолизация. У обоих видов клетками тапетума на поздних стадиях развития выделяются глобулы полленкита (рис. 5, 4, 6; 9, 4; 11, 1a).

У изученных видов тапетум в премейотическом и мейотическом периодах характеризуется клеточной структурой. Однако уже на стадиях тетрад микроспор у *A. balsamiferum* (рис. 8, 3) или одиночных микроспор у *A. ciliatum* (рис. 9, 4)

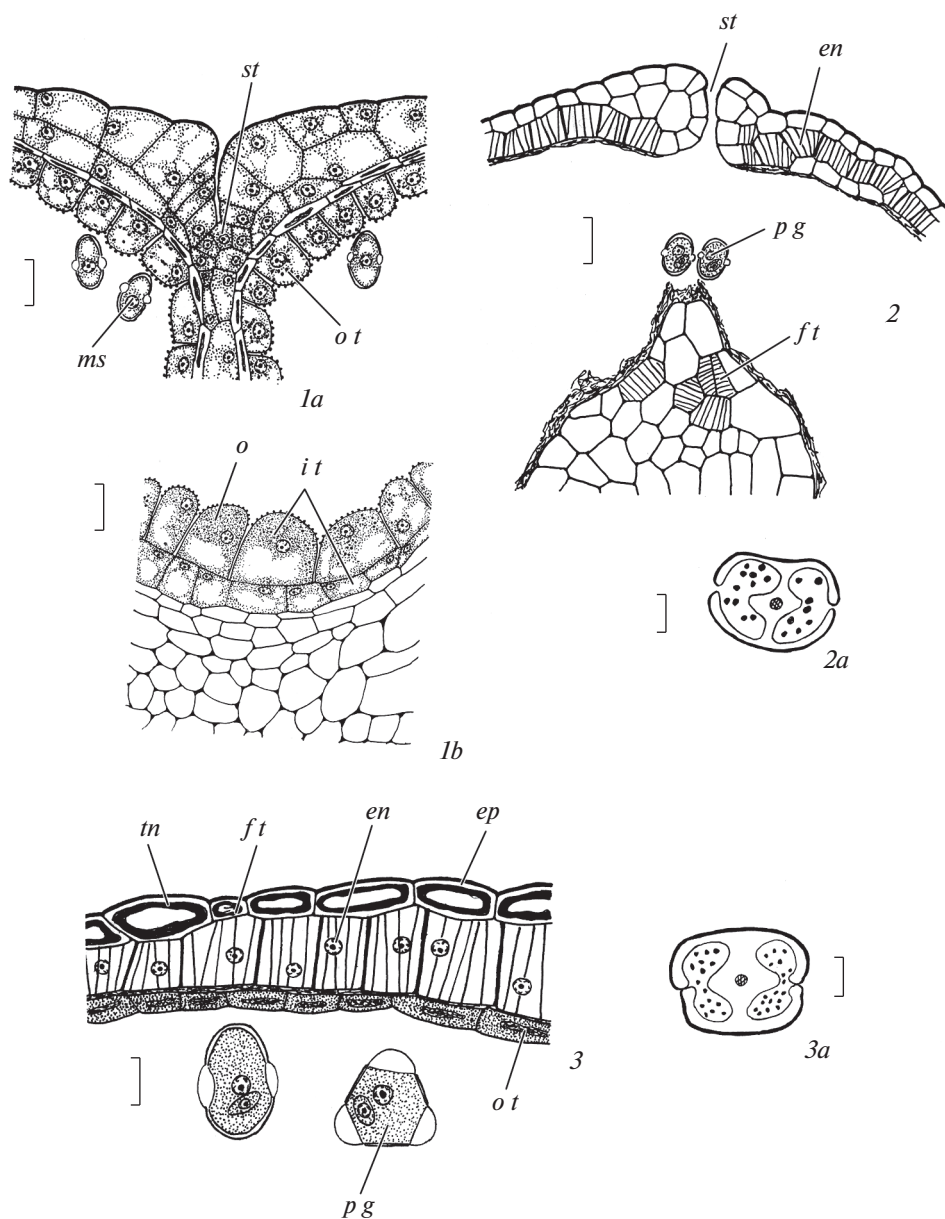


Рис. 11. Развитие пыльника в постмейотический период у *Aeonium ciliatum* (поперечные срезы).

1a, 1b – стенка микроспорангия на стадии микроспор перед делением (*1a*) и во время формирования 2-клеточных пыльцевых зерен (*3*), видны различия в строении тапетума, *2* – стенка микроспорангия перед вскрытием теки; *3* – вскрытие теки; *2a, 3a* – схемы пыльника. *en* – эндотеций, *ep* – эпидерма, *ft* – фиброзные утолщения, *it* – внутренний тапетум, *ms* – микроспора, *o* – орбикулы, *ot* – наружный тапетум, *pg* – пыльцевое зерно, *st* – стомиум, *tn* – танины. Масштабная линейка, мкм: *1a, 1b* – 10, *2, 3* – 20, *2a, 3a* – 200.

Fig. 11. Anther development during postmeiotic period in *Aeonium ciliatum* (transverse sections).

1a, 1b – microsporangium wall at the stage of microspores before division, and during 2-celled pollen grain formation (*3*), differences in the tapetum structure are visible; *2* – microsporangium wall before dehiscence of theca; *3* – dehiscence of theca. *2a, 3a* – schemes of anther. *en* – endothecium, *ep* – epiderm, *ft* – fibrous thickenings, *it* – inner tapetum, *ms* – microspore, *o* – orbicules, *ot* – outer tapetum, *pg* – pollen grain, *st* – stomium, *tn* – tannins. Scale bars, μm – 20.

стенки между клетками тапетума начинают разрушаться. Следует отметить, что процесс исчезновения клеточных стенок сопровождается выпячиванием образующихся протопластов внутрь полости микроспорангия, а на внутренних тапе-

тальных мембранах начинают выявляться орбикулы (рис. 5, 4, 6; 8, 3; 9, 4; 10, 1). У обоих видов протопласты сохраняются по краю полости микроспорангия, где разрушаются, причем их остатки с ядрами сохраняются почти до созревания

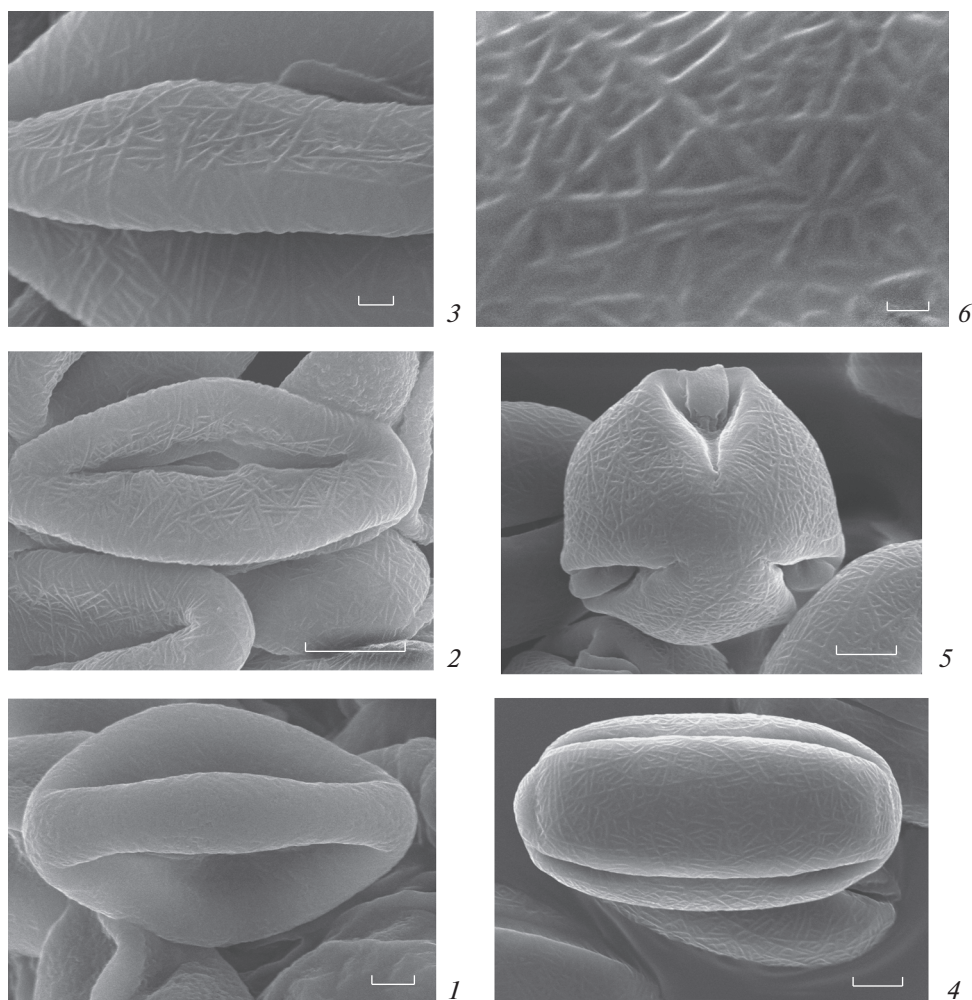


Рис. 12. Строение 3-бороздно-орových пыльцевых зерен у *Aeonium balsamiferum* (1–3) и *A. ciliatum* (4–6). 1, 2, 4, 5 – вид пыльцевых зерен; 3, 6 – поверхность пыльцевого зерна. Масштабная линейка, мкм: 1 – 2, 2, 4, 5 – 5, 3, 6 – 1.

Fig. 12. Structure of 3-colporate pollen grains in *Aeonium balsamiferum* (1–3) and *A. ciliatum* (4–6). 1, 2, 4, 5 – view of pollen grains; 3, 6 – surface of pollen grain. Scale bars, μm : 1 – 2, 2, 4, 5 – 5, 3, 6 – 1.

пыльника. Протопласты постепенно уменьшаются в размерах, а их содержимое лизирует. Таким образом, у обоих изученных видов выявлена вариация 2 парietального типа – амебоидный тапетум (Shamgov et al., 2019, 2021).

На стадии формирования тетрад микроспор выявлены аномалии в строении пыльника. Выявлены случаи, когда в клетках эндотеция преждевременно были сформированы фиброзные утолщения, а в тапетуме происходило разрастание и образование крупных клеток во всех его областях (рис. 5, 7, 8).

Вскрытие пыльника. Мы уже отмечали, что у обоих видов в апикальной части пыльника формируется клювовидная структура, напоминающая стомиум. У *A. balsamiferum* ей предшествует образование группы густоплазменных клеток

(рис. 2, 2), которые затем разрушаются и образуется полость, объединяющая пространства обеих тек с пыльцой (рис. 2, 3, 4). Возникает пора через которую, как и через стомиум, высыпается пыльца. Перед открыванием края поры лишь сомкнуты, а в окружающих клетках эндотеция обнаруживаются фиброзные утолщения (рис. 2, 5). Пора вскрывается подобно стомиуму (рис. 2, 4). У *A. ciliatum* клетки связника между теками сохраняются, при этом полость не образуется, теки остаются свободными и пора не формируется. Поэтому пыльник у этого вида вскрывается только в области стомиума (рис. 3, 2–5, 8; 4, 3, 4).

Второй особенностью пыльника является необычное строение связника. Его форма характеризуется 4 лучами, между которыми находятся микроспорангии. У *A. ciliatum* последние имеют

округлую форму и, соответственно, септа между микроспорангиями тек оказывается протяженной (рис. 3, 4–6). У *A. balsamiferum* микроспорангии овально-продолговатые, а септа оказывается очень короткой (рис. 4, 2–4).

Вскрываются пыльники продольными щелями, лартрозно. Вскрытие — 2-фазное. Сначала разрушается перегородка между смежными гнездами, а также группа мелких клеток, входящих в стомиум (рис. 3, 4; 4, 3, 4; 11, 1a). С наружной стороны в области стомиума в клетках эндотеция не формируются фиброзные утолщения. Нижние части клеток эндотеция плотно смыкаются и, возможно, слипаются (рис. 3, 4; 4, 3, 6; 10, 3). Затем происходит обезвоживание клеток эндотеция и их сжатие, подобно пружине, в результате укорачивания фиброзных утолщений. За счет этого уменьшаются размеры клеток эндотеция, которые в области стомиума отрываются друг от друга. Прохождение обеих фаз приводит к вскрытию тек пыльника (рис. 11, 2, 3, 3a), при этом вся стенка микроспорангия раскрывается наружу под углом 90° относительно щели теки (рис. 3, 8).

Тетрады микроспор и пыльцевые зерна. Спорогенная ткань многослойная и располагается 2–3 рядами клеток (рис. 9, 3). У *A. balsamiferum* наблюдали образование 3 тяжей, при этом деления происходили со стороны внутреннего тапетума. Клетки двух внутренних возникающих тяжей спорогенных клеток позже становятся микроспорами и, соответственно, позже вступают в мейоз (рис. 8, 2). Специально микроспорогенез и формирование пыльцевого зерна у изученных видов не рассматривались. Они происходят, как у большинства представителей сем. Crassulaceae. В результате мейоза и последующих процессов цитокинеза (микроспорогенез симультанный) образуются преимущественно тетраэдральные тетрады гаплоидных микроспор (рис. 5, 5; 8, 3). Каждая микроспора и тетрада в целом окружены каллозой, которая постепенно резорбируется, а тетрады распадаются на отдельные микроспоры (рис. 10, 1). Вскоре микроспоры делятся и формируются 2 клеточные пыльцевые зерна (рис. 10, 3; 11, 2).

Зрелые пыльцевые зерна изученных видов 3-бороздно-оровые, эллипсоидальные; в очертании с полюса 3-лопастные, с экватора эллиптические, с закругленными полюсами (рис. 12, 1–4). Мезокольпумы пыльцы ромбические, реже эллиптические (рис. 12, 5). Пыльца небольших размеров, с полярной осью около 20–25 мкм. Апертуры сложные, состоят из внешней меридионально ориентированной борозды и внутренней экваториально расположенной оры. Борозды (экзоапертуры) длинные, глубокие, широкие, сужающиеся к полюсам, со слегка закругленными концами и более или менее ровными краями. Оры

(эндоапертуры) у пыльцы большинства исследованных видов с нечеткими, часто неровными краями. Они небольшие, располагаются в центре борозд и не заходят за их границы. Скульптура струйчатая (рис. 12, 6). С помощью электронного сканирующего микроскопа видно, что длина и ширина струй различаются, а их переплетения в разных направлениях образуют небольшие локальные углубления и возвышения. Наблюдались стерильные пыльцевые зерна, которые были меньших размеров, бедны цитоплазмой и часто деформированы.

ОБСУЖДЕНИЕ

Впервые изучены морфогенез андроеца, а также развитие и строение стенки пыльника у *Aeonium balsamiferum* и *A. ciliatum*. Полученные нами данные дополняют эмбриологическую характеристику сем. Crassulaceae (Nikiticheva, 1985; Kamelina, 2009; Anisimova, 2016, 2020). Кроме того, нам удалось проследить самые ранние стадии развития микроспорангия еще до дифференциации археспория. Мы подтвердили имеющуюся точку зрения (Shamrov, 2008; Shamrov et al., 2019, 2020), согласно которой в субэпидермальном слое развивающегося пыльника дифференцируется группа инициальных клеток (центральная и латеральные), которые образуют как слои стенки микроспорангия, так и сам археспорий, а затем париетальные и спорогенные клетки. У видов сем. Crassulaceae способ формирования стенки микроспорангия из клеток париетального слоя с наружной стороны обычно определяют как тип двудольных (Nikiticheva, 1985; Kamelina, 2009), согласно представлениям Davis (1966), или центробежный тип, типовая вариация (Teryokhin et al., 2002). Поскольку у изученных нами видов во всех слоях стенки микроспорангия происходят дополнительные деления, приводящие к увеличению их числа, то тип формирования следует определять как центробежный, компликатная вариация (Shamrov et al., 2019, 2020).

Исследование позволило выявить сходство и различия в развитии и строении пыльника у *A. balsamiferum* и *A. ciliatum*. Черты сходства: 4-гнездный изобилатеральный (на поперечном срезе) пыльник с надсвязником и 4-лучевым связником, стенка микроспорангия с дистальной стороны формируется по типу двудольных, сформированная стенка микроспорангия состоит из пяти слоев клеток (эпидермы, эндотеция, двух средних слоев и париетального тапетума), микроспорогенез — симультанный, тетрады микроспор — тетраэдральные, пыльцевые зерна — 2-клеточные. За счет дополнительных периклинальных делений клеток тапетум и эндотеций могут быть нерегулярно 2-слойными, а число средних слоев

может достигать 3. Таким образом, на отдельных этапах развития стенка микроспорангия может быть 6–7-слойной. В клетках эпидермы с дистальной стороны стенки микроспорангия по периферии большой вакуоли накапливаются танины. У обоих изученных видов выявлена вариация 2 париетального типа (амебоидный тапетум) и кольцевидный фиброзный слой с внутренней стороны связника в нижней области, где нет сращения пыльника и тычиночной нити.

Наше исследование подтвердило результаты других авторов о поразительном однообразии и стабильности признаков морфологии пыльцы в сем. Crassulaceae (Hart, 1974; Sin et al., 2002; Grigorieva, Britski, 2001; Goncharova, 2006). Пыльцевые зерна исследованных нами видов из родов *Aeonium*, *Kalanchoe* и *Sedum* однотипны по строению и являются 3-бороздно-оровыми.

Различия между видами касаются строения соцветия и цветка. У *A. balsamiferum* цимозные соцветия представлены сложными монохазиями и дихазиями, а у *A. ciliatum* преимущественно сложными дихазиями. Андроцей чаще всего состоит из 16 или 18 тычинок у *A. balsamiferum* и 14 тычинок у *A. ciliatum*. У последнего вида на поверхности тычинки формируются железистые волоски. Микроспорангии у *A. ciliatum* имеют округлую форму, а у *A. balsamiferum* овально-продолговатую. Вследствие этого септа между микроспорангиями тек оказывается протяженной у *A. ciliatum* и очень короткой у *A. balsamiferum*. И хотя вскрывание тек пыльника у обоих видов является септицидным, у *A. balsamiferum* оно приближается к асептицидному, поскольку стомиум находится почти рядом со связником (Zhinkina, Evdokimova, Shamrov, 2022). Следует подчеркнуть, что у последнего вида пыльца может высыпаться как через стомиум, так и через апикальную пору (этот феномен обнаружен нами впервые у представителей сем. Crassulaceae), причем оба способа вскрывания тек осуществляются одновременно, что свидетельствует, вероятно, о большей специализации пыльника *A. balsamiferum* к опылению. Из других черт различий следует обратить внимание на особенности строения тапетума. Хотя наружный тапетум у обоих видов однослойный, его клетки одноядерные у *A. ciliatum* и 2-ядерные у *A. balsamiferum*. Внутренний тапетум обычно 1-слойный, редко нерегулярно 2-слойный тапетум, при этом его клетки увеличиваются в размерах в 2 раза у *A. ciliatum* и 3–4 раза у *A. balsamiferum* (у последнего напоминают по строению папиллоподобные клетки).

Данные сравнительно-эмбриологических и морфолого-анатомических исследований могут оказаться полезными для понимания эволюции структурных признаков тычинки, пыльника, ги-

нецея и семязачатка в сем. Crassulaceae. Однако вопросы их использования определяются не только слабой изученностью большинства видов, но и неоднозначностью трактовки полученных молекулярно-генетических данных и их значительным несоответствием классическим системам родов этого семейства. Как уже отмечалось, ранее мы изучили развитие пыльника, семязачатка и гинецея у некоторых видов *Kalanchoe* и *Sedum*. Подведем промежуточный итог о значении полученных признаков для целей систематики и филогении.

При рестриктазном анализе ДНК хлоропластов (ген *mat K*) в сем. Crassulaceae выделяются 7 клад, среди которых особенно спорным является положение клад *Aeonium*, *Crassula*, *Kalanchoe* (Mort et al., 2010). Положение клад на древе семейства (от базальных до продвинутых) несколько различается по представлениям разных авторов: *Crassula*, *Telephium*, *Sempervivum*, *Leucosedum*, *Acre*, *Aeonium*, *Kalanchoe* (Mort et al., 2010; по данным Mort et al., 2001 и Ham, t'Hart, 1998) и *Crassula*, *Kalanchoe*, *Telephium*, *Sempervivum*, *Aeonium*, *Leucosedum* и *Acre* (Nikulin, Goncharov, 2017). Таким образом, изменилось положение клад *Aeonium*, особенно кардинально клад *Kalanchoe* – перенос клад из основания в верхнюю часть древа семейства. Клада *Crassula* в обеих системах занимает базальное положение.

На основании анализа последовательностей ITS рДНК подтверждена монофилия рода *Kalanchoe* и выявлены три основные линии развития (Goncharova, Goncharov, 2009). Полученные нами данные не противоречат имеющимся кладистическим построениям. Изученные виды *Kalanchoe laxiflora*, *K. tubiflora* мало отличаются друг от друга. Имеются некоторые количественные различия, но они не относятся к категории альтернативных, характеризующих разные линии рода: *K. tubiflora* – 2-слойные наружный интегумент и париетальная ткань, 2–3-слойный нуцеллярный колпачок, лишь в отдельных клетках семязачатка накапливаются танины; *K. laxiflora* – 3-слойные наружный и внутренний (последний только в основании) интегументы, 3-слойная париетальная ткань, 3–4-слойный нуцеллярный колпачок, в клетках наружной эпидермы наружного интегумента накапливаются танины. Ранее также не были выявлены существенные различия в строении мужских репродуктивных структур у видов *Kalanchoe*. Они касаются локализации танинов в клетках эпидермы и эндотеция стенки микроспорангия. У *K. laxiflora*, *K. tubiflora* и *K. rosei* Raym.-Hamet et H. Perrier танины обнаружены только в некоторых клетках эндотеция. У *K. nyikae* Engl.

они накапливаются как в клетках эндотелия, так и преимущественно в клетках эпидермы (Anisimova, 2016).

Филогенетическая структура *Sedum* остается также слабо изученной. Большинство его видов относятся к трибе *Sedeeae*, находясь между кладами *Leucosedum* и *Acre* (в последнюю помещен *S. palmeri* S. Watson) (Nikulin, 2017). *S. kamtschaticum* Fisch. (= *Phedicus kamtschaticus* (Fisch.) t'Hart) был отнесен к другой кладе *Telephium* (Ham, 1995). При изучении пыльника было показано, что различия между этими видами касаются, главным образом, временных характеристик специализации клеток стенки микроспорангия (строения эпидермы, эндотелия и тапетума). Весь протопласт эпидермальных клеток у *S. kamtschaticum* заполнен танинами, а у *S. palmeri* танины выявляются в виде отдельных глобул. У *S. kamtschaticum* специализация клеток эндотелия становится заметной после стадии тетрад микроспор, тогда как у *S. palmeri* — лишь в период созревания пыльцевых зерен. Несмотря на то, что тапетум у обоих видов париетальный, особенности его реорганизации в постмейотический период различаются: у *S. kamtschaticum* происходит реорганизация (вариация 2 — амебоидный тапетум), а у *S. palmeri* тапетум развивается без реорганизации (вариация 1 — типичный париетальный тапетум) (Anisimova, 2020). Среди признаков строения гинецея и семязачатка следует отметить следующие черты различия: у *S. kamtschaticum* — наряду с 5-членными обнаружены 6-членные цветки, отложение танинов происходит в клетках как наружной, так и внутренней эпидермы плодолистиков, число семязачатков в рядах на плаценте составляет 3–5, семязачатки геми-кампилотропные, с 6–7-слойным нуцеллярным колпачком в виде клюва; у *S. palmeri* — наряду с 5-членными выявлены 4-членные цветки, отложение танинов происходит только в клетках наружной эпидермы плодолистиков, число семязачатков в рядах на плаценте составляет 10–12, семязачатки гипертропные, с 2–3-слойным нуцеллярным колпачком в виде клюва (Anisimova, Shamrov, 2021a, b). Сравнительный анализ строения гинецея и семязачатка у видов *Sedum* и *Kalanchoe* свидетельствует о том, что наличие массивного нуцеллуса в базальной области и типичных анатропных семязачатков у *Kalanchoe laxiflora* и *K. tubiflora*, по сравнению с изученными представителями *Sedum* (менее массивный нуцеллус и формирование более специализированных гипертропных и геми-кампилотропных семязачатков), не противоречит мнению авторов о суббазальном положении клады *Kalanchoe* на филогенетическом древе семейства *Crassulaceae* (Nikulin, Goncharov, 2017). С другой стороны, различия в организации гинецея и семязачатка между видами *Sedum* показывают более

высокое положение *S. palmeri* (в верхушечной кладе *Acre*), чем *S. kamtschaticum* (в срединной кладе *Telephium*).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании анализировались особенности развития пыльника. Поэтому эмбриологическое сравнение будет касаться только его признаков. Из изученных нами представителей сем. *Crassulaceae* наибольшее сходство в строении пыльника обнаружено между родами *Aeonium* и *Sedum*. Базовые признаки семейства, связанные с процессами репродукции, не учитываются. К ним относятся: тетраспорангиатный пыльник, симультанный микроспорогенез, преимущественно тетраэдральные тетрады микроспор, 2-клеточные зрелые пыльцевые зерна. К другим чертам сходства относятся следующие: изобилатеральный (на поперечном срезе) пыльник с надсвязником, 4-лучевым связником и кольцевидным фиброзным слоем с внутренней стороны связника в нижней области, где нет сростания пыльника и тычиночной нити; пыльцевые зерна однотипны по строению — 3-бороздно-оровые, поверхность — струйчатая. Полученные данные не противоречат кладистическим построениям, свидетельствующим о том, что виды полифилетического рода *Sedum* включаются в состав триб *Aeonieae*, *Semperviveae* и *Sedeeae*. Изученные виды *Aeonium balsamiferum* и *A. ciliatum*, входящие в *Aeonium*-кладу, занимают промежуточное положение между кладами *Telephium* (*Sedum kamtschaticum*) и кладой *Acre* (*S. palmeri*) (Nikulin, 2017; Nikulin, Goncharov, 2017).

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена в рамках государственного задания Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН по темам АААА-А18-118031690084-9 “Структурно-функциональные основы развития и адаптации высших растений”, АААА-А18-118051590112-8 “Поливариантность морфогенетических программ развития репродуктивных структур растений, естественные и искусственные модели их реализации” (сбор, обработка материала и обсуждение результатов) и № ГРНТИ 34.29.01 “Изучение и сохранение биологического разнообразия растений” (РГПУ им. А.И. Герцена) (описание результатов исследования). Авторы благодарны Е.Д. Петровой, Е.Л. Романовой за возможность сбора материала и ценные советы при выполнении работы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [Anisimova] Анисимова Г.М. 2016. Строение пыльника, микроспорогенез и пыльцевое зерно у *Kalanchoe nyikae* (*Crassulaceae*). — Бот. журн. 101 (12): 1378–1389.

- [Anisimova, Shamrov] Анисимова Г.М., Шамров И.И. 2018. Морфогенез гинецея и семязачатка у *Kalanchoe laxiflora* и *K. tubiflora* (Crassulaceae). — Бот. журн. 103 (6): 675–694.
<https://doi.org/10.1134/S0006813618060017>
- [Anisimova] Анисимова Г.М. 2020. Развитие и строение пыльника *Sedum kamtschaticum* и *Sedum palmeri* (Crassulaceae). — Бот. журн. 105 (11): 1093–1110.
<https://doi.org/10.31857/S0006813620090021>
- [Anisimova, Shamrov] Анисимова Г.М., Шамров И.И. 2021a. Строение гинецея и семязачатка у *Sedum kamtschaticum* и *Sedum palmeri* (Crassulaceae). — Бот. журн. 106 (4): 50–68.
<https://doi.org/10.31857/S000681362104002>
- [Anisimova, Shamrov] Анисимова Г.М., Шамров И.И. 2021b. Сравнительный анализ строения гинецея и семязачатка у некоторых видов *Sedum* и *Kalanchoe* (Crassulaceae). — Бюл. ГБС. 4: 31–39.
<https://doi.org/10.25791/BBGRAN.04.2021.1097>
- Davis G.L. 1966. Systematic embryology of angiosperms. New York etc. 528 p.
- [Goncharova] Гончарова С.Б. 2006. Очитковые (Sedoideae, Crassulaceae) флоры Российского Дальнего Востока. Владивосток. 222 с.
- [Goncharova, Goncharov] Гончарова С.Б., Гончаров А.А. 2009. Молекулярная филогения и систематика цветковых растений семейства Толстянковых (Crassulaceae DC.). — Молекулярная биология. 43 (5): 856–865.
- [Grigorieva, Britski] Григорьева В.В., Брицкий Д.А. 2001. Морфология пыльцы представителей подсемейства Sedoideae (Crassulaceae). — В кн.: Проблемы современной палинологии. Материалы XIII Российской палинологической конференции. Т. 1. Сыктывкар. С. 22–25.
- Hart H. 1974. The pollen morphology of 24 species of the genus *Sedum* L. — Pollen and Spores. 16 (4): 373–387.
- Ham R.C.H.J. van. 1995. Phylogenetic relationships in the Crassulaceae inferred from chloroplast DNA variation. Chapter 2. — In: Evolution and systematics of the Crassulaceae (Eds Henk't Hart and Uts Eggli. Leiden. P. 16–29.
- Ham R.C.H.J. van, t'Hart H. 1998. Phylogenetic relationships in the Crassulaceae inferred from chloroplast DNA restriction-site variation. — Am. J. Bot. 85: 123–134.
- [Kamelina] Камелина О.П. 2009. Систематическая эмбриология цветковых растений. Двудольные. Барнаул. 501 с.
- Mes T.H.M., van Brederode J., 't Hart H. 1996. Origin of the woody Macaronesian Sempervivoideae and the phylogenetic position of the East African species of *Aeonium*. — Bot. Acta 109: 477–491.
- Mes T.H.M., Wijers G.-J., 't Hart H. 1997. Phylogenetic relationships in *Monanthes* (Crassulaceae) based on morphological, chloroplast and nuclear DNA variation. — J. Evol. Biol. 10: 193–216.
<https://doi.org/10.1046/j.1420-9101.1997.10020193.x>
- Mort M.E., Soltis D.E., Soltis P.S., Francisco-Ortega J., Santos-Guerra A. 2001. Phylogenetic relationships and evolution of Crassulaceae inferred from matK sequence data. — Am. J. Bot. 88: 76–91.
- Mort M.E., O'Leary T.R., Carrillo-Reyes P., Nowell T., Archibald J.K., Randle Ch.P. Phylogeny and evolution of Crassulaceae: past, present, and future. — Schumannia 6. Biodiversity and Ecology. 3: 69–86.
- [Nikulin] Никулин В.Ю. 2017. Филогенетические отношения в роде *Sedum* L. (Crassulaceae J. St.-Hil.) и близких ему родах на основании сравнения нуклеотидных последовательностей ядерной и хлоропластной ДНК: Дис. ... канд. биол. наук. Владивосток. 114 с.
- [Nikulin, Goncharov] Никулин В.Ю., Гончаров А.А. 2017. Молекулярно-филогенетическая характеристика *Sedum* (Crassulaceae) и близких ему родов на основании сравнения нуклеотидных последовательностей гена *matK* хлоропластной ДНК и его региона рибосомной ДНК. — Бот. журн. 102 (3): 309–328.
- [Nikiticheva] Никитичева З.И. 1985. Семейство Crassulaceae. — В кн.: Сравнительная эмбриология цветковых растений. Brunneliaceae–Tremandraceae. Л. С. 29–34.
- [Pausheva] Паушева З.П. 1974. Практикум по цитологии растений. М. 288 с.
- [Shamrov] Шамров И.И. 2008. Формирование спорангиев высших растений. — Бот. журн. 93 (12): 1817–1845.
- [Shamrov, Anisimova, Babro] Шамров И.И., Анисимова Г.М., Бабро А.А. 2019. Формирование стенки микроспорангия пыльника и типизация тапетума покрытосеменных растений. — Бот. журн. 104(7): 1001–1032.
<https://doi.org/10.1134/S0006813619070093>
- Shamrov I.I., Anisimova G.M., Babro A.A. 2020. Early stages of anther development in flowering plants. — Botanica Pacifica. A journal of plant science and conservation. 9 (2): 1–10.
<https://doi.org/10.17581/bp.2020.09202>
- Shamrov I.I., Anisimova G.M., Babro A.A. Tapetum types and forms in angiosperms. — Proceedings of the Latvian Academy of Sciences, Section B. 2021. — 75 (3): 167–179.
<https://doi.org/10.2478/prolas-2021-0026>
- Sin J.-H., Yoo Y.-G., Park K.-R. 2002. A palynotaxonomic studies of Korean Crassulaceae. — Korean J. Electron Microscopy. 32 (4): 345–360.
- Teryokhin E.S., Batygina T.B., Shamrov I.I. 2002. New approach to classifying modes of microsporangium wall formation. — In: Embryology of flowering plants. Terminology and concepts. Enfield (NH), USA, Plymouth, UK. Vol. 1. P. 32–39.
- [Zhinkina, Evdokimov, Shamrov] Жинкина Н.А., Евдокимова Е.Е., Шамров И.И. 2022. Особенности строения пыльника у *Codonopsis clematidea* (Campanulaceae). — Бот. журн. 107 (3): 287–301.
<https://doi.org/10.31857/S0006813621120115>

ANTHER WALL FORMATION IN *AEONIUM BALSAMIFERUM* AND *A. CILIATUM* (CRASSULACEAE)

G. M. Anisimova^{a,#} and I. I. Shamrov^{a,b,##}

^a Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences
Prof. Popov Str., 2, St. Petersburg, 197376, Russia

^b Herzen State Pedagogical University of Russia
Moika River Emb., 48, St. Petersburg, 191186, Russia

[#]e-mail: galina0353@mail.ru

^{##}e-mail: ivan.shamrov@gmail.com

The study has revealed similarities and differences in the anther development and structure in *Aeonium balsamiferum* and *A. ciliatum*. The similarities are: the microsporangium wall on the distal side is formed following dicot type, the wall of the microsporangium consists of five layers of cells (epiderm, endothecium, two middle layers and parietal tapetum), microsporogenesis is simultaneous, tetrads of microspores are tetrahedral, pollen grains are 2-celled. Tannins accumulate in the cells of the connective tissue and epiderm on the distal side of the microsporangium wall. Revealed in epy both species, was variation 2 of the parietal type, i.e. an amoeboid tapetum, and an annular fibrous layer on the inner side of the connective in its lower region, where the anther and filament are not fused.

The differences between the species concern the structure of the inflorescence and flower. Cymose inflorescences in *A. balsamiferum* are represented by both compound monochasia and dichasia, while in *A. ciliatum* predominantly by compound dichasia. The androecium in *A. balsamiferum* most often consists of 16 or 18 stamens, and that in *A. ciliatum* – of 14 stamens with glandular hairs on their surfaces. Microsporangia are rounded in *A. ciliatum*, and oval-oblong in *A. balsamiferum*. As a result, the septum between microsporangia is extended in *A. ciliatum* and very short in *A. balsamiferum*. In the latter species, pollen can spill out through both the stomium and the apical pore (we first discovered this phenomenon in the family Crassulaceae), and both modes of opening the thecae are simultaneous, that probably indicates a greater specialization for pollination in the anther of *A. balsamiferum*. Although the outer tapetum is single-layered in the both species, its cells are uninuclear in *A. ciliatum* and 2-nuclear in *A. balsamiferum*. The inner tapetum is usually 1-layered, rarely irregularly 2-layered, its cells increasing size 2 times in *A. ciliatum* and 3–4 times in *A. balsamiferum* (in the latter, they resemble papilloid cells in structure).

The greatest similarity in anther structure was found between the genera *Aeonium* and *Sedum*. This includes the following: an isobilateral (on a transverse section) anther with an epiconnective, a 4-beamed connective, and an annular fibrous layer on the inner side of the connective in the lower region, where there is no fusion of the anther and filament; pollen grains are of the same type in structure – tricolporate, their surface is striated. The data obtained do not disagree with existing cladistic constructions suggesting that the species of a polyphyletic genus *Sedum* are distributed among the tribes Aeonieae, Semperviveae, and Sedeae. The studied species *Aeonium balsamiferum* and *A. ciliatum*, falling into the *Aeonium* clade, take an intermediate position between the *Telephium* clade (*Sedum kamtschaticum*) and the *Acre* clade (*S. palmeri*).

Keywords: androecium, anther, microsporangium wall, Crassulaceae, *Aeonium*, *Aeonium balsamiferum*, *A. ciliatum*

ACKNOWLEDGEMENTS

The research was carried out within the framework of the institutional research projects “Structural-functional bases of development and adaptation in higher plants”, “Polyvariation of morphogenetic developmental programmes of plant reproductive structures, natural and artificial models of their realization” (Komarov Botanical Institute of RAS, state registration Nos. AAAA-A18-118031690084-9, AAAA-A18-118051590112-8 – collecting material, its treatment and discussion of results), and “Study and conservation of plant biological diversity” (Herzen State Pedagogical University of Russia, No. 34.29.01 – description of the study results).

The authors are grateful to E.D. Petrova and E.L. Romanova for valuable advice and assistance when carrying out the work.

REFERENCES

- Anisimova G.M. 2016. Anther structure, microsporogenesis and pollen grain in *Kalanchoe nyikae* (Crassulaceae). – Bot. Zhurn. 101 (12): 1378–1389 (In Russ.).
- Anisimova G.M., Shamrov I.I. 2018. Gynoecium and ovule morphogenesis in *Kalanchoe laxiflora* and *K. tubiflora* (Crassulaceae). – Bot. Zhurn. 103 (6): 675–694 (In Russ.). <https://doi.org/10.1134/S0006813618060017>

- Anisimova G.M. 2020. Anther development and structure in *Sedum kamtschaticum* and *Sedum palmeri* (Crassulaceae). – Bot. Zhurn. 105 (11): 1093–1110 (In Russ.). <https://doi.org/10.31857/S0006813620090021>
- Anisimova G.M., Shamrov I.I. 2021a. Gynoecium and ovule structure in *Sedum kamtschaticum* and *Sedum palmeri* (Crassulaceae) – Bot. Zhurn. 106 (4): 50–68 (In Russ.). <https://doi.org/10.31857/S000681362104002>
- Anisimova G.M., Shamrov I.I. 2021b. Comparative analysis of gynoecium and ovule structure in some species of *Sedum* and *Kalanchoe* (Crassulaceae). – Bull. Main Bot. Gard. 4: 31–39 (In Russ.). <https://doi.org/10.25791/BBGRAN.04.2021.1097>
- Davis G.L. 1966. Systematic embryology of angiosperms. New York etc. 528 p.
- Goncharova S.B. 2006. Subfamily Sedoideae (Crassulaceae) of flora of the Russian Far East. Vladivostok. 222 p. (In Russ.).
- Goncharova S.B., Goncharov A.A. 2009. Molecular phylogeny and systematics of flowering plants from family Crassulaceae DC. – Molecular Biology. 43 (5): 856–865 (In Russ.).
- Grigorieva V.V., Britski D.A. 2001. Pollen morphology of representatives of subfamily Sedoideae (Crassulaceae). – In: Problems of modern palynology. Proc. XIIIth Russian palynological conference. Vol. 1. Syktyvkar. P. 22–25 (In Russ.).
- Ham R.C.H.J. van. 1995. Phylogenetic relationships in the Crassulaceae inferred from chloroplast DNA variation. Chapter 2. – In: Evolution and systematics of the Crassulaceae (Eds Henk't Hart and Uts Eggli. Leiden: Buckhuys Publisher. P. 16–29.
- Ham R.C.H.J. van, t'Hart H. 1998. Phylogenetic relationships in the Crassulaceae inferred from chloroplast DNA restriction-site variation. – Am. J. Bot. 85: 123–134.
- Hart H. 1974. The pollen morphology of 24 species of the genus *Sedum* L. – Pollen and Spores. 16 (4): 373–387.
- Kamelina O.P. 2009. Systematic embryology of flowering plants. Dicotyledons. Barnaul. 501 p. (In Russ.).
- Mes T.H.M., van Brederode J., t'Hart H. 1996. Origin of the woody Macaronesian Sempervivoideae and the phylogenetic position of the East African species of *Aeonium*. – Bot. Acta 109: 477–491.
- Mes T.H.M., Wijers G.-J., t'Hart H. 1997. Phylogenetic relationships in *Monanthes* (Crassulaceae) based on morphological, chloroplast and nuclear DNA variation. – J. Evol. Biol. 10: 193–216. <https://doi.org/10.1046/j.1420-9101.1997.10020193.x>
- Mort M.E., Soltis D.E., Soltis P.S., Francisco-Ortega J., Santos-Guerra A. 2001. Phylogenetic relationships and evolution of Crassulaceae inferred from matK sequence data. – Am. J. Bot. 88: 76–91.
- Mort M.E., O'Leary T.R., Carrillo-Reyes P., Nowell T., Archibald J.K., Randle Ch.P. Phylogeny and evolution of Crassulaceae: past, present, and future. – Schumannia 6. Biodiversity and Ecology. 3: 69–86.
- Nikiticheva Z.I. 1985. Crassulaceae family. – In: Comparative embryology of flowering plants. Brunneliaceae–Tremandraceae. Leningrad. P. 29–34 (In Russ.).
- Nikulin V.Yu. 2017. Phylogenetic connections in *Sedum* L. (Crassulaceae J. St.-Hil.) and related genera on the basis of comparison of nucleotid sequence of nuclear and chloroplast DNA: Dis. ... cand. biol. nauk. Vladivostok. 114 p. (In Russ.).
- Nikulin V.Yu., Gontcharov A.A. 2017. Molecular-phylogenetic characterization of *Sedum* (Crassulaceae) and closely related genera based on cpDNA gene *matK* and its rDNA sequence comparisons. – Bot. Zhurn. 102 (3): 309–328 (In Russ.).
- Pausheva Z.P. 1974. Practical work on plant cytology. Moscow. 288 p. (In Russ.).
- Shamrov I.I. 2008. Formation of sporangia in higher plants. – Bot. Zhurn. 93 (12): 1817–1845 (In Russ.).
- Shamrov I.I., Anisimova G.M., Babro A.A. 2019. Formation of anther microsporangium wall, and typification of tapetum in angiosperms. – Bot. Zhurn. 104 (7): 1001–1032 (In Russ.). <https://doi.org/10.1134/S0006813619070093>
- Shamrov I.I., Anisimova G.M., Babro A.A. 2020. Early stages of anther development in flowering plants. – Botanica Pacifica. A journal of plant science and conservation. 9 (2): 1–10. <https://doi.org/10.17581/bp.2020.09202>
- Shamrov I.I., Anisimova G.M., Babro A.A. 2021. Tapetum types and forms in angiosperms. – Proceedings of the Latvian Academy of Sciences, Section B. 75 (3): 167–179. <https://doi.org/10.2478/prolas-2021-0026/>
- Sin J.-H., Yoo Y.-G., Park K.-R. 2002. A palynotaxonomic studies of Korean Crassulaceae. – Korean J. Electron Microscopy. 32 (4): 345–360.
- Teryokhin E.S., Batygina T.B., Shamrov I.I. 2002. New approach to classifying modes of microsporangium wall formation. – In: Embryology of flowering plants. Terminology and concepts. Enfield (NH), USA, Plymouth, UK. Vol. 1. P. 32–39.
- Zhinkina N.A., Evdokimova E.E., Shamrov I.I. 2022. Specific anther structure in *Codonopsis clematidea* (Campanulaceae). – Bot. Zhurn. 107 (3): 287–301 (In Russ.). <https://doi.org/10.31857/S0006813621120115>