

## РЕПРОДУКТИВНАЯ БИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 581.33

DOI: 10.36305/0513-1634-2020-136-87-97

ГЕНЕЗИС СТРУКТУР ГЕНЕРАТИВНОЙ СФЕРЫ *PLATYCODON GRANDIFLORUS* (JACQ.) A.DC.

Светлана Васильевна Шевченко

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН, 298648,  
Республика Крым, г. Ялта, пгт Никита, ул. Никитский спуск, 52  
E-mail: shevchenko\_nbs@mail.ru

В статье приведены результаты изучения процессов развития мужских и женских генеративных структур (стенки микроспорангия, спорогенной ткани, семязачатка и зародышевого мешка, микро- и мегаспор, мужского и женского гаметофитов) редкого вида – *Platycodon grandiflorus* (Jacq.) A.DC (семейство Campanulaceae). Определены типы формирования элементов мужской и женской генеративной сферы (двудольный тип формирования стенки микроспорангия, симультанный тип образования тетрады микроспор, 3-клеточные зрелые пыльцевые зерна с 6 порами, Polygonum – тип формирования зародышевого мешка). Установлена высокая жизнеспособность пыльцевых зерен в период опыления и возможность получения полноценных семян при выращивании данного вида в культурфитоценозах Южного берега Крыма.

**Ключевые слова:** *Platycodon grandifloras*; микроспорангий; микроспора; пыльцевое зерно; мегаспорангий; зародышевый мешок; семена.

## Введение

Одной из важнейших проблем современности является сохранение флоразнообразия, в том числе сохранение высоко декоративных и ресурсных растений. К таким ценным декоративным и лекарственным растениям можно отнести представителя семейства Campanulaceae ширококолокольчика крупноцветкового – *Platycodon grandiflorus*, в естественном виде произрастающего в Сибири, на Дальнем Востоке и в северо-западных областях Китая, Кореи и Японии. *Platycodon grandiflorus* – это многолетнее растение, с крупным ярко голубым цветком на верхушке побега и облиственным стеблем [12]. Корень мясистый, редьковидный, содержит млечный сок, благодаря которому растение используется как лекарственное. Вследствие хозяйственного освоения территорий произрастания вида, рекреационной нагрузки, массового сбора на букеты, а также заготовки лекарственного сырья численность вида снижается, в связи с чем он включен в сводку редких и исчезающих видов Амурской области и в ряд региональных Красных книг (Хабаровского края, Читинской области и др.). Благодаря высокой декоративности и с целью его сохранения вид культивируется во многих ботанических садах России (Благовещенск, Воронеж, Москва, Санкт-Петербург, Новосибирск и др.), в Белоруссии, Латвии, странах Средней Азии, а также в коллекции лекарственных растений Никитского ботанического сада - Национального научного центра. В связи с перспективами широкого использования вида в декоративном садоводстве и как лекарственного растения представляется важным знание возможностей выращивания вида в различных регионах страны, определения типа размножения, а также адаптационного потенциала при различных условиях внешней среды. Целью данной работы было выявление особенностей формирования генеративных структур *Platycodon grandiflorus* для определения перспектив использования данного вида в озеленении Южного берега Крыма.

### Объекты и методы исследований

*Platycodon grandiflorus* (Jacq.) A.DC. исследовали общепринятыми методами [5] в парковых фитоценозах Южного берега Крыма (Верхний парк НБС-ННЦ, парк Айвазовского (Партенит), коллекционный участок лекарственных растений НБС-ННЦ). Особенности эмбриологии изучали на постоянных препаратах, приготовленных по общепринятым методикам [10, 11]. Парафиновые срезы толщиной 10-12 мкм готовили на полуавтоматическом ротационном микротоме MRL-3000 (ООО «МедТехникаПоинт», Россия). Препараты окрашивали метилгрюнпиронином с подкраской алциановым синим по разработанной нами методике [16, 17]. Анализ препаратов осуществляли с помощью микроскопов Enamed2 и AxioScopeA.1 (Carl Zeiss, Германия). Микрофотографии сделаны с помощью цифрового фотоаппарата Canon A 550 и системы анализа изображения AxioCamERc5s (Carl Zeiss, Германия).

### Результаты и обсуждение

*Platycodon grandiflorus* (Jacq.) A. DC. – это многолетнее травянистое растение. Стебель с крупным, одиночным цветком на конце и сизоватыми сидячими листьями, от основания восходящий или прямой, сильно облиственный, высотой до 50,0 см [12]. В условиях выращивания на Южном берегу Крыма *P. grandiflorus* цветет с конца июня до конца июля, плодоносит в августе. Цветки обычно верхушечные, чашечка седоватая, с прямыми, заостренными зубцами, венчик ярко голубой с ярко выраженными темными жилками. Встречаются формы с белыми цветками и с двумя кругами лепестков (рис. 1). Венчик крупный, диаметром до 7,0-8,0 см, разделенный на яйцевидные лопасти, значительно превышает размеры венчика колокольчиков (рис. 2).



Рис. 1 Общий вид растений *Platycodon grandiflorus*: А – форма с голубыми цветками, Б – форма с белыми цветками, В – форма с двумя кругами лепестков



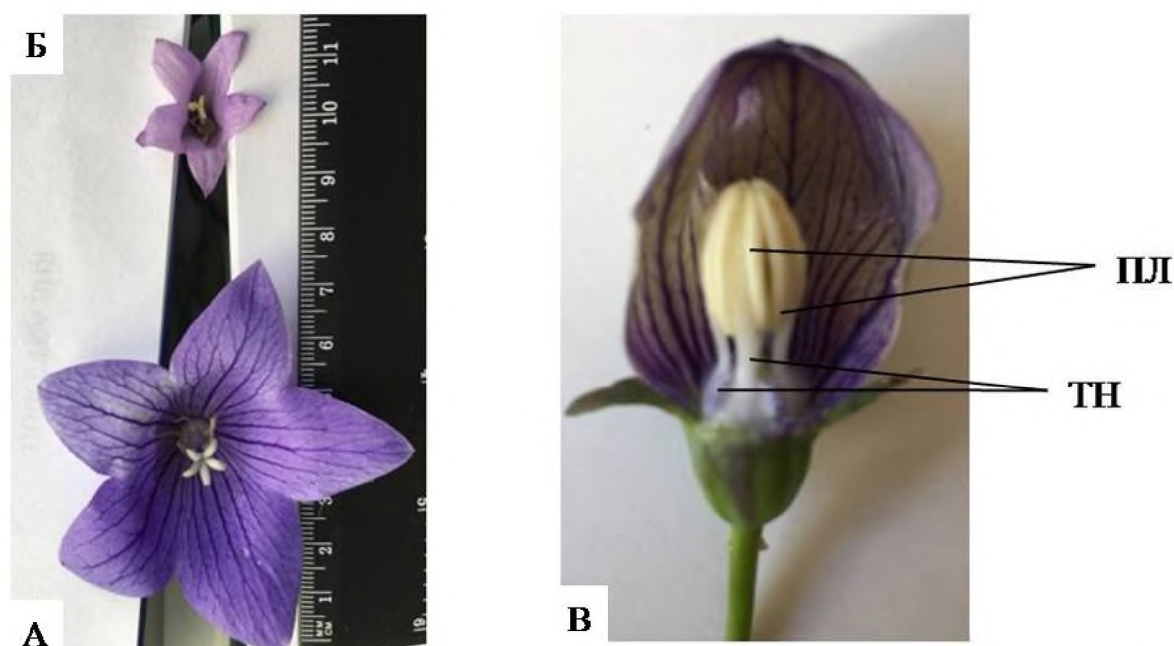


Рис. 2 Цветки *Platycodon grandiflorus* (А) и *Campanula pratensis* (Б), бутон *Platycodon grandiflorus* с частично удаленным венчиком (В) (ПЛ – пыльники, ТН – тычиночные нити)

Яркая окраска цветка *P. grandiflorus* и его размеры, значительно превышающие цветки других представителей семейства Campanulaceae (многие виды рода *Campanula*, *Adenophora*), привлекают различных насекомых.

Следует отметить, что *P. grandiflorus* очень красив не только в период цветения, но и в период бутонизации, поскольку бутоны его тоже окрашены и имеют необычную форму, напоминающую китайские фонарики (рис. 3).



Рис. 3 Цветки *Platycodon grandiflorus* на стадии бутонизации

Андроцей *P. grandiflorus* представлен 5 прямыми, равными тычинками, прикрепленными к основанию нектарного диска, и в закрытом бутоне плотно охватывающими столбик пестика. Тычиночные нити в два раза короче пыльников, имеют расширенные и опушенные основания, которые, как у колокольчиков и аденофоры [8, 18], смыкаясь, образуют купол с небольшими отверстиями,

способствующими насекомым достичь нектарный диск. Пыльник 4-гнездный, 2-тековый, стенка микроспorangия развивается по двудольному типу, и сформированная состоит из эпидермы, эндотеция, 3 средних слоев и однослойного секреторного тапетума. Сначала в субэпидермальном слое меристематического бугорка одна из инициальных, по определению И.И. Шамрова, (2008) или стловых (по определению Т.Б. Батыгиной (2014), клеток дифференцируется в археспорий, в результате деления которой образуются спорогенная и париетальная клетки. Дальнейшее развитие париетального слоя формирует стенку микроспorangия, что еще раз подтверждает мнение Т.Б. Батыгиной с соавторами (1963) о париетальном происхождении стенки микроспorangия и соответствует первой стадии ее формирования (по классификации И.И. Шамрова) [14]. Как и у многих других колокольчиковых [3, 4, 7, 8] в каждом из гнезд пыльника развивается плацентиоид (рис. 4). Спорогенная ткань обычно представлена 2-3 рядами клеток, иногда формируется только один ряд. Ко времени мейоза ряд клеток среднего слоя, примыкающий к тапетуму, дегенерирует, клетки тапетума вытягиваются радиально к центру микроспorangия, а клетки спорогенной ткани начинают обособляться. Следует заметить, что тапетум у *P. grandiflorus* имеет двойное происхождение – в стенке микроспorangия он образуется из париетальной ткани, а со стороны связника – из клеток паренхимы, клетки его значительно крупнее клеток тапетума в стенке микроспorangия (рис. 4).

Результатом мейоза является образование 4-ядерного ценоцита, на основе которого после цитокинеза возникают тетрады микроспор симультанного типа. На стадии дифференцирующего митоза стенка микроспorangия состоит из эпидермы, эндотеция, 2 средних слоев со сплюснутыми клетками, при этом в клетках тапетума наблюдается деструкция, значительно уменьшается количество цитоплазмы и увеличивается вакуоль, которая занимает большую часть клеток, цитоплазма ее с ядром смещаются к центру микроспorangия (рис. 4 Б). Стенка зрелого пыльника *P. grandiflorus* представлена сплюснутыми клетками эпидермы, покрытой толстой кутикулой, двуслойным, иногда трехслойным фиброзным эндотецием и остатками тапетума (рис. 5).

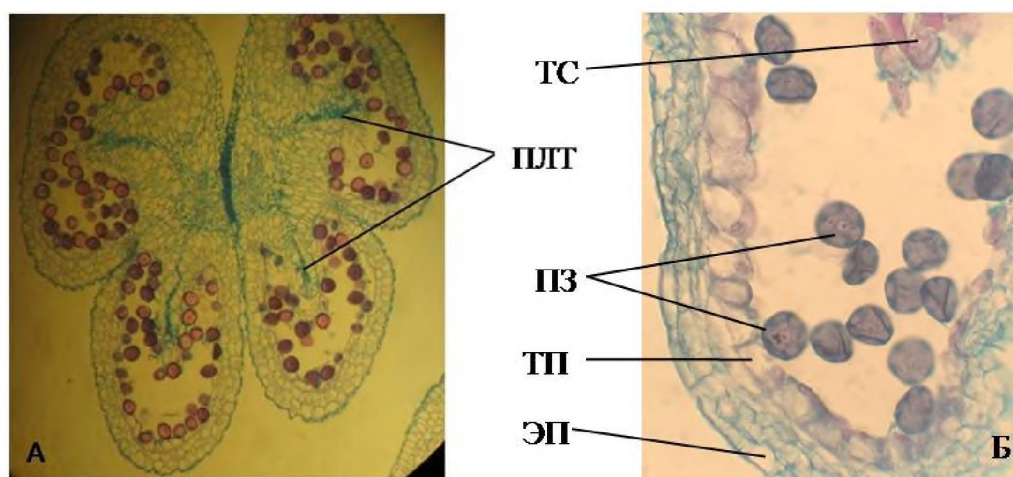


Рис. 4 Поперечный срез пыльника (А) и гнезда микроспorangия (Б) *Platycodon grandiflorus* (ПЛТ – плацентиоид, Т С – тапетум паренхимного происхождения, ЭП – эпидерма, Т П – тапетум париетального происхождения, СС – средние слои, Э – эндотеций)

Образовавшиеся в результате дифференцирующего митоза пыльцевые зерна *P. grandiflorus* крупные с ядром вегетативной клетки и генеративной клеткой в центре. Спермиогенез с образованием двух спермиев проходит в пыльцевом зерне. В период



опыления пыльцевые зерна 3-х клеточные, 25,0-30,0 мкм в диаметре, 6-бороздно-оровые, с очень малым количеством аномальных пыльцевых зерен (рис. 6). В отличие от этого Н.А. Жинкиной и Е.Е. Евдокимовой (2020) указано, что при выращивании данного вида в условиях Ботанического сада Петра Великого Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН формируется 2-клеточная пыльца со значительным количеством аномалий. Следует отметить, что у многих видов семейства Campanulaceae пыльцевые зерна 2-клеточные и 3-поровые [6, 19].

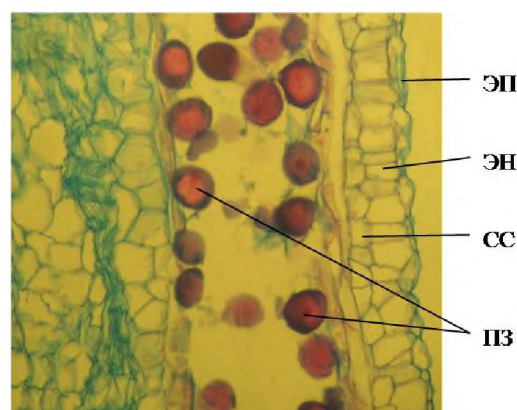


Рис. 5 Фрагмент микроспорангия *P. grandiflorus* на стадии 2-клеточных пыльцевых зёрен

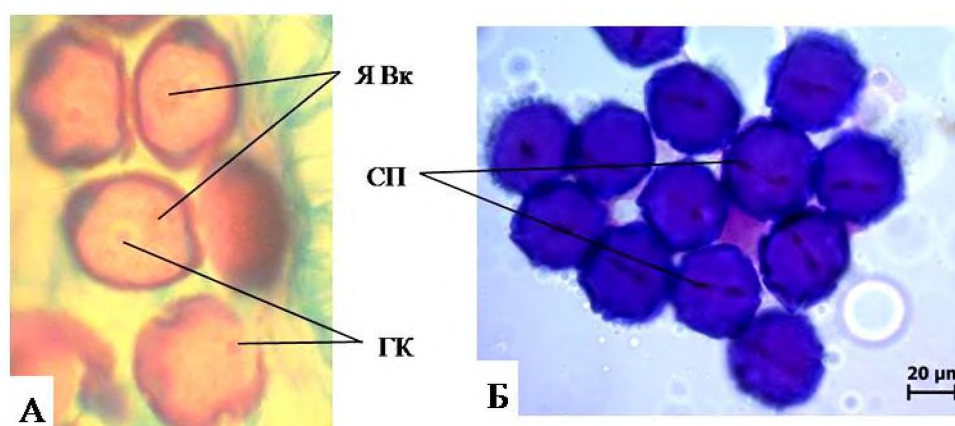
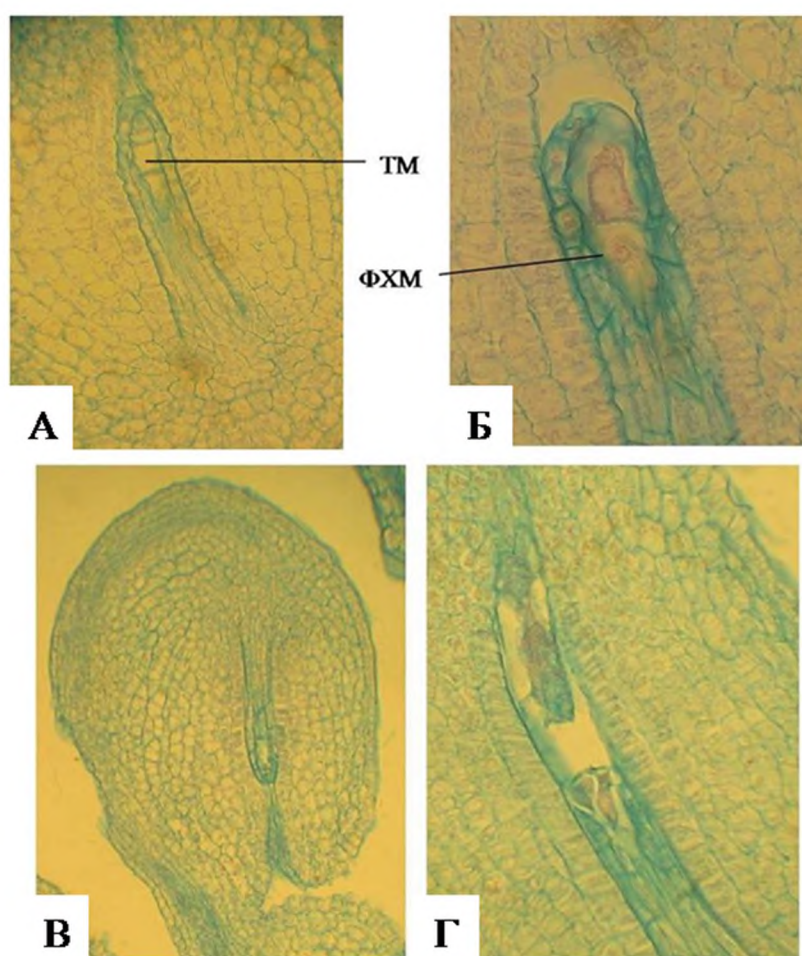


Рис. 6 Общий вид пыльцевых зерен *P. grandiflorus* на разных стадиях развития: А – на стадии 2 клеточных пыльцевых зерен, Б – на стадии 3 клеточных пыльцевых зерен; (ЯВк – ядро вегетативной клетки, ГК – генеративная клетка, СП – спермии)

Завязь *Platycodon grandiflorus* полунижняя, 5-гнездная, с множеством семязачатков, которые даже в одном гнезде развиваются асинхронно – одновременно можно наблюдать в гнезде семязачаток на стадии мегаспороцита и с тетрадой мегаспор. Семязачаток анатропный, унитегмальный, тенуинуцеллярный, по определению И.И. Шамрова, это медионуцеллярный тип семязачатка [15, 13]. Фуникулус короткий, имеются фуникулярный и плацентарный обтураторы – структуры секреторного типа, представленные одним рядом радиально вытянутых эпидермальных клеток. Плацентарный обтуратор расположен напротив микропиле и его клетки направлены к микропиле. Микропиле прямое, узкое, длинное. В результате срастания фуникулуса и интегумента образуется рафе. Сосудистый пучок доходит до халазы, формируется

интегументальный тапетум. Нуцеллус представлен только слоем эпидермы. Археспориальная клетка расположена в субэпидермальном слое и непосредственно преобразуется в мегаспороцит (рис. 7). В результате мейоза формируется обычно линейная тетрада мегаспор, хотя иногда встречаются и Т-образные тетрады. Зародышевый мешок чаще всего развивается из халазальной мегаспоры, изредка - из микропилярной или эпихалазальной. На стадии мейоза в семязачатке непосредственно под зародышевым мешком четко выражены 4 ряда удлиненных таблитчатых клеток гипостазы с утолщенными оболочками (рис. 7).

Зародышевый мешок удлинённый, 7-клеточный, яйцевой аппарат представлен яйцеклеткой и двумя синергидами с крючковидными отростками и нитчатым аппаратом. Микропилярная зона синергид расширена, в ней расположены ядра, халазальная зона удлинённая, зауженная. Полярные ядра расположены примерно в середине центральной клетки зародышевого мешка, сливаются до оплодотворения.



**Рис. 7** Некоторые этапы формирования женской генеративной сферы *Platycodon grandiflorus*: А и Б – фрагменты семязачатка на стадии тетрады мегаспор; В – общий вид семязачатка; Г – общий вид зародышевого мешка; (ТМ – тетрада мегаспор; ФХМ – функционирующая халазальная мегаспора)

Антиподы состоят из 3 клеток, сохраняются довольно долго, дегенерируют после оплодотворения, их можно наблюдать после первого деления эндосперма. В условиях выращивания на Южном берегу Крыма *P. grandiflorus* цветет с конца июня до конца июля, плодоносит в августе. Яркая окраска цветка и его размеры, значительно



превышающие цветки других представителей семейства Campanulaceae (многие виды рода *Campanula*, *Adenophora*), привлекают различных насекомых.

Нектарник у данного вида внутрицветковый, расположен над завязью в виде диска. Пыльники вскрываются в закрытом цветке интрорзно, пестик в это время еще недоразвит и по мере его роста имеющиеся на пестике волоски снимают пыльцу из пыльников и выносят ее к верхушке цветка, некоторая часть пыльцы остается на насекомом. Насекомое, перелетая с одного цветка на другой, при движении к нектарному диску задевает раскрытые лопасти рыльца пестика. При этом оно оставляет пыльцу, находящуюся на его теле, и таким образом осуществляет опыление. То есть, *P. grandiflorus* относится к энтомофильным растениям, в полностью раскрытом цветке лопасти рыльца развернуты, а высохшие к этому времени пыльники завернуты вниз, что исключает возможность автогении и способствует аллогении (рис. 8).

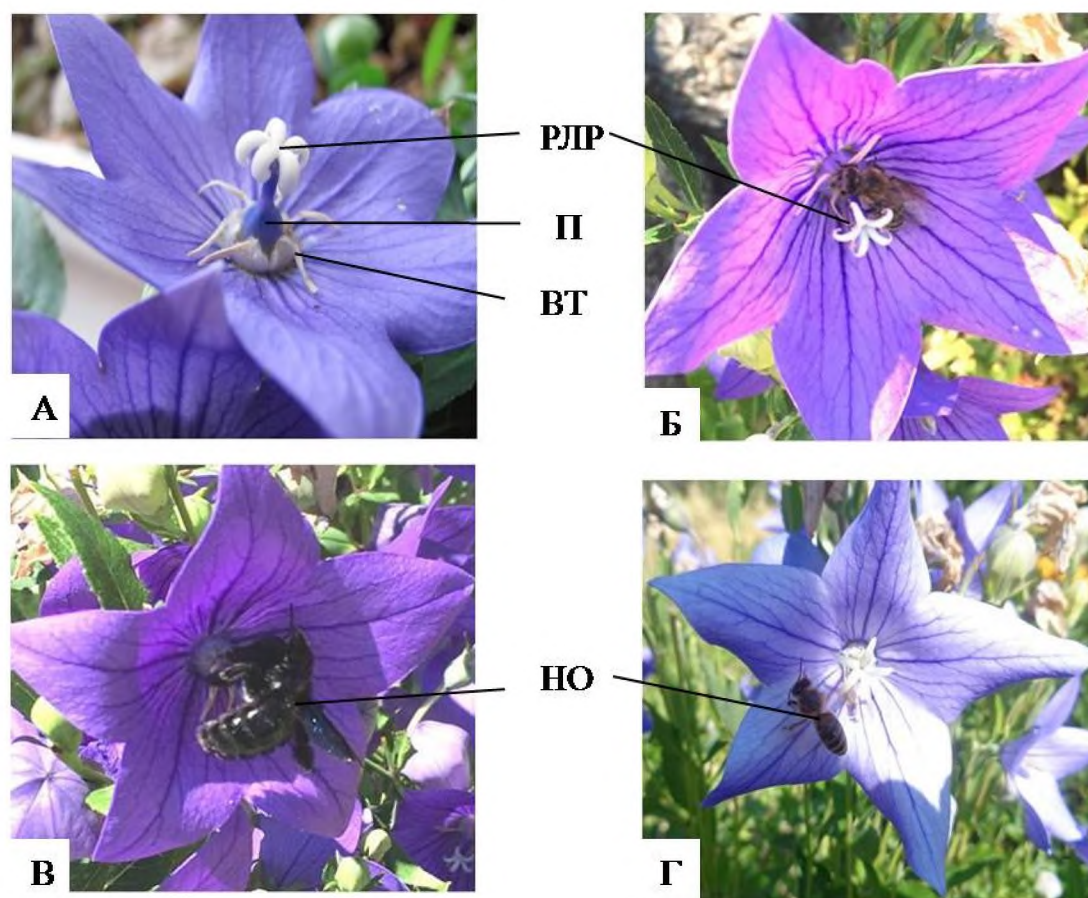


Рис. 8 Раскрытые цветки *Platycodon grandiflorus*: А – цветок с развернутыми лопастями рыльца (РЛР); Б, В и Г – цветки в период опыления с разными насекомыми-опылителями (П – пестик, ВТ – высохшие тычинки, НО – насекомые-опылители)

Эффективные процессы опыления и оплодотворения *Platycodon grandiflorus* обеспечивают развитие зародыша и эндосперма. Как и у некоторых видов колокольчиков [3, 9], эндосperm клеточный, первое деление его поперечное, с образованием двух клеток, последующее развитие которых приводит к образованию микропилярного и халазального гаусториев и в центральной части – собственно эндосперма. Микропилярный гаусторий обычно одноклеточный с крупным ядром и ядрышком, халазальный гаусторий двуклеточный (рис. 10, 11).

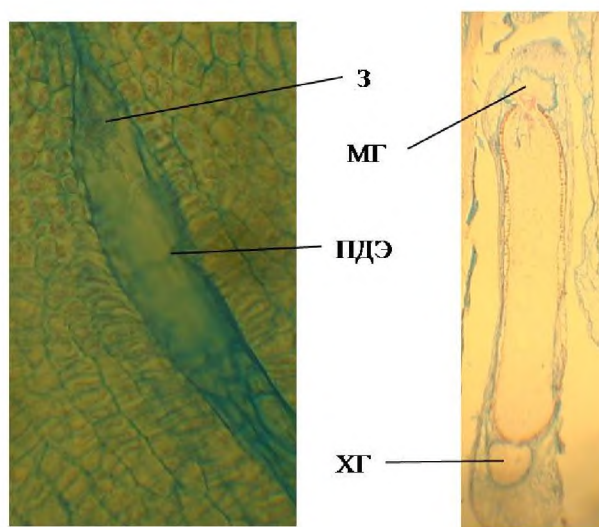


Рис. 9 Зигота (З), первое деление эндосперма (ПДЭ) и фрагмент семени *Platycodon grandiflorus* (МГ – микропилярный гаусторий, ХГ – халазальный гаусторий)

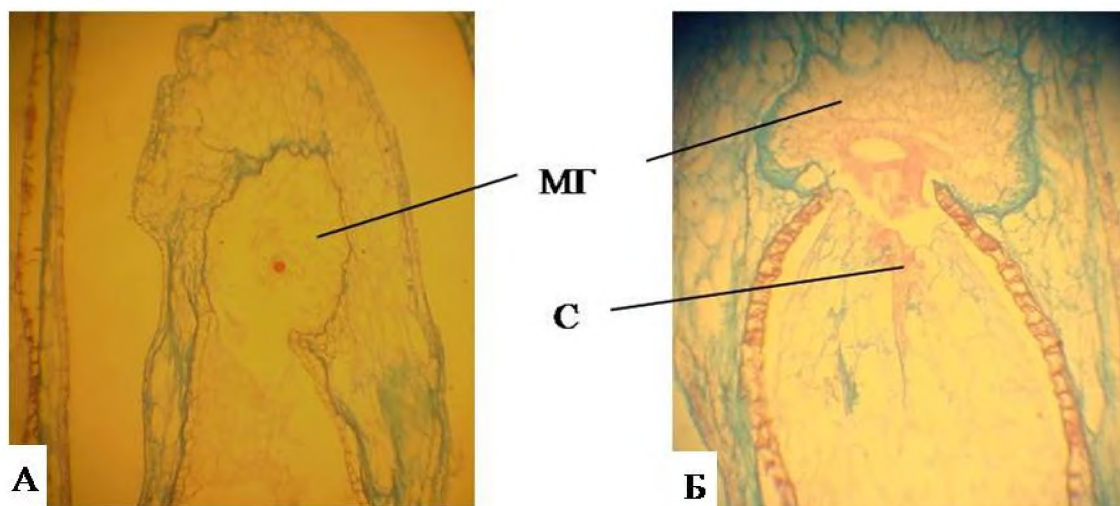


Рис. 10 Фрагменты семени *Platycodon grandiflorus* с эндоспермальным гаусторием (С – суспензор) (А – фрагмент микропилярной части семени с одноядерным гаусторием; Б – фрагмент микропилярной части семени с гаусторием и суспензором зародыша)

Оплодотворение у *P. grandiflorus* премитотического типа, после оплодотворения сначала делится ядро эндосперма, а зигота постепенно за счет деления базальной клетки и образования однорядного суспензора внедряется вглубь центральной клетки. Первые деления зиготы поперечные, и образующаяся тетрада клеток проэмбрио линейная, как и у других видов семейства Campanulaceae. В построении собственно зародыша принимают участие как базальная, так и апикальная клетки. Черты



формирования зародыша позволяют охарактеризовать его как Solanad-тип. Зрелый зародыш прямой, дифференцирован на органы (2 семядоли, апекс побега, гипокотиль и зародышевый корень), крупный и занимает 2/3 длины семени.

Образующийся плод – прямая, яйцевидная, вверх направленная коробочка с пятью отверстиями наверху для рассеивания семян (рис. 11). В условиях выращивания на Южном берегу Крыма семян формируется много, их жизнеспособность после стратификации в холодильнике течение месяца составляет около 95,0% (рис. 12), в отличие от Ботанического сада Петра Великого Ботанического института им. В.Л. Комарова, где семена *P. grandiflorus* не завязываются совсем [4].



Рис. 11 Фрагмент побега *P. grandiflorus* с плодами (А), коробочки с семенами (Б) и семена (В)

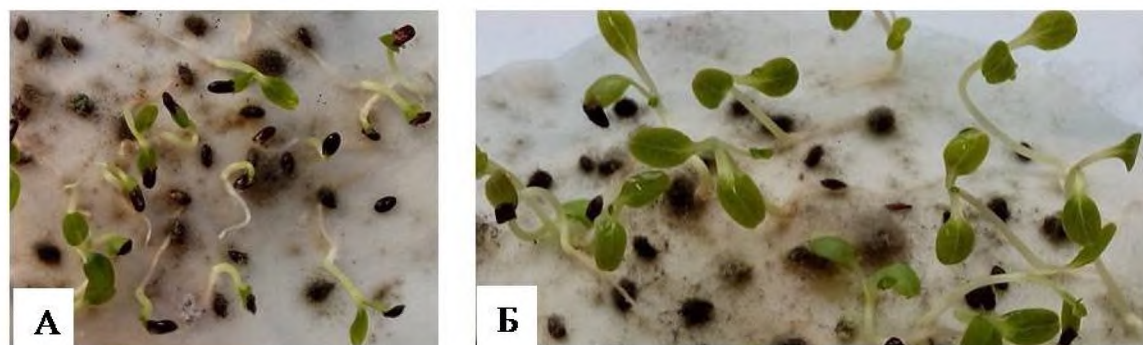


Рис. 12 Прорастание семян *P. grandiflorus* через 12 (А) и через 21 сут после посева

Сравнивая особенности формирования генеративных структур *P. grandiflorus* при выращивании его в разных регионах следует отметить у них черты сходства и различий. У *P. grandiflorus*, выращиваемого на Южном берегу Крыма, спорогенная ткань микроспорангия чаще всего 3-слойная и только изредка однослойная. При выращивании вида в Ботаническом саду Петра Великого БИН РАН в эндотеции отсутствуют фиброзные утолщения [4], в условиях ЮБК формируется эндотеций с фиброзными утолщениями, и в период опыления пыльцевые зерна 3-клеточные, 6-бороздно-оровые с незначительным количеством аномальных. Эффективные процессы

опыления, оплодотворения и последующего развития приводят к образованию большого количества полноценных жизнеспособных семян.

### Выводы

Таким образом, *P. grandiflorus* обладает основными чертами генеративных структур, которые характерны для многих представителей семейства Campanulaceae (двудольный тип формирования стенки микроспорангия, Polygonum-тип формирования зародышевого мешка, клеточный с гаусториями эндосперм, Solanad-тип эмбриогенеза). Однако вид имеет некоторые специфические черты, выделяющие его на фоне других: размеры цветка, форма и окрас бутонов, пятигнездную завязь и рыльце пестика с пятью лопастями в отличие от видов рода *Campanula* с трехгнездной завязью и трехлопастным рыльцем, крупные 3-клеточные шести бороздно-оровые пыльцевые зерна. Незначительное количество аномальных пыльцевых зерен в общей массе пыльцы в период опыления позволяет предположить высокую жизнеспособность и оплодотворяющую способность мужских генеративных структур. Формирование большой доли полноценных семян в общей их массе свидетельствует о высоком репродуктивном потенциале *P. grandiflorus*, возможности его семенного размножения и использования в озеленении парков Южного берега Крыма.

*Работа выполнена в рамках НИР №0829-2019-0039*

### Список литературы

1. Батыгина Т.Б. Биология развития растений. Симфония жизни. – Санкт-Петербург: Издательство: ДЕАН. – 2014. – 764 с.
2. Батыгина Т.Б., Терехин Э.С., Алимова Г.К., Яковлев М.С. Генезис мужских спорангиев Gramineae и Ericaceae. – Бот. журн. – 1963. – Вып. 48 (8). – С. 1108-1120.
3. Жинкина Н.А. Сравнительная эмбриология представителей семейства Campanulaceae: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Санкт-Петербург. – 1995. – 17 с.
4. Жинкина Н.А., Е.Е. Евдокимова. Развитие пыльника у *Platycodon grandiflorus* (Campanulaceae) // Бот. журн. – 2020. – Т. 105. – №3. – С. 300-309.
5. Исиков В.П. Интродукция и селекция ароматических и лекарственных культур: методологические и методические аспекты / В.П. Исиков, В.Д. Работягов, Л.А. Хлыпенко, И.Е. Логвиненко, Л.А. Логвиненко, С.П. Кутько, Н.Н. Бакова, Н.В. Марко. – Ялта: НБС-ННЦ, 2009. – 110 с.
6. Камелина О.П. Систематическая эмбриология цветковых растений. Двудольные. – Барнаул: Изд-во «Артика». – 2009. – 501 с.
7. Камелина О.П., Жинкина Н.А. К эмбриологии *Ostrowskia magnifica* (Campanulaceae). Развитие мужских эмбриональных структур. – Бот. журн. – 1989. – Вып. 74 (1). – С.1293-1301.
8. Мирошниченко Н.Н. Особенности репродуктивной биологии некоторых видов рода *Campanula* L. Сборник научных трудов Гос. Никит. ботан. сада. – 2014. – Вып.139. – С. 136-146.
9. Мирошниченко Н.Н. Особенности развития и размножения *Campanula talievii* Juz. в Крыму // Бюлл. Гос. Никит. ботан. сада. – 2019. – Вып. 130. – С. 141-148.
10. Паушева З. Практикум по цитологии растений. – М.: Колос. – 1990. – 283 с.
11. Ромейс Б. Микроскопическая техника. – М.: Изд-во иностр. лит-ры. – 1954. – 718 с.
12. Федоров А. А. Семейство Колокольчиковые – Campanulaceae / Флора СССР. В 30 т / Начато при рук. и под главн. редакцией акад.В. Л. Комарова; Ред. тома Б. К.Шишкин и Е. Г. Бобров. – М., Л.:Изд-во АН СССР. – 1957. – Т. XXIV. – С.126-450.



13. Шамров И.И. Семязачаток цветковых растений: строение, функции, происхождение / Под ред. Т.Б. Батыгиной. Товарищество научных изданий КМК: – Москва, 2008. – 350 с.

14. Шамров И.И., Анисимова Г.М., Бабро А.А. Формирование стенки микроспорангия пыльника и типизация тапетума покрытосеменных растений // Бот. журн. – 2019. – Т. 104. – №7. – С. 1001-1032.

15. Шамров И.И., Жинкина Н.А. Развитие семязачатка у *Azorina vidalii* (Campanulaceae) // Бот. журн. 1994. – Т. 79. – №6. – С. 19-34.

16. Шевченко С.В., Ругузов И.А., Ефремова Л.М. Методика окраски постоянных препаратов метиловым зеленым и пиронином // Бюлл. Гос. Никит. ботан. сада. – 1986. – Вып. 60. – С. 99-101.

17. Шевченко С.В., Чеботарь А.А. Особенности эмбриологии маслины европейской (*Olea europaea*) // Сборник трудов Никитского ботанического сада: Цитолого-эмбриологические исследования высших растений. – 1992. – Т. 113. – С. 52-61. – С. 52-61.

18. Шевченко С.В., Крайнюк Е.С. Биология развития и распространение *Adenophora taurica* в Крыму // Ботанический журн. – 2019. – Т. 104. – №8. – С. 47-56.

19. Шевченко С.В., Мирошниченко Н.Н. Антэкологические аспекты репродуктивного процесса некоторых видов рода *Campanula* L. // Бюлл. Гос. Никит. ботан. сада. – 2013. – Вып. 109. – С. 69-79.

*Статья поступила в редакцию 01.07.2020 г.*

**Shevchenko S.V. Genesis of the generative structures *Platycodon grandiflorus* (family Campanulaceae) // Bull. Of the State Nikita Botan. Gard. – 2020. – №136. – P. 87-97.**

The article presents the research results of the genesis of the elements of the microsporangium wall, sporogenous tissue, microspores, megaspores, male and female gametophytes of the *Platycodon grandiflorus*. The types of formation of the structures mail generative sphere (dicotyledonous type of microsporangium wall formation, simultaneous type of the tetrad microspores development, 3-cells of the pollen grains with 6-th pores, Polygonum – type of the formation embryo sac) have been established. A high viability of pollen grains was established during pollination and possibility of obtaining complete seeds when growing this species in the conditions of the Southern Coast of the Crimea.

**Key words:** *Platycodon grandiflorus*; microsporangium; microspore; male gametophyte; pollen grains; female gametophyte; embryo sac; seeds.