

СТРОЕНИЕ ПЫЛЬНИКА У *CRASSULA ERICOIDES*, *C. INTERMEDIA* И *C. MULTICAVA* (CRASSULACEAE)

© 2023 г. Г. М. Анисимова^{1,*}, И. И. Шамров^{1,2,**}

¹ Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН (БИН РАН)
ул. Проф. Попова, 2, Санкт-Петербург, 197022, 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 27.02.23 г.

После доработки 26.03.2023 г.

Принята к публикации 28.03.2023 г.

Впервые исследованы развитие и строение пыльника у *Crassula intermedia*, *C. multicava* и *C. ericoides*. Подтверждено наличие у изученных видов базовых признаков семейства Crassulaceae, связанных с процессами репродукции. К ним относятся: тетраспорангиатный пыльник, париетальный тапетум, симультанный микроспорогенез, преимущественно тетраэдральные тетрады микроспор, 2-клеточные и 3-бороздно-оровые зрелые пыльцевые зерна. Стенка микроспорангия является 4-слойной (эпидерма, эндотений, средний слой и тапетум) и ее развитие осуществляется в рамках типовой вариации центробежного типа. В клетках эпидермы накапливаются танины: у *C. intermedia* по периферии протопласта клеток, а у *C. multicava* и *C. ericoides* протопласты клеток полностью заполняются танинами. Тапетум развивается без реорганизации (типичный париетальный тапетум). Проведенное исследование показало, что виды *Crassula* характеризуются рядом уникальных признаков. У них формируется эксцентричный связник, который смещен из центрального положения в сторону абаксиальных микроспорангиев, при этом ткани связника не развиваются между адаксиальными микроспорангиями. Фиброзные утолщения обнаружены не только в клетках эндотения, но и в клетках, окружающих проводящий пучок связника. Число слоев клеток с фиброзными утолщениями и их расположение различаются у изученных видов. У *C. ericoides* они располагаются в один слой в виде кольца в той части пыльника, которая полностью срастается с тычиночной нитью. У *C. intermedia* и *C. multicava* здесь формируются 2–3 слоя. В части пыльника, свободной от тычиночной нити, у *C. ericoides* клетки с фиброзными утолщениями формируются только в эндотении, а у других видов не только в эндотении, но и в 2–3 нижележащих слоях связника. В строении тычинки и пыльника видов *Crassula* есть признаки, общие с видами *Sedum* и *Aeonium* (наличие клеток с фиброзными утолщениями в части пыльника, свободной от тычиночной нити) и *Kalanchoe* (тычинка широкая в основании и узкая в месте срастания с пыльником).

Ключевые слова: андроцей, пыльник, стенка микроспорангия, Crassulaceae, *Crassula*, *Crassula intermedia*, *C. ericoides*, *C. multicava*

DOI: 10.31857/S0006813623040026, **EDN:** OZEEKB

Эмбриология сем. Crassulaceae до сих пор изучена у небольшого числа видов (Nikiticheva, 1985; Kamelina, 2009). Ранее нами были исследованы представители родов *Aeonium*, *Kalanchoe* и *Sedum*. 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* и особенно кардинально *Kalanchoe* – перенос клады *Kalanchoe* из основания в верхнюю часть древа семейства. Клада *Crassula* в обеих системах занимает базальное положение. Однако в одном случае клада *Crassula* располагается вблизи клады *Kalanchoe* (Nikulin, Goncharov, 2017), а во втором – рядом с кладой *Crassula* находится клада *Telephium*.

Ранее нами было показано, что в строении пыльника наибольшим сходством характеризу-

ются роды *Aeonium* и *Sedum* (Anisimova, Shamrov, 2022a, b), при этом большинство видов полифилетического рода *Sedum*, включенных в трибу Sedeae, расположены между кладами *Leucosedum* и *Acre*. Изученные виды относятся к кладам *Acre* (*Sedum palmeri* S. Watson) и *Telephium* (*S. kamtschaticum* Fisch.). *Aeonium balsamiferum* Webb et Berthel. и *A. ciliatum* (Willd.) Webb et Berthel., входящие в *Aeonium*-кладу, занимают промежуточное положение между кладами *Telephium* и *Acre* (*S. palmeri*). В отличие от них, у видов *Kalanchoe* (*K. laxiflora* Baker, *K. tubiflora* (Harv.) Raym.-Hamet, *K. rosei* Raym.-Hamet et H. Perrier и *K. nyikae* Engl.) выявлены различия, как по общему строению пыльника, так и его стенки (Anisimova, 2016). Именно наличие возможной филогенетической близости родов *Crassula* и *Kalanchoe* побудило нас провести исследование морфогенеза андроеца, развития и строения стенки пыльника у 3 видов рода *Crassula*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Для исследования были выбраны три вида *Crassula*: *C. intermedia* Schönland (толстянка промежуточная, или крассула промежуточная), *C. ericoides* Haw. (толстянка эриковидная, или крассула эриковидная) и *C. multicava* Lem. (толстянка многополостная, или крассула многополостная). Род *Crassula* включает от 300 до 350 видов. В природных условиях они произрастают в Южной Африке и на Мадагаскаре (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—виолетом 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 Axio-plan-2 mot, камеры AxioCam MRC 5 и программ AxioVision 4.8 (фирмы Carl Zeiss). Рисунки выполнены с помощью рисовального аппарата. Строение пыльцевых зерен изучено с помощью сканирующего электронного микроскопа Jeol JSM-

6390 LA в Центре коллективного пользования БИН РАН.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Цветок. Число элементов в цветке, как правило, является постоянным: тетрамерное у *Crassula multicava* и пентамерное у *C. intermedia* и *C. ericoides*. Однако число элементов андроеца и гинецея может варьировать. При исследовании цветков *C. ericoides* выявлены отклонения, которые проявляются в наличии 8 тычинок в 2 кругах и 4 или 5 плодолистиков, либо 5 тычинок и 4 плодолистиков, 4 тычинок и 4 плодолистиков, 5 тычинок (2 из них располагаются выше других) и 3 плодолистиков. Цветок характеризуется двойным околоцветником. Чашечка и венчик — сростнолистные, 4-членные у *C. multicava* и 5-членные у *C. intermedia* и *C. ericoides*. Окраска венчика различается у изученных видов. У *C. intermedia* и *C. ericoides* лепестки белые, а у *C. multicava* они розоватого цвета.

Тычинка и пыльник. Тычинка дифференцирована на пыльник и короткую тычиночную нить. В базальной части пыльник не срастается с тычиночной нитью (составляет примерно 1/5 его длины). К месту прикрепления на цветоножке тычиночная нить уплощается и расширяется. Однако на уровне вхождения в пыльник она сужается, принимая цилиндрическую форму (рис. 1, 1). В центре тычиночной нити, состоящей из паренхимных клеток, проходит проводящий пучок. Продолжением тычиночной нити, соединяющей теки пыльника, является связник. Однако у изученных видов связник отличается расположением и строением. Прежде всего, он является эксцентричным и смещен из центрального положения в сторону абаксильных микроспорангиев (рис. 1, 2—6; 2, 1—5). Такое латеральное положение обуславливает в дальнейшем передвижение пластических веществ не внутрь гнезд абаксильных микроспорангиев, а наружу. Как мы увидим далее, тапетум оказывается лучше развит не с внутренней стороны, а с наружной, при этом наружный тапетум разрушается последним в стенке микроспорангия. Вторая особенность заключается в том, что ткани связника не развиваются между адаксиальными микроспорангиями. Последние срастаются боковыми поверхностями, подобно тому, как объединяются края смежных плодолистиков в синкарпном гинецее, и сохраняют это состояние в момент вскрывания пыльника (рис. 2, 6).

Также специфичным является строение пыльника в разных его частях: в области, сросшейся с тычиночной нитью (рис. 1, 2, 4), свободной от тычиночной нити (ближе к месту срастания — рис. 1, 3, 5, в базальной части пыльника — рис. 1, 6); в клетках эпидермы и вокруг проводящего пучка

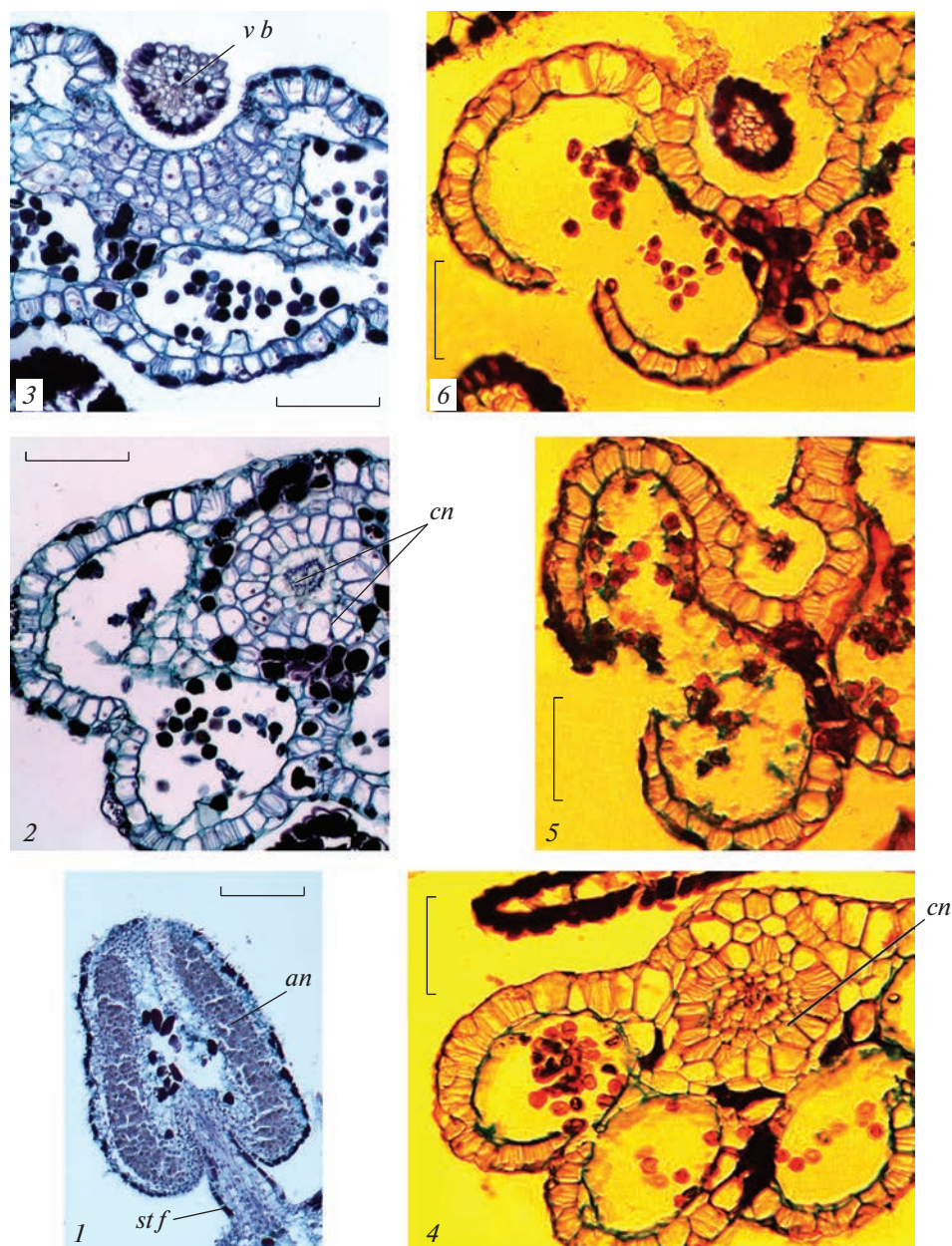


Рис. 1. Строение тычинок у *Crassula multica* (1–3) и *C. ericoides* (4–6) (1 – продольный, 2–6 – поперечные срезы). Строение тычинки (1); строение пыльника в разных его частях: в области, сросшейся с тычиночной нитью (2, 4), свободной от тычиночной нити (3, 5 – ближе к месту срастания, 6 – в базальной части пыльника); в клетках эпидермы и в клетках вокруг проводящего пучка в связнике видны танины; в клетках эндотеция и окружающих проводящий пучок формируются фиброзные утолщения. *an* – пыльник, *cn* – связник, *stf* – тычиночная нить, *vb* – проводящий пучок. Масштабная линейка, мкм: 1 – 200, 2, 3, 5, 6 – 100, 4 – 50.

Fig. 1. Stamen structure in *Crassula multica* (1–3) and *C. ericoides* (4–6) (1 – longitudinal, and 2–6 – cross sections). Stamen structure (1); structure of the anther in its different portions: in the zone fused with the filament (2, 4), free from the filament (3, 5 – closer to the place of fusion, 6 – in the basal part of the anther); in the cells of the epidermis and in the cells around the vascular bundle in the connective, tannins are visible; in the cells of the endothecium and in the cells around the vascular bundle, fibrous thickenings are formed. *an* – anther, *cn* – connective, *stf* – stamen filament, *vb* – vascular bundle. Scale bars, μm : 1 – 200, 2, 3, 5, 6 – 100, 4 – 50.

в связнике видны клетки с танинами; в клетках эндотеция и обкладки проводящего пучка формируются фиброзные утолщения (рис. 1, 2–6; 2, 4, 5). Число слоев клеток с фиброзными утолще-

ниями и их расположение различаются у изученных видов. У *C. ericoides* они располагаются в один слой в виде кольца в той части пыльника, которая полностью срастается с тычиночной ни-

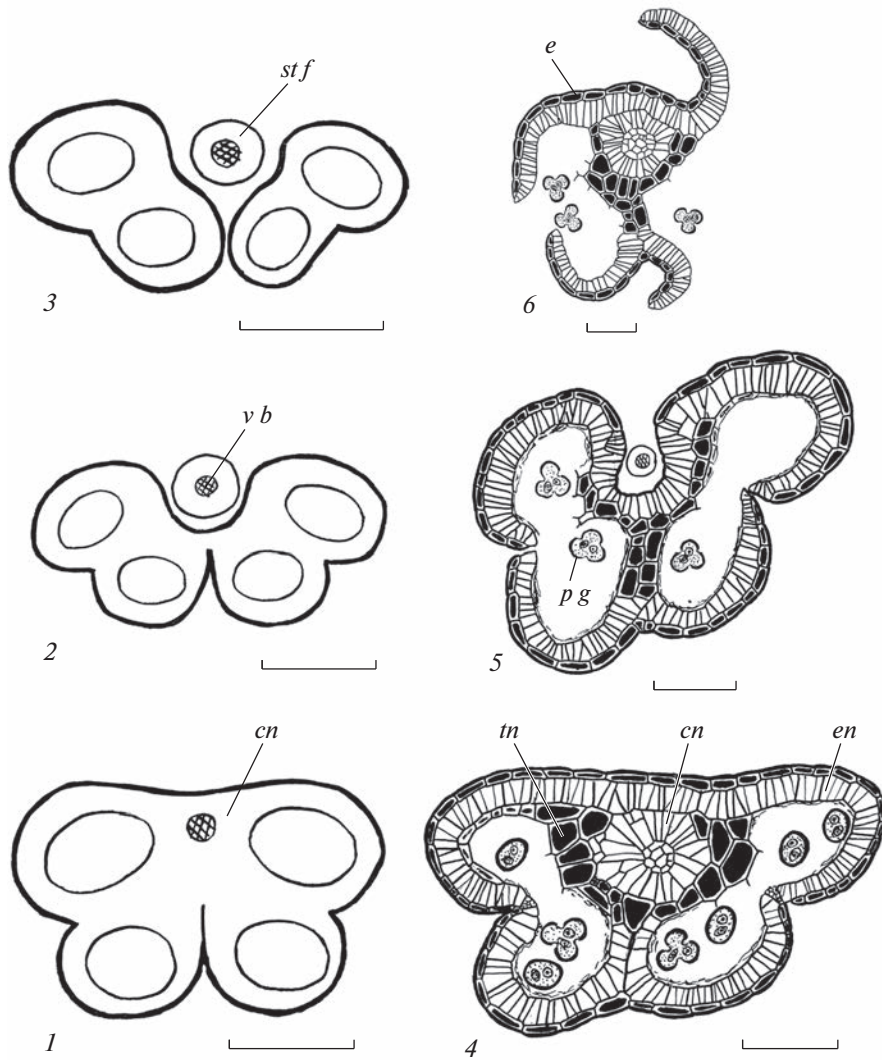


Рис. 2. Строение пыльника у *Crassula multicaeva* (1–3) и *C. ericoides* (4–6) (поперечные срезы).

Строение пыльника в разных его частях: в области, сросшейся с тычиночной нитью (1, 4); свободной от тычиночной нити, абаксиальные микроспорангии уже не контактируют с тычиночной нитью, а адаксиальные микроспорангии еще связаны между собой (2, 5); смежные микроспорангии (как абаксиальные, так и адаксиальные) разъединены (3); вскрывание пыльника (6); в клетках эпидермы и в клетках вокруг проводящего пучка в связнике видны танины; в клетках эндотеция и окружающих проводящий пучок формируются фиброзные утолщения. *cn* – связник, *e* – эпидерма, *en* – эндотеций, *pg* – пыльцевое зерно, *sf* – тычиночная нить, *tn* – танины, *vb* – проводящий пучок. Масштабная линейка, мкм: 1–3 – 50, 4–6 – 30.

Fig. 2. Anther structure in *Crassula multicaeva* (1–3) and *C. ericoides* (4–6) (cross sections).

Structure of the anther in its different portions: in the zone fused with the filament (1, 4), free from the filament, abaxial microsporangia are no longer in contact with the filament, and adaxial microsporangia are still interconnected (2, 5); adjacent microsporangia (both abaxial and adaxial) are separated (3); anther dehiscence (6); in the cells of the epiderm and the cells around the vascular bundle in the connective, tannins are visible; in the cells of the endothecium and in the cells around the vascular bundle, fibrous thickenings are formed. *cn* – connective, *e* – epiderm, *en* – endothecium, *pg* – pollen grain, *sf* – stamen filament, *tn* – tannins, *vb* – vascular bundle. Scale bars, μm : 1–3 – 50, 4–6 – 30.

тью (рис. 2, 4, 6). У *C. intermedia* и *C. multicaeva* формируются 2–3 слоя (рис. 1, 2). В части пыльника, свободной от тычиночной нити, у *C. ericoides* клетки с фиброзными утолщениями формируются только в эндотеции (рис. 1, 5, 6; 2, 5), а у других видов и в 2–3 нижележащих слоях связника (рис. 1, 3).

Пыльники – тетраспорангиатные (рис. 3, 1–6). Уже на ранних стадиях развития видно, что они асимметричные и широкой (абаксиальной) частью направлены наружу, а узкой (адаксиальной) – внутрь (рис. 4, 2). Как мы отмечали, лишь абаксиальные микроспорангии срастаются с тычиночной нитью, образуя связник. Адаксиальные мик-

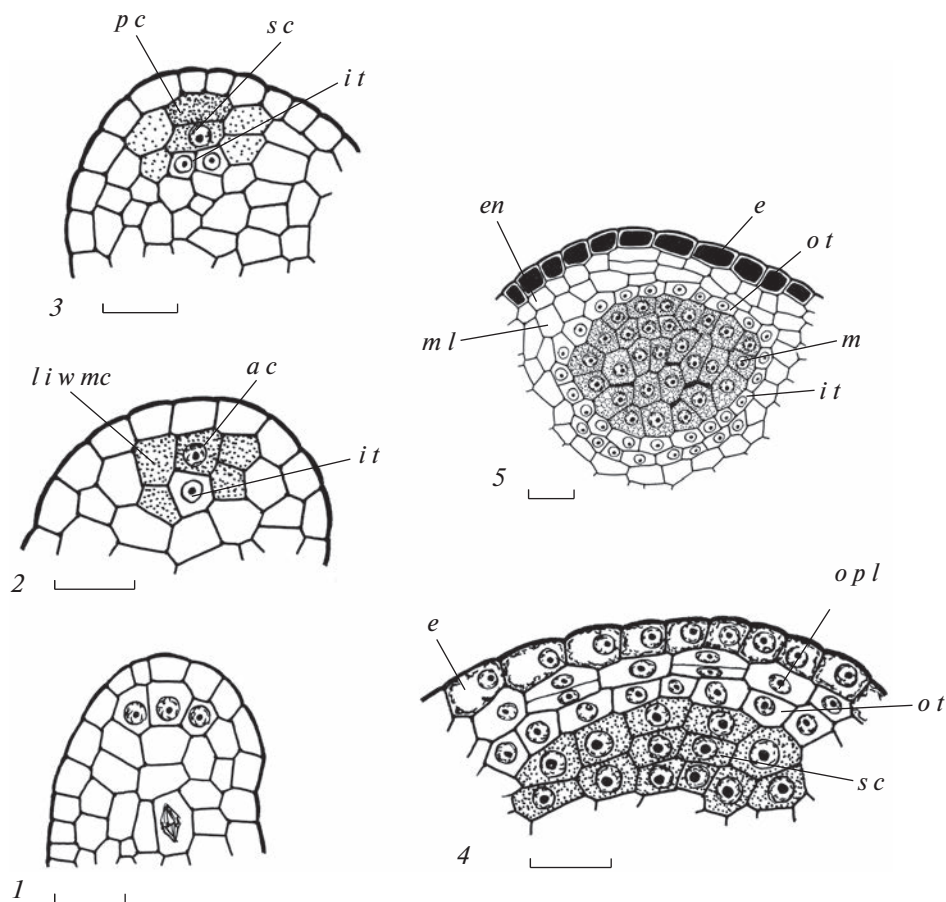


Рис. 3. Стадии развития пыльника у *Crassula multicaeva* (поперечные срезы).

1, 2 – бугорок пыльника, деления инициалей микроспорангия, формирование клеток внутреннего тапетума, археспория и инициалей латеральных частей стенки; 3 – деление археспориальной клетки на спорогенную (внутрь) и парietальную (наружу); 4 – образование слоя наружного тапетума и начало делений клеток наружного парietального слоя на эндотеций и средний слой; 5 – сформированная стенка микроспорангия на стадии микроспороцитов перед мейозом. *ac* – археспориальная клетка, *cimc* – центральная инициаль микроспорангия, *e* – эпидерма, *en* – эндотеций, *it* – внутренний тапетум, *liwmc* – инициали латеральной части стенки микроспорангия, *m* – микроспороцит, *ml* – средний слой, *opl* – наружный парietальный слой, *ot* – наружный тапетум, *pc* – парietальная клетка, *sc* – спорогенная клетка. Масштабная линейка, мкм: 10.

Fig. 3. Stages of anther formation in *Crassula multicaeva* (transverse sections).

1, 2 – anther primordium, divisions of the microsporangium initials, formation of the cells of the inner tapetum, archesporium and the initials of the lateral parts of the wall; 3 – division of the archesporial cell into sporogenous (inward) and parietal (outward) cells; 4 – formation of the layer of the outer tapetum and the beginning of cell divisions of the outer parietal layer into the endothecium and the middle layer; 5 – formed wall of the microsporangium at the stage of microsporocytes before meiosis. *ac* – archesporial cell, *cimc* – central initial of microsporangium, *e* – epiderm, *en* – endothecium, *it* – inner tapetum, *liwmc* – lateral initials of microsporangium wall, *m* – microspocyte, *ml* – middle layer, *opl* – outer parietal layer, *ot* – outer tapetum, *pc* – parietal cell, *sc* – sporogenous cell. Scale bar, μm : 10.

роспорангии срастаются своими боковыми поверхностями (рис. 2, 1–6).

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 et al., 2019, 2020, 2022). Изучение пыльника у *Crassula intermedia* и *C. multicaeva* показало, что в его субэпидермальном слое на ранних этапах развития

дифференцируется группа инициальных клеток (центральная и латеральные – рис. 3, 1; 4, 1), которые образуют как слои стенки микроспорангия со всех сторон микроспорангия, так и археспорий. После периклиального 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

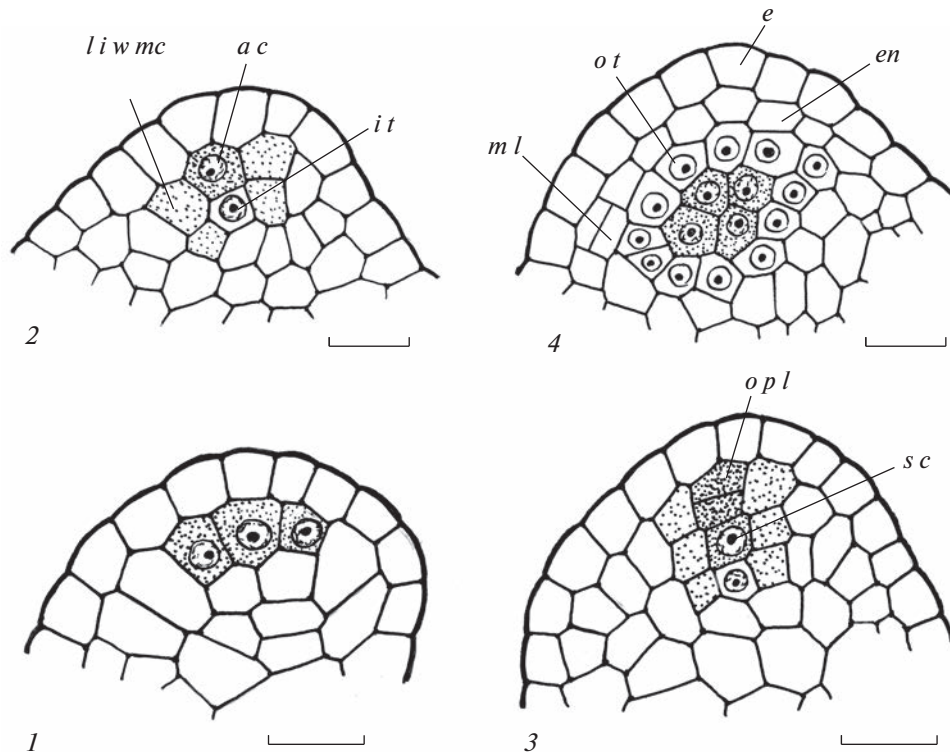


Рис. 4. Стадии развития пыльника у *Crassula intermedia* (поперечные срезы).

1, 2 – бугорок пыльника, деления инициалей микроспорангия, формирование клеток внутреннего тапетума, археспория и инициалей латеральных частей стенки; 3 – периклинальное деление парietальной клетки; 4 – образование единого слоя тапетума и начало делений клеток наружного парietального слоя на эндотеций и средний слой. *ac* – археспориальная клетка, *c i mc* – центральная инициаль микроспорангия, *e* – эпидерма, *en* – эндотеций, *it* – внутренний тапетум, *li w mc* – инициали латеральной части стенки микроспорангия, *m l* – средний слой, *o t* – наружный тапетум, *s c* – спорогенная клетка. Масштабная линейка, мкм: 10.

Fig. 4. Stages of anther formation in *Crassula intermedia* (transverse sections).

1, 2 – anther primordium, divisions of the microsporangium initials, formation of the cells of the inner tapetum, archesporium and the initials of the lateral parts of the wall; 3 – periclinal division of the parietal cell; 4 – formation of a unite layer of the tapetum and the beginning of cell divisions of the outer parietal layer into the endothecium and the middle layer. *ac* – archesporial cell, *c i mc* – central initial of microsporangium, *e* – epiderm, *en* – endothecium, *it* – inner tapetum, *li w mc* – lateral initials of microsporangium wall, *m l* – middle layer, *o p l* – outer parietal layer, *o t* – outer tapetum, *s c* – sporogenous cell. Scale bar, μm: 10.

клетки за счет делений образуют латеральные части стенки микроспорангия (рис. 3, 2; 4, 2). В результате периклинальных делений археспориальных клеток возникают наружный (парietальные клетки) и внутренний (спорогенные клетки) слои (рис. 3, 3).

Клетки парietального слоя делятся периклинальными и антиклинальными делениями, в результате чего образуются слои, входящие в состав дистальной части стенки микроспорангиев. Периклинальные деления происходят в определенной последовательности. После деления клеток исходного парietального образуются два слоя, участие которых различно в дальнейшем построении стенки микроспорангия (рис. 4, 3). Клетки внутреннего парietального 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).

На стадии преобразования спорогенных клеток в микроспороциты клетки субэпидермального слоя иногда делятся периклинально, образуя нерегулярно 1–2-слойный эндотеций (рис. 4, 4). С внутренней стороны, особенно в адаксиальных микроспорангиях, может формироваться 2-слойный тапетум (рис. 3, 5). Тем не менее сформированная стенка микроспорангия у исследованных видов обычно состоит из 4 слоев клеток – эпидермы, эндотеция, среднего слоя и тапетума.

Во время микроспорогенеза и формирования пыльцевых зерен происходят преобразования слоев стенки микроспорангия. Рассмотрим по-

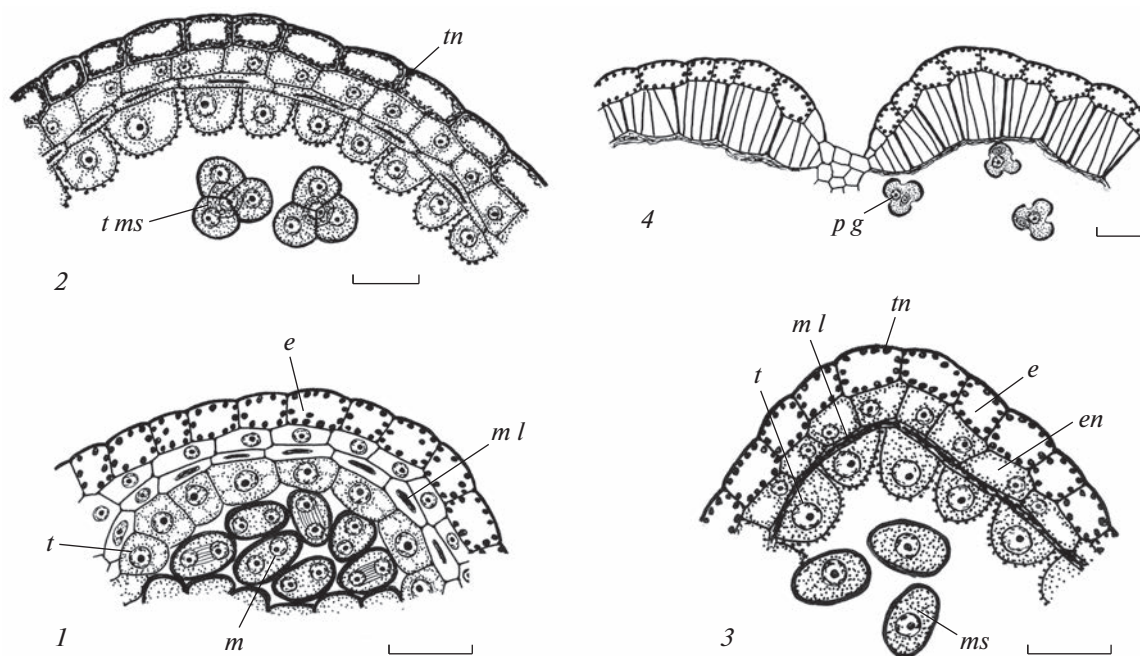


Рис. 5. Строение стенки микроспorangия во время микроспорогенеза и формирования пыльцевого зерна у *Crassula intermedia* (поперечные срезы).

1 – стенка микроспorangия во время первого деления мейоза, разрушение клеток среднего слоя и начало отложения танинов по периферии клеток эпидермы; 2 – стенка микроспorangия на стадии тетрад микроспор, произошло разрушение стенок между клетками тапетума, на внутренней тапетальной мембране видны орбикулы; 3 – стенка микроспorangия на стадии одиночных микроспор, клетки среднего слоя почти разрушились, радиальные стенки клеток эндотехия утолщены, в тапетуме ядра сжимаются, а размеры протопластов сокращаются в средней и апикальной частях; 4 – стенка микроспorangия в месте стомиума, в области вскрывания видны тонкостенные клетки. *e* – эпидерма, *en* – эндотехий, *m* – микроспороцит, *m l* – средний слой, *ms* – микроспора, *p g* – пыльцевое зерно, *t* – тапетум, *t ms* – тетрада микроспор, *tn* – танины. Масштабная линейка, мкм: 1–3 – 10, 4 – 50.

Fig. 5. Microsporangium wall structure during microspogenesis and pollen grain formation in *Crassula intermedia* (transverse sections).

1 – microsporangium wall during the first meiotic division, destruction of middle layer cells and beginning of tannin deposition along the periphery of the epidermal cells; 2 – microsporangium wall at the stage of microspore tetrad, the destruction of the walls between the cells of the tapetum has occurred, orbicules are visible on the inner tapetal membrane; 3 – microsporangium wall at the stage of separate microspores, the cells of the middle layer are almost destroyed, radial walls of the endothecium cells are thickened, the nuclei in the tapetum are compressed, and the protoplast sizes are reduced in the middle and apical parts; 4 – microsporangium wall in the stomium area, thin-walled cells are visible in the dehiscence site. *e* – epiderm, *en* – endothecium, *m* – microspocyte, *m l* – middle layer, *ms* – microspore, *p g* – pollen grain, *t* – tapetum, *t ms* – tetrad of microspores, *tn* – tannins. Scale bars, μm : 1–3 – 10, 4 – 50.

дробно характеристику каждого слоя стенки микроспorangия.

На стадии микроспороцитов клетки **эпидермального слоя** линзовидные, с крупным ядром и плотной цитоплазмой. Затем они принимают прямоугольную форму, теряют содержимое и становятся сильно вакуолизированными. У изученных видов в клетках эпидермы накапливаются танины. У *Crassula intermedia* начало отложения танинов по периферии клеток (такая тенденция сохраняется до вскрывания пыльника) происходит во время первого деления мейоза (рис. 5, 1), а у *C. multica* и *C. ericoides* протопласты клеток эпидермы полностью заполняются танинами уже на стадии спорогенных клеток и микроспороцитов перед мейозом (рис. 3, 4, 5). 1–2 тонкостенные клетки эпидермального слоя в области сто-

миума отличаются меньшими размерами и танины в них не накапливаются (рис. 2, 6; 5, 4; 6, 4).

Вытянутые клетки **эндотехия** постепенно увеличиваются в радиальном направлении. У изученных видов этот процесс становится заметным после стадии тетрад микроспор (рис. 5, 2; 6, 1). Со стадии одиночных микроспор начинается утолщение радиальных стенок клеток эндотехия (рис. 5, 3; 6, 3). К моменту созревания пыльника тангентальные стенки клеток эндотехия приобретают фиброзные утолщения. Только 1–2 клетки эндотехия, входящие в состав стомиума, остаются меньших размеров и без фиброзных утолщений (рис. 2, 6; 5, 4; 6, 4). Ранее нами было описано специфическое строение пыльника, особенно его связника. Было обнаружено, что в клетках эндотехия и обкладки проводящего пучка формиру-

ются фиброзные утолщения (рис. 1, 2–6; 2, 4, 5). Число слоев клеток с фиброзными утолщениями и их расположение различаются у изученных видов. У *C. ericoides* они располагаются в один слой в виде кольца в той части пыльника, которая полностью срастается с тычиночной нитью (рис. 2, 4, 6). У *C. intermedia* и *C. multicava* формируются 2–3 слоя (рис. 1, 2). В части пыльника, свободной от тычиночной нити, у *C. ericoides* клетки с фиброзными утолщениями формируются только в эндотеции (рис. 1, 5, 6; 2, 5), а у других видов не только в эндотеции, но и 2–3 нижележащих слоях связника (рис. 1, 3).

Средний слой состоит из небольших узких клеток (рис. 3, 5; 4, 4; 5, 1; 6, 1). В ходе развития они постепенно вытягиваются, и к моменту формирования пыльцевых зерен их остатки представлены в виде темноокрашенных сгустков (рис. 5, 3; 6, 2, 3).

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 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 париетального слоя.

У всех изученных видов клетки тапетума до мейоза вытянутые (рис. 3, 4, 5). Но уже с началом микроспорогенеза хорошо видно, что они приобретают таблитчатую форму и увеличиваются в размерах. Клетки тапетума характеризуются плотной цитоплазмой и содержат одно крупное ядро (рис. 5, 1, 2; 6, 1). Различия в строении тапетума в дистальной, проксимальной и латеральных частях, как правило, не наблюдаются. Но это касается только адаксиальных микроспорангиев. Как мы уже отмечали, у изученных видов связник является эксцентричным и смещен из центрального положения в сторону абаксильных микроспорангиев (рис. 1, 2–6; 2, 1–5). Такое латеральное положение обуславливает в дальнейшем передвижение пластических веществ не внутрь гнезд абаксильных микроспорангиев, а наружу. Исследование строения их стенки свидетельствует о том, что тапетум оказывается лучше развит не

с внутренней стороны, а с наружной (рис. 6, 2), при этом наружный тапетум разрушается последним в стенке микроспорангия.

У изученных видов тапетум в премейотическом и мейотическом периодах характеризуется клеточной структурой. Однако на завершающихся стадиях мейоза сначала начинают разрушаться радиальные стенки между клетками тапетума и уже на стадии тетрад микроспор разрушены как радиальные, так и внутренние тангентальные стенки у *C. intermedia* (рис. 5, 2), тогда как у *C. multicava* и *C. ericoides* этот процесс начинается на стадии тетрад микроспор и завершается на стадии одиночных микроспор (рис. 6, 1–3). На внутренних тапетальных мембранах выявляются орбикулы (рис. 5, 2; 6, 2, 3).

Следует отметить, что процесс исчезновения клеточных стенок не сопровождается выпячиванием образующихся протопластов внутрь полости микроспорангия. В тапетуме ядра сжимаются, а размеры протопластов сокращаются в средней и апикальной частях, имитируя амебоидное состояние (рис. 5, 3; 6, 3). Протопласты сохраняются по краю полости микроспорангия, где и разрушаются. Таким образом, у обоих изученных видов выявлена вариация 1 – типичный париетальный тапетум (Shamrov et al., 2021, 2022).

Вскрывание пыльника. Вскрываются пыльники продольными щелями, латерозно. Перед вскрыванием разрушаются перегородки между смежными гнездами тек (рис. 1, 2; 2, 4). Формируется стомиум, образованный с внутренней стороны 2–3 слоями мелких тонкостенных клеток. С наружной стороны стомиума в 1–2 клетках эндотеция не формируются фиброзные утолщения, а в клетках эпидермы не откладываются танины (рис. 2, 4; 5, 4; 6, 4). Вскрывание – 2-фазное. Основным фактором, обеспечивающим вскрывание тек, является обезвоживание клеток эндотеция. За счет их сжатия, подобно пружине, происходит укорачивание фиброзных утолщений. За счет этого (фаза 1) уменьшаются размеры клеток эндотеция, которые в области стомиума вызывают разрывы мелких клеток (рис. 2, 5). Нижние части клеток эндотеция, лежащие над мелкими клетками, плотно смыкаются и, возможно, слипаются (рис. 1, 4; 2, 5). Дальнейшее обезвоживание приводит к вскрыванию тек пыльника (фаза 2), при этом вся стенка микроспорангия (рис. 1, 5, 6) раскрывается наружу, открывая щель, через которую высыпается пыльца (рис. 2, 6). Таким образом, вскрывание пыльника у изученных видов осуществляется с помощью стомиума, как продолжения перегородки между смежными микроспорангиями тек, и является септальным (Zhinkina et al., 2022).

Микроспорогенез и формирование пыльцевого зерна. Спорогенная ткань многослойная и распо-

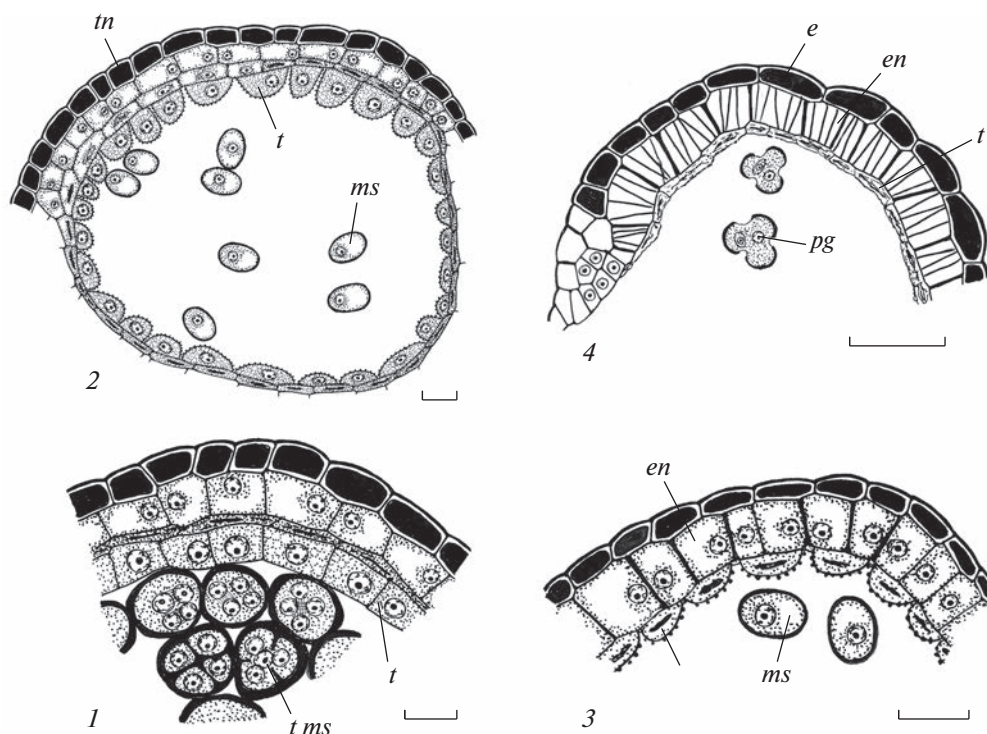


Рис. 6. Строение стенки микроспorangия во время микроспорогенеза и формирования пыльцевого зерна у *Crassula multicava* (1, 2, 4) и *C. ericoides* (3) (поперечные срезы).

1 – стенка микроспorangия на стадии тетрады микроспор, начинается разрушение клеток среднего слоя и некоторых радиальных стенок между клетками тапетума, клетки эндотеция увеличиваются в радиальном направлении, протопласты клеток эпидермы полностью заполнены танинами; 2, 3 – стенка микроспorangия на стадии одиночных микроспор; произошло разрушение радиальных стенок между клетками тапетума, на внутренней тапетальной мембране видны орбикулы, клетки тапетума с наружной стороны увеличиваются в размерах (2) либо начинается их разрушение и утолщение радиальных стенок клеток эндотеция (3); 4 – стенка микроспorangия в области стомиума, в месте вскрывания видны тонкостенные клетки. *e* – эпидерма, *en* – эндотеций, *ml* – средний слой, *ms* – микроспора, *pg* – пыльцевое зерно, *t* – тапетум, *t ms* – тетрада микроспор, *tn* – танины. Масштабная линейка, мкм: 1–3 – 10, 4 – 30.

Fig. 6. Microsporangium wall structure during microspogenesis and pollen grain formation in *Crassula multicava* (1, 2, 4) and *C. ericoides* (3) (transverse sections).

1 – microsporangium wall at the stage of microspore tetrad, the destruction of the middle layer cells and some of the radial walls between the tapetum cells begins, the endothecium cells increase radially, the protoplasts of the epidermal cells are completely filled with tannins; 2, 3 – microsporangium wall at the stage of separate microspores, the destruction of the radial walls between the tapetum cells has occurred, orbicules are visible on the inner tapetal membrane, the tapetum cells increase in size from the outside (2) or their destruction and thickening of the radial walls of the endothecium cells begin (3); 4 – microsporangium wall in the area of the stomium, thin-walled cells are visible in the dehiscence site. *e* – epiderm, *en* – endothecium, *ml* – middle layer, *ms* – microspore, *pg* – pollen grain, *t* – tapetum, *t ms* – tetrad of microspores, *tn* – tannins. Scale bars, μm : 1–3 – 10, 4 – 50.

лагается более чем 20 тяжами клеток (рис. 3, 5). Спорогенные клетки постепенно становятся микроспороцитами и вступают в мейоз. В результате первого деления мейоза образуются 2-ядерные клетки (рис. 5, 1). Веретена второго деления мейоза располагаются либо параллельно, либо крестообразно, и после процессов цитокинеза (микроспорогенез симультанный) формируются, как правило, тетраэдральные тетрады гаплоидных микроспор (рис. 5, 2; 6, 1). Каждая микроспора и тетрада в целом окружены каллозой, которая постепенно резорбируется, а тетрады распадаются на отдельные микроспоры (рис. 5, 3; 6, 2, 3). Вскоре микроспоры делятся и формируются 2-клеточные пыльцевые зерна (рис. 5, 4; 6, 4).

Зрелые пыльцевые зерна изученных видов 3-бороздно-оровые (иногда у *C. ericoides* они 4-бороздно-оровые – рис. 8, 2), эллипсоидальные; в очертании с полюса 3-лопастные, с экватора эллиптические, с закругленными полюсами (рис. 7, 2, 4, 5; 8, 1, 3). Пыльца небольших размеров, с полярной осью около 10–15 мкм у *C. ericoides*, 15–20 мкм у *C. intermedia* и самая большая 30–35 мкм у *C. multicava*. 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

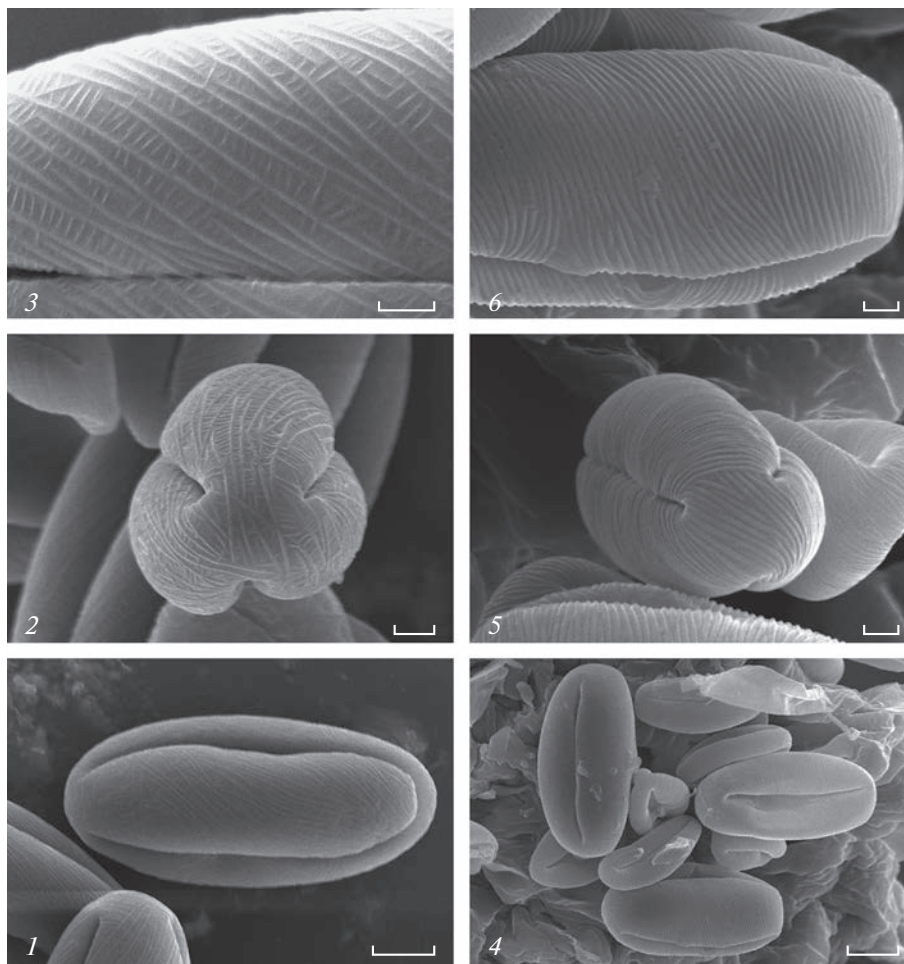


Рис. 7. Строение 3-бороздно-орových пылевых зерен у *Crassula multicava* (1–3) и *C. intermedia* (4–6). 1, 4 – общий вид пыльцевого зерна с экватора; 2, 5 – общий вид пыльцевого зерна с полюса; 3, 6 – поверхность пыльцевого зерна. Масштабная линейка, мкм: 1, 4 – 5, 2 – 2, 3, 5, 6 – 1.

Fig. 7. Structure of 3-colporate pollen grains in *Crassula multicava* (1–3) and *C. intermedia* (4–6). 1, 4 – equatorial view of pollen grain; 2, 5 – polar view of pollen grain; 3, 6 – surface of pollen grain. Scale bars, μm : 1, 4 – 5, 2 – 2, 3, 5, 6 – 1.

видов с нечеткими, часто неровными краями. Они небольшие, располагаются в центре борозд и не заходят за их границы. У *Crassula* выявлена особая форма скульптуры поверхности пыльцевого зерна. Хотя она является струйчатой, ее строение нетипичное. Она образована продольными рядами в виде гребней, а мезокольпиумы и акольпиумы напоминают по форме свернутые клубки толстых ниток. Между гребнями выделяются тонкие струи, переплетающиеся в разных направлениях (рис. 7, 2, 3, 5, 6; 8, 1, 4). Эти структуры особенно хорошо выражены у *Crassula multicava* и *C. intermedia*.

ОБСУЖДЕНИЕ

Впервые исследованы развитие и строение стенки пыльника у *Crassula intermedia*, *C. multicava* и *C. ericoides* (у последнего вида, к сожалению,

ранние стадии не удалось изучить). Подтверждено наличие у изученных видов базовых признаков семейства, связанных с процессами репродукции. К ним относятся: тетраспорангиатный пыльник, парietальный тапетум, симультанный микроспорогенез, преимущественно тетраэдральные тетрады микроспор, 2-клеточные зрелые пыльцевые зерна. Полученные нами данные дополняют эмбриологическую характеристику сем. Crassulaceae (Nikiticheva, 1985; Kamelina, 2009; Anisimova, 2016, 2020; Anisimova, Shamrov, 2022a, b).

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, 2022), согласно которой в суб-эпидермальном слое развивающегося пыльника дифференцируется группа инициальных клеток

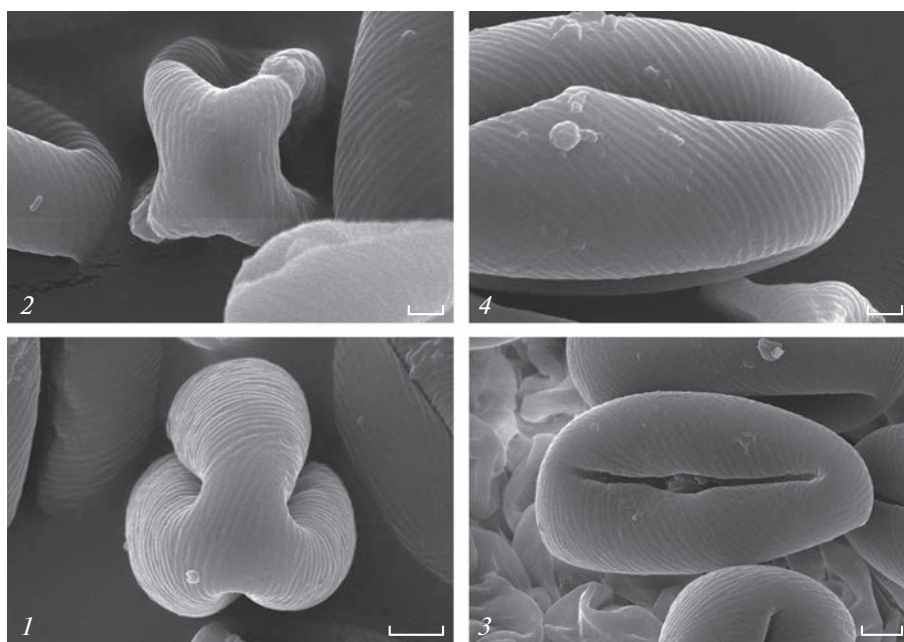


Рис. 8. Строение 3-бороздно-орových (1, 3, 4) и 4-бороздно-орových пыльцевых зерен (2) у *Crassula ericoides*. 1, 2 – общий вид пыльцевого зерна с полюса; 3 – общий вид пыльцевого зерна с экватора; 4 – поверхность пыльцевого зерна. Масштабная линейка, мкм: 1, 3 – 2, 2, 4 – 1.

Fig. 8. Structure of 3-colporate (1, 3, 4) and 4-colporate (2) pollen grains in *Crassula ericoides*. 1, 2 – polar view of pollen grain; 3 – equatorial view of pollen grain; 4 – surface of pollen grain. Scale bars, μm : 1, 3 – 2, 2, 4 – 1.

(центральная и латеральные), которые образуют как слои стенки микроспорангия, так и сам археспорий, а затем парietальные и спорогенные клетки. У видов сем. *Crassulaceae* способ формирования стенки микроспорангия из клеток парietального слоя с наружной стороны обычно определяют как тип двудольных (Nikiticheva, 1985; Kamelina, 2009), согласно представлениям (Davis, 1966). Поскольку у изученных нами видов *Crassula* стенка микроспорангия обычно состоит из эпидермы, эндотеция, среднего слоя и тапетума, а дополнительные деления, приводящие к увеличению их числа, происходят редко, то тип формирования был определен как центробежный, типовая вариация (Shamrov et al., 2019, 2020). Подобный характер развития и строения стенки микроспорангия у других видов цветковых растений был ранее также определен, как центробежный тип, типовая вариация (Teryokhin et al., 2002). Следует отметить, что у видов *Aeonium*, *Sedum* и *Kalanchoe* наличие более 4 слоев (2-слойными могут быть эндотеций или тапетум, либо формируются 2–3 средних слоя) позволило нам описать развитие стенки микроспорангия в рамках компликатной вариации центробежного типа (Shamrov et al., 2019, 2020, 2022).

Из всех исследованных признаков пыльника наиболее контрастными оказались признаки строения клеток эпидермы, эндотеция и тапетума. У видов *Kalanchoe* они касаются локализации

танинов в клетках эпидермы и эндотеция стенки микроспорангия. У *K. laxiflora*, *K. tubiflora* и *K. rosei* танины (заполняют весь протопласт) обнаружены только в некоторых клетках эндотеция. У *K. nyikae* они накапливаются как в клетках эндотеция, так и преимущественно в клетках эпидермы (Anisimova, 2016). У *Sedum kamtschaticum* протопласты клеток эпидермы заполнены танинами, а у *S. palmeri* эти вещества выявляются в виде отдельных, порой немногочисленных, глобул (Anisimova, 2020). У *Aeonium* (*A. balsamiferum* и *A. ciliatum*) танины накапливаются в эпидерме по периферии протопласта клеток (Anisimova, Shamrov, 2022a, b). У видов *Crassula* (наст. иссл.) также наблюдаются оба варианта аккумуляции танинов: у *C. intermedia* по периферии протопласта клеток, а у *C. multicava* и *C. ericoides* протопласты клеток эпидермы полностью заполняются танинами.

Несмотря на то что тапетум у всех изученных нами видов является парietальным, особенности его строения в постмейотический период различаются: у *S. kamtschaticum* происходит реорганизация (вариация 2 – амебоидный тапетум), а у *S. palmeri* тапетум развивается без реорганизации (вариация 1 – типичный парietальный тапетум) (Anisimova, 2020). У обоих изученных видов *Aeonium* выявлена вариация 2 – амебоидный тапетум (Anisimova, Shamrov, 2022a, b). У *Kalanchoe*, вероятно, типичный парietальный тапетум без реорганизации (Anisimova, 2016). У видов *Crassula*

(наст. иссл.) также обнаружен типичный парие- тальный тапетум.

Что касается эндотеция и формирования в нем фиброзных утолщений, то у многих видов, кроме типичного слоя на базе субэпидермы стенки мик- роспорангия возникают дополнительные слои в связнике. У *Aeonium* и *Sedum* формируется коль- цевидный фиброзный слой с внутренней сторо- ны связника в нижней области, где нет срастания пыльника и тычиночной нити. У видов *Crassula* фиброзные утолщения обнаружены также в клет- ках обкладки проводящего пучка связника. Чис- ло слоев клеток с фиброзными утолщениями и их расположение различаются у изученных видов. У *C. ericoides* они располагаются в один слой в ви- де кольца в той части пыльника, которая полно- стью срастается с тычиночной нитью. У *C. inter- media* и *C. multicava* здесь формируются 2–3 слоя. В части пыльника, свободной от тычиночной ни- ти, у *C. ericoides* клетки с фиброзными утолщени- ями формируются только в эндотеции, а у других видов не только в эндотеции, но и в 2–3 ниже- лежащих слоях связника. У видов *Kalanchoe* фиб- розные утолщения выявлены в субэпидермаль- ном и третьем слоях связника только между абак- сиальными микроспорангиями.

Наше исследование подтвердило результаты других авторов о поразительном однообразии и стабильности признаков морфологии пыльцы в сем. Crassulaceae (Hart, 1974; Sin et al., 2002; Gri- gorieva, Britski, 2001; Goncharova, 2006). Пыльце- вые зерна исследованных нами видов из родов *Aeonium*, *Crassula*, *Kalanchoe* и *Sedum* однотипны по строению и являются 3-бороздно-оровыми. Иногда у *Crassula ericoides* они 4-бороздно-оро- вые. Некоторые различия касаются скульптуры пыльцевого зерна. Она струйчатая у *Aeonium* и *Sedum*, бугорчато-ямчатая – у *Kalanchoe*. Однако у *Sedum* секции *Ternata* поверхность пыльцы сетча- тая (Calie, 1981). У *Crassula* выявлена особая фор- ма струйчатой скульптуры поверхности пыльце- вого зерна. Она образована продольными рядами в виде гребней, между которыми выделяются тон- кие струи. Эти структуры особенно хорошо выра- жены у *Crassula multicava* и *C. intermedia*.

По комплексу признаков наибольшее сход- ство в строении пыльника обнаружено между ро- дами *Aeonium* и *Sedum*. К чертам сходства относят- ся следующие: изобилateralный (на попереч- ном 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; поверхность пыльцевого зерна – струйчатая (Ani- simova, Shamrov, 2022a, b).

Как было отмечено в начале статьи, именно наличие возможной филогенетической близости родов *Crassula* и *Kalanchoe* побудило нас провести

исследование пыльника у трех видов рода *Crassu- la*, для того чтобы выявить черты сходства и раз- личия между этими родами.

У видов *Crassula* тычинка имеет короткую ты- чиночную нить, которая в базальной части не срастается с пыльником. К месту прикрепления на цветоложе тычиночная нить уплощается и рас- ширяется. Однако на уровне вхождения в пыль- ник она сужается, принимая цилиндрическую форму. В центре тычиночной нити проходит про- водящий пучок. Связник отличается расположе- нием и строением. Прежде всего, он является эксцентричным и смещен из центрального поло- жения в сторону абаксильных микроспорангиев. Ткани связника не развиваются между адакси- альными микроспорангиями, которые срастают- ся боковыми поверхностями. Специфичным яв- ляется строение пыльника, особенно наличие клеток с фиброзными утолщениями. У видов *Crassula* они обнаружены не только в эндотеции, но и в клетках обкладки проводящего пучка связ- ника. Число слоев клеток с фиброзными утолще- ниями и их расположение различаются у изучен- ных видов. У *C. ericoides* они располагаются в один слой в виде кольца в той части пыльника, которая полностью срастается с тычиночной ни- тью. У *C. intermedia* и *C. multicava* здесь формиру- ются 2–3 слоя. В части пыльника, свободной от тычиночной нити, у *C. ericoides* клетки с фибро- зными утолщениями формируются только в эндо- теции, а у других видов не только в эндотеции, но и в 2–3 нижележащих слоях связника.

У *Kalanchoe* пыльник имеет типичную форму в виде “бабочки”, при этом абаксиальные микро- спорангии больше по размерам адаксиальных и широкой частью обращены наружу цветка. Связ- ник и проводящий пучок располагаются в центре между микроспорангиями. Пыльник почти на всем протяжении срастается с тычиночной ни- тью, которая становится очень короткой в сво- бодной части. Тычиночная нить становится ши- рокой по мере приближения к цветоложу. Пыл- ник характеризуется надсвязником. У видов *Kalanchoe* фиброзные утолщения выявлены в суб- эпидермальном и третьем слоях связника только между абаксиальными микроспорангиями.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При рестриктазном анализе ДНК хлоропла- стов (ген *mat K*) в сем. Crassulaceae выделяются 7 клад, положение которых на древе семейства (от базальных до продвинутых) несколько различает- ся по представлениям разных авторов: *Crassula*, *Telephium*, *Sempervivum*, *Leucosedum*, *Acre*, *Aeo- nium*, *Kalanchoe* (Mort et al., 2010) и *Crassula*, *Ka- lanchoe*, *Telephium*, *Sempervivum*, *Aeonium*, *Leu- cosedum* и *Acre* (Nikulin, Goncharov, 2017).

Проведенное исследование показало, что виды *Crassula* характеризуются рядом уникальных признаков. У них формируется эксцентричный связник, который смещен из центрального положения в сторону абаксильных микроспорангиев, при этом ткани связника не развиваются между адаксиальными микроспорангиями. В отличие от других изученных нами видов сем. Crassulaceae, у которых 2-слойными могут быть эндотений или тапетум, либо формируются 2–3 средних слоя, стенка микроспорангия видов *Crassula* является 4-слойной и включает эпидерму, эндотений, средний слой и тапетум и ее развитие осуществляется в рамках типовой вариации центробежного типа.

С другой стороны, в строении пыльника видов *Crassula* есть признаки, общие с видами *Sedum* (клады *Acre*, *Telephium*) и *Aeonium* (клада *Aeonium*) — наличие клеток с фиброзными утолщениями в части пыльника, свободной от тычиночной нити. Виды *Crassula* имеют также ряд общих черт в строении тычинки и пыльника с видами *Kalanchoe* — тычинка широкая в основании и узкая в месте срастания с пыльником, типичный парietальный тапетум без реорганизации. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что нужны дополнительные исследования и положение клады *Crassula* продолжает оставаться спорным на филогенетическом древе семейства Crassulaceae (Mort et al., 2010).

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 “Адаптивные реакции биологических систем на специфические и неспецифические воздействия факторов внешней среды” (РГПУ им. А.И. Герцена — описание результатов исследования).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [Anisimova] Анисимова Г.М. 2016. Строение пыльника, микроспорогенез и пыльцевое зерно у *Kalanchoe puykai* (Crassulaceae). — Бот. журн. 101 (12): 1378–1389.
- [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. 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, Shamrov] Анисимова Г.М., Шамров И.И. 2022a. Формирование стенки пыльника у *Aeonium balsamiferum* и *A. ciliatum* (Crassulaceae). — Бот. журн. 107 (6): 42–62. <https://doi.org/10.31857/S0006813622060035>
- Anisimova G.M., Shamrov I.I. 2022b. Anther wall formation in *Aeonium balsamiferum* and *A. ciliatum* (Crassulaceae). — Doklady Biological Sciences. 506 (5): 160–171. <https://doi.org/10.1134/S0012496622050027>
- Calie P.J. 1981. Systematic studies in *Sedum* section *Ternata* (Crassulaceae). — Brittonia. 33 (4): 498–507.
- 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.
- [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 & Spores. 16 (4): 373–387.
- 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 Macronesian Sempervivoideae and the phylogenetic position of the East African species of *Aeonium*. — Bot. Acta. 109: 477–491.
- 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. 2010. Phylogeny and evolution of Crassulaceae: past, present, and future. — Schumannia 6. Biodiversity & Ecology. 3: 69–86.
- [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 et al.] 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. 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>
- [Shamrov et al.] Шамров И.И., Бабро А.А., Анисимова Г.М. 2022. Формирование стенки микроспорангия, тычины и формы тапетума у цветковых растений. — В кн.: Материалы V (XXIII) Международной ботанической конференции молодых ученых в Санкт-Петербурге (25–29 апреля 2022 года). СПб. С. 43–45.
- 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 et al.] 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 STRUCTURE IN *CRASSULA ERICOIDES*, *C. INTERMEDIA* AND *C. MULTICAVA* (CRASSULACEAE)

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

^a Komarov Botanical Institute of RAS

Prof. Popov Str., 2, St. Petersburg, 197022, 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 development and structure of the anther wall in *Crassula intermedia*, *C. multicava* and *C. ericoides* was studied for the first time. In the studied species, the presence of basic features of the Crassulaceae family associated with reproduction processes was confirmed. These include: tetrasporangiate anther, parietal tapetum, simultaneous microsporogenesis, predominantly tetrahedral tetrads of microspores, 2-celled and 3-colporate mature pollen grains. The microsporangium wall is 4-layered (epidermis, endothecium, middle layer and tapetum) and its development occurs within a typical variation of the centrifugal type. Tannins accumulate in epidermal cells: in *C. intermedia*, along the periphery of the cell protoplast, and in *C. multicava* and *C. ericoides*, the cell protoplasts are completely filled with tannins. The tapetum develops without reorganization (typical parietal tapetum). The study has shown that *Crassula* species are characterized by a number of unique features. They form an eccentric connective displaced from the central position towards the abaxial microsporangia, while the connective tissue does not develop between the adaxial microsporangia. Fibrous thickenings were found not only in the endothecium cells, but also in the cells around the vascular bundle of the connective tissue. The number of cell layers with fibrous thickenings and their location differ in the studied species. In *C. ericoides*, they are arranged in one layer in the form of a ring in the anther part completely fused with the filament. In *C. intermedia* and *C. multicava*, 2–3 layers are formed there. As regards the anther part free from the filament, in *C. ericoides* cells with fibrous thickenings are formed only in the endothecium, while in other two species not only in the endothecium, but also in 2–3 underlying layers of the connective tissue. In the structure of the stamen and anther of *Crassula* species, there are features common with *Sedum* and *Aeonium* species (the presence of cells with fibrous thickenings in the anther part free from the filament) and *Kalanchoe* (the stamen is wide at the base and narrow at the junction with the anther). Our data indicate that additional studies are needed, and the position of the *Crassula* clade continues to be controversial on the phylogenetic tree of the Crassulaceae family.

Keywords: androecium, anther, microsporangium wall, Crassulaceae, *Crassula*, *Crassula intermedia*, *C. ericoides*, *C. multicava*

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 “Adaptive responses of biological systems to specific and non-specific effects of environmental factors” (Herzen State Pedagogical University of Russia – description of the study results).

The authors are grateful to E.D. Petrova, and E.L. Romanova for valuable advice and assistance in 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. 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. 2022a. Anther wall formation in *Aeonium balsamiferum* and *A. ciliatum* (Crassulaceae). – Bot. Zhurn. 107 (6): 42–62 (In Russ.). <https://doi.org/10.31857/S0006813622060035>.
- Anisimova G.M., Shamrov I.I. 2022b. Anther wall formation in *Aeonium balsamiferum* and *A. ciliatum* (Crassulaceae). – Doklady Biological Sciences. 506 (5): 160–171. <https://doi.org/10.1134/S0012496622050027>.
- Calie P.J. 1981. Systematic studies in *Sedum* section Ternata (Crassulaceae). – Brittonia. 33 (4): 498–507.
- 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.).
- 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, 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 & 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 Macronesian Sempervivoideae and the phylogenetic position of the East African species of *Aeonium*. – Bot. Acta. 109: 477–491.
- 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. 2010. Phylogeny and evolution of Crassulaceae: past, present, and future. – Schumannia 6. Biodiversity & 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., 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/>
- Shamrov I.I., Anisimova G.M., Babro A.A. 2022. Wall microsporangium formation, tapetum types and forms in flowering plants. – In: Proceedings of V (XXIII) International Botanical Conference of Young Scientists in Saint-Petersburg (April 25th–29th, 2022). St. Petersburg. P. 43–45.
- 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>