

## БОТАНИКА

УДК 582.493:581.45:581.821

А. А. Паутов, Я. О. Пагода

### РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АБОРТИРОВАННЫХ УСТЬИЦ В ЭПИДЕРМЕ ЛИСТА *GNETUM GNEMON* (GNETACEAE)

Интерес к порядку Gnetales обусловлен наличием у его представителей анатомических, морфологических и физиологических особенностей, сходных с таковыми у цветковых растений. В качестве наиболее известных называют сосуды, «двойное оплодотворение» (для родов *Ephedra* и *Gnetum*), а также лист с широкой пластинкой и сетчатым жилкованием (для рода *Gnetum*) [1–4]. Это позволяет ряду авторов рассматривать Gnetales в качестве исходной или сестринской группы для Angiospermae [5–7]. Анатомическим исследованиям листьев представителей рода *Gnetum* посвящено большое число работ. Приведенные в них данные наглядно свидетельствуют о том, что по своему строению листья *Gnetum* и многих двудольных растений сходны [2–11]. Есть и различия, которые проявляются, например, в отсутствии равномерного расположения одиночных устьиц в эпидерме у представителей рода *Gnetum*, и в наличии значительного числа аномальных устьиц. Последние обнаружены в семядолях и сформированных листьях *G. gnemon*, *G. montanum* и *G. ula* [2, 9]. Наиболее массово встречаются не завершившие дифференциацию abortированные устьица. Они представляют собой пары клеток, соответствующие по величине сформированным устьицам. Отличия заключаются в отсутствии между этими клетками устьичной щели, а также в иной их форме. Доля abortированных устьиц может составлять до 34% от общего числа устьиц в ткани [11].

Известно, что формирование устьиц в листовой пластинке начинается вблизи кончика листа и продолжается к его основанию. Данная работа посвящена изучению распределения abortированных устьиц в пределах листовой пластинки *G. gnemon*, закономерный характер которого мог бы косвенно свидетельствовать о приуроченности устьиц с прерванным развитием к определенным этапам морфогенеза листа.

*G. gnemon* — вечнозеленое дерево до 10–15 м в высоту — представитель флоры тропических дождевых лесов и тропических лесов нижнего горного пояса. Он распространен в Юго-Восточной Азии (от Северо-Восточной Индии до Индонезии и Китая, а также островов Океании) [12]. Его жизненная форма, особенности семян, примитивное

---

Паутов Анатолий Александрович — доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой, Санкт-Петербургский государственный университет; e-mail: pautov@bio.pu.ru

Пагода Янина Олеговна — магистр, Санкт-Петербургский государственный университет; e-mail: ianinapagoda@gmail.com

© А. А. Паутов, Я. О. Пагода, 2013

строение покровов семязачатка и строение пыльцы указывают, по мнению части исследователей, на архаичность и таксономическую изолированность *G. gneton* в роде и его возможную близость к предкам цветковых растений [4, 13, 14–16]. В то же время авторы работ [17, 18], исследовавшие систематику рода *Gnetum* с помощью молекулярных методов, полагают, что *G. gneton* не является прямым предком представителей всех основных клад внутри рода, не отрицая при этом его архаичности по сравнению с ними.

### Материал и методика исследования

Изучено строение эпидермы разных участков пластинки закончивших рост листьев *Gnetum gneton*, а также корреляции между ее признаками. Материал собран в 2009–2011 гг. в оранжерее ботанического сада Ботанического института им. В.Л.Комарова (БИН РАН, Санкт-Петербург). Фиксация материала (70%-ный спирт) и изготовление препаратов проведены по традиционным методикам [19]. Фрагменты эпидермы взяты из семи разных частей пластинки (рис. 1). Препараты изготовлены по методу Шульца. В качестве красителя использован сафранин. Просмотр и фотографирование препаратов, а также измерение признаков осуществлены с помощью бинокля Leica EZ4, микроскопов Leica DM500, Leica DM1000 и цифровой фотокамеры Leica EC3.

Строение поверхности листьев из средней части пластинки изучено на сканирующем электронном микроскопе JSM-6390LA. Объекты исследования обезживали в серии спиртов, проводили через смесь изоамилацетата со спиртом и чистый изоамилацетат. Затем образцы высушивали при критической точке жидкой углекислоты. Сухие объекты наклеивали на столики, напыляли золотом и изучали в микроскопе.

Объем выборки составил 42 фрагмента из шести листьев. Оценено восемь признаков строения. Качественная оценка степени их проявления дана по схеме из работы [20]. Описание эпидермы проведено в соответствии с терминологией из работ [2, 21, 22].

Для определения характера связей между признаками использованы анализ парных корреляций и компонентный [23, 24]. После предварительной работы со всеми изученными признаками были отобраны наиболее информативные показатели, которые представлены в данной статье.

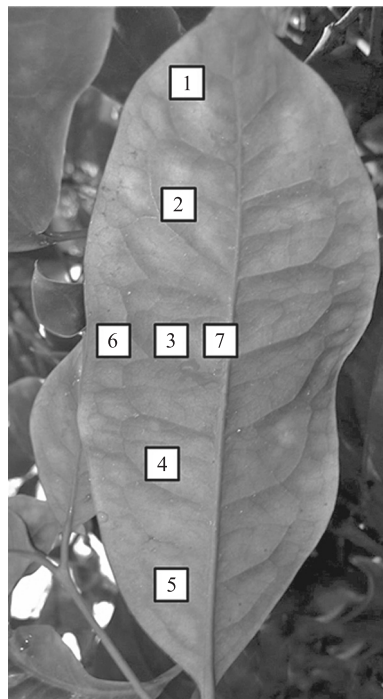


Рис. 1. Положение участков, на которых было изучено строение эпидермы пластинки листа *G. gneton*

Отбор материала по листу. Участки 1–5 — в средней части полу-пластинки на расстоянии 10, 25, 50, 75, 90% от верхушки; участки 6 и 7 — в средней части пластинки возле главной жилки и края пластинки.

## Результаты исследования и их обсуждения

Покровная ткань листа *G. gneton* однослойная. Верхняя эпидерма очень мелко-клеточная (число клеток на  $1 \text{ мм}^2 \sim 3100$ ), нижнюю эпидерму слагают клетки средних размеров ( $\sim 2000$  клеток на  $1 \text{ мм}^2$ ) (рис. 2, 1, 2). Проекции основных клеток верхней эпидермы распланные, вытянутые; нижней — распланные, вытянутые, прямоугольные. Их очертания в верхней эпидерме крупноволнистые, в нижней — крупноволнистые, извилистые, извилисто-волнистые.

Листья чаще гипостоматные. На единице поверхности нижней эпидермы насчитывается среднее число устьиц ( $\sim 200$  на  $1 \text{ мм}^2$ ). Устьичный индекс мал ( $\sim 6\%$ ). Устьица расположены ниже поверхности эпидермы.

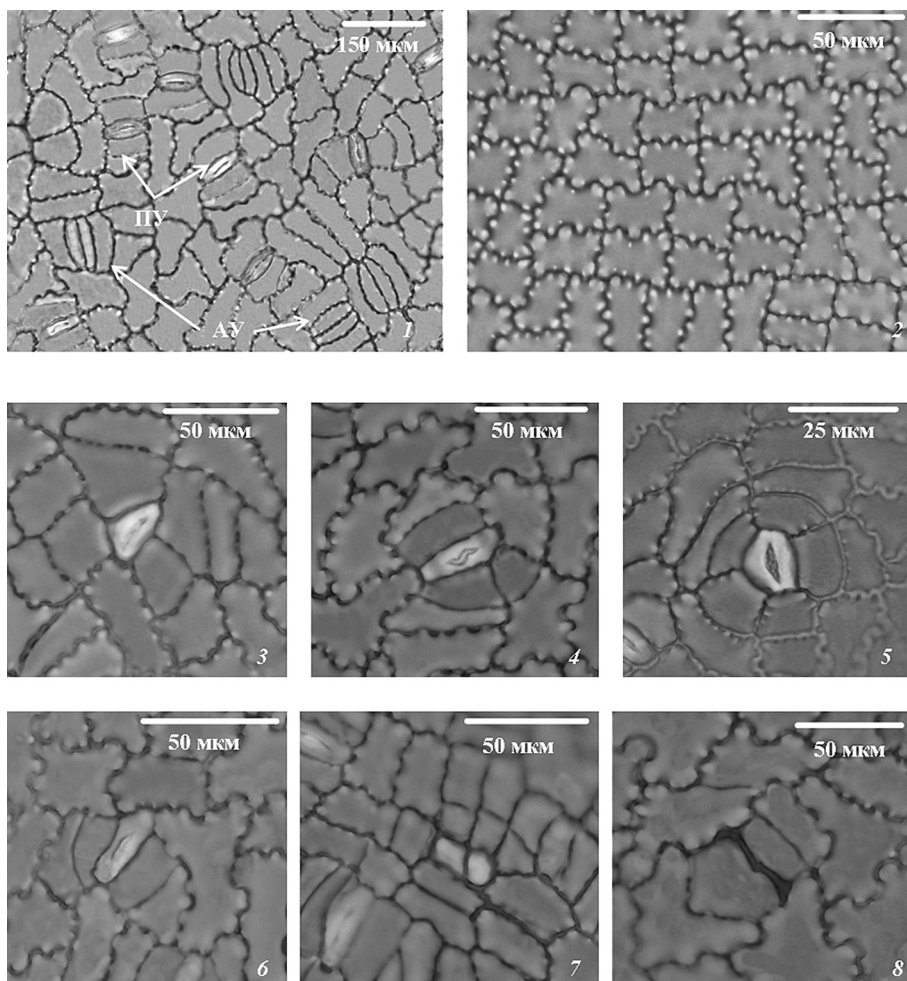


Рис. 2. Строение эпидермы пластинки листа *G. gneton*:

1, 2 — внешний вид нижней (1) и верхней (2) эпидермы; 3–6 — типы устьиц: аномоцитный (3), латероцитный (4), энциклоцитный (5), переходный тип между пара- и аномоцитным устьицами (6); 7 — группы клеток; 8 — абортированное устьице с утолщенной клеточной стенкой вместо апертуры. АУ — абортированные устьица; ПУ — парацичные устьица.

Гетеростоматность листьев проявляется в наличии четырех четких типов устьичных аппаратов (парацитного, латероцитного, энциклоцитного и аномоцитного), а также разнообразных переходных вариантов (рис. 2, 1, 3–6). В ткани встречаются группы устьиц с разной ориентацией апертур, описанные в работе [2]. Отмечены также двойные (парные) устьица, четыре замыкающие клетки которых ориентированы параллельно и непосредственно примыкают друг к другу. Доля последних в спектре стоматотипов не превышает 0,6%.

Изучение спектров стоматотипов в разных частях листовой пластинки *G. gnemon* показало преобладание парацитного типа в каждой из них (65–78%). Остальные типы представлены значительно реже: латероцитный — 4–7%, переходный — 2,4–4%, аномоцитный — 0,2–1%, энциклоцитный — 0–0,3% (табл. 1).

Таблица 1. Спектры стоматотипов в нижней эпидерме разных участков листовой пластинки *G. gnemon*

Тип устьиц	1	2	3	4	5	6	7	М
парацитный	68,7	77,7	73,8	70,7	69,9	71,4	65,4	71,1
латероцитный	5,8	5,2	4,7	6,4	3,9	4,7	7,0	5,4
энциклоцитный	0,2	0	0	0	0	0	0,3	0,06
аномоцитный	1,0	0,4	0,8	0,7	0,2	0,8	0,7	0,7
переходный	3,1	2,8	3,9	3,7	3,6	3,9	2,4	3,3
двойной	0,4	0,4	0,4	0,1	0,1	0,6	0	0,3
абортированный	20,7	13,5	16,5	18,4	22,2	18,6	24,3	19,2

Примечание. Цифры в верхней строке соответствуют участкам эпидермы на рис. 1. М — усредненный показатель числа устьиц разных типов (среднее арифметическое).

На долю abortированных устьиц приходится от 13,5 до 24%. Их проекция вытянутая с сужением и закруглением на полюсах либо прямоугольная, а очертания прямолинейные, реже слегка извилисто-волнистые (см. рис. 2, 1). В некоторых парах может быть дифференцирована одна из замыкающих клеток [11]. У части abortированных устьиц стенка на месте необразовавшейся устьичной щели сильно утолщена (рис. 2, 8). Обнаружены также группы мелких клеток овальной формы (рис. 2, 7). Не исключено, что они являются остатками трихом, отвалившихся на ранних этапах морфогенеза листа.

Значительного изменения доли abortированных устьиц от общего их числа в ткани на разных участках пластинки не обнаружено (рис. 3).

Использование факторного анализа позволило выявить четыре

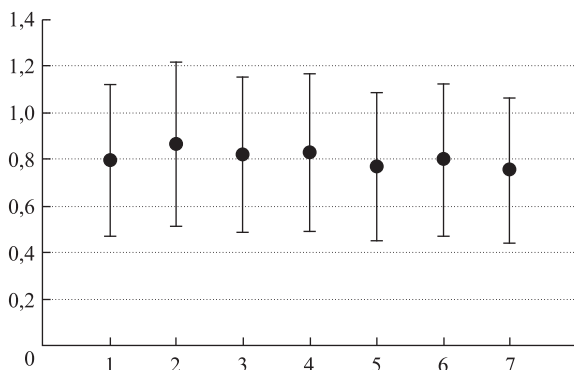


Рис. 3. Доля дифференцированных устьиц от общего их числа в ткани на разных участках пластинки листа *G. gnemon*

По оси абсцисс — номера участков, соответствующие таковым на рис. 1.

Таблица 2. Факторная структура изменчивости признаков строения эпидермы листьев *G. gneton*

Признаки	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	F <sub>3</sub>	F <sub>4</sub>
кнэ	<b>853</b>	-409	062	-127
чу	<b>864</b>	280	404	076
чду	<b>791</b>	<b>596</b>	102	-023
дду	-382	<b>586</b>	<b>-661</b>	-225
кун	356	<b>924</b>	053	054
покв	<b>-818</b>	147	393	183
покн	<b>-789</b>	304	141	304
квэ	<b>622</b>	-174	<b>-516</b>	556
FD, %	50,6	24,3	13,2	6,4

Примечание. F<sub>1</sub>-F<sub>4</sub> — нагрузки признаков по первому — третьему факторам. FD — процент общей дисперсии, включенный в фактор. Ноль и точка перед десятичными разрядами коэффициентов корреляции опущены. Полу жирным выделены признаки с  $|r| > 0,5$ . кнэ, квэ — число клеток на 1 мм<sup>2</sup> нижней и верхней эпидермы; покн, покв — площадь наружной тангентальной стенки основных клеток нижней и верхней эпидермы; чу, чду — общее число устьиц (дифференцированных и абортированных) и, отдельно, число дифференцированных устьиц на 1 мм<sup>2</sup>; кун — устьичный индекс; дду — доля дифференцированных устьиц от общего их числа в ткани.

и число дифференцированных устьиц на единице площади. Признак-индикатор — устьичный индекс ( $r = 0,924$ ). Приведенный набор признаков показывает, что плотность размещения дифференцированных устьиц в покровной ткани зависит не только от размеров ее основных клеток (F<sub>1</sub>), но также от удельного веса дифференцированных устьиц в ткани — того, какая часть закладывающихся устьиц завершает свое развитие. Чем выше устьичный индекс и доля дифференцированных устьиц, тем больше последних на единице площади листа.

В третью плеяду (FD = 13,2%) на рассматриваемом уровне связи входят: доля дифференцированных устьиц от общего их числа в покровной ткани (признак-индикатор,  $r = -0,661$ ) и число клеток верхней эпидермы на единице ее площади. Отмеченная связь, возможно, свидетельствует о том, что рост крупноклеточности верхней эпидермы сочетается с ростом крупноклеточности нижней. Только в последнем случае речь идет не об основных клетках, как в первой плеяде признаков (F<sub>1</sub>), а о замыкающих клетках устьиц: в абортированных устьицах пары этих клеток крупнее, чем в дифференцированных, где они погружены в покровную ткань (см. рис. 2, 1). Итак, чем крупноклеточнее верхняя эпидерма, тем выше в нижней эпидерме удельный вес абортированных устьиц, отличающихся более крупными размерами своих клеток.

Нельзя также исключать, что связь между размером клеток верхней эпидермы и долей дифференцированных устьиц в нижней обусловлена их зависимостью от

плеяды признаков (табл. 2; рис. 4), суммарная факторная дисперсия (FD) которых составляет 94,5%.

Первая плеяда объединяет признаки, характеризующие величину основных клеток эпидермы и плотность размещения в ней устьиц. На уровне связи  $|r| \geq 0,5$  в нее вошли: число клеток на единице поверхности нижней и верхней эпидермы, площадь наружных тангентальных стенок их основных клеток, общее число устьиц (дифференцированных и абортированных) и, отдельно, дифференцированных устьиц на единице площади ткани. Признак-индикатор ( $r = 0,864$ ) — общее число устьиц. Чем крупнее располагающиеся между устьицами основные клетки, тем разреженнее размещены устьица; чем мельче — тем плотнее.

Вторая плеяда (FD = 24,3%) отражает удельный вес в ткани дифференцированных устьиц. Она включает на уровне связи  $|r| \geq 0,5$  устьичный индекс, долю дифференцированных устьиц от общего их числа в ткани

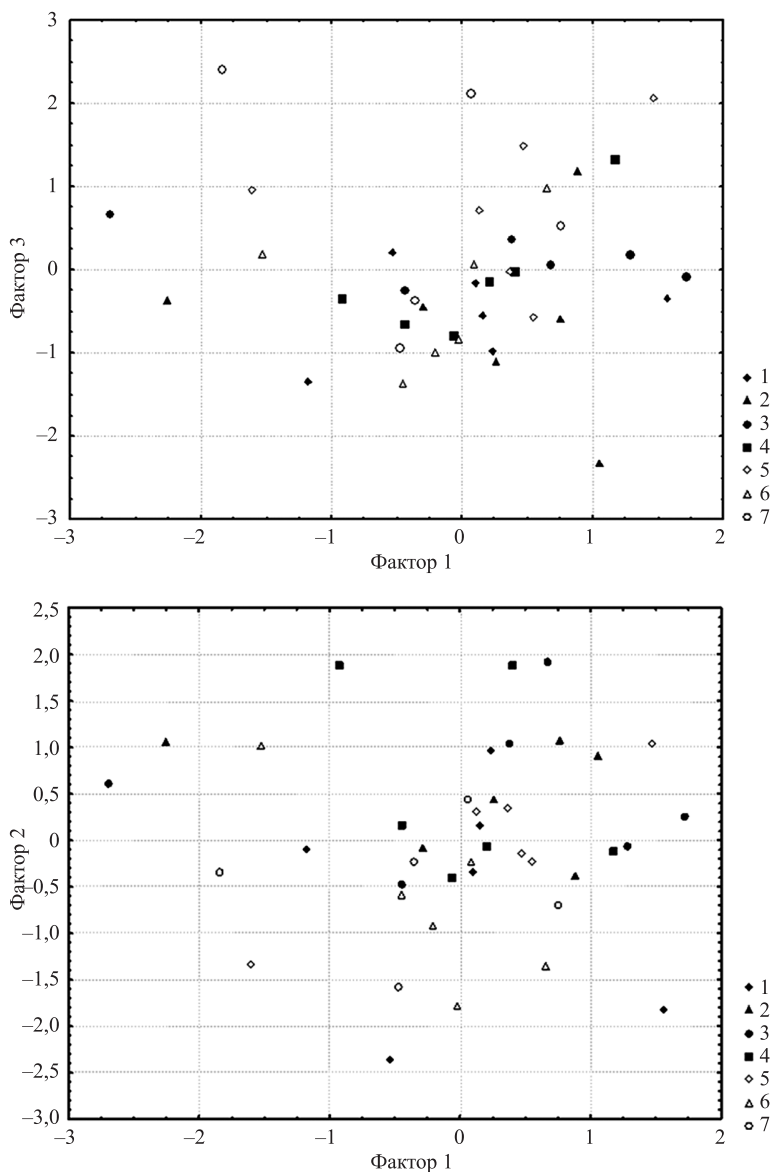


Рис. 4. Положение изученных участков (1-7) пластинки *G. gneton* в пространстве трех факторов

какого-то третьего, не включенного в анализ, признака. В частности, увеличение числа признаков и включение в анализ других листьев обнаружило корреляции рассматриваемых признаков, правда довольно низкие, на уровне связи  $r = 0,33-0,44$ , с диаметром сосудов в ксилеме черешка.

Последняя четвертая плеяда (FD = 6,4%) включает на уровне  $|r| \geq 0,5$  только один признак — число клеток верхней эпидермы на единице площади листа.

Итак, проведенная работа показала, что различные участки пластинки сходны по спектрам стоматотипов, комплексам признаков  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $F_3$  и соотношению в ткани

числа дифференцированных и абортированных устьиц (см. табл. 1, рис. 3, 4). Лишь как крайне слабую тенденцию можно отметить некоторое увеличение удельного веса в ткани дифференцированных устьиц в средней части пластинки (участки № 2, 3, 4) (см. рис. 3).

По взаимному расположению клеток большая часть абортированных устьиц близка к паразитному типу, который доминирует в эпидерме гнетума (см. рис. 2, 1). Поскольку заложение разных типов устьиц приурочено к различным фазам развития листа, а их удельный вес в ткани зависит от массовости заложения [25], можно предполагать, что большинство абортированных устьиц развивается из меристемоидов, появляющихся в эпидерме растущего листа в период массового заложения паразитных устьиц.

## Литература

1. Maheswari P., Vasil B. The stomata of *Gnetum* // Ann. Bot. 1961. Vol. 25. P. 313–319.
2. Nautiyal D. D., Singh S., Pant D. D. Epidermal structure and ontogeny of stomata in *Gnetum gnemon*, *G. montanum* and *G. ula* // Phytomorphology. 1976. Vol. 26, N 3. P. 282–296.
3. Muhammad A. F., Sattler R. Vessel structure of *Gnetum* and the origin of angiosperms // Amer. J. Bot. 1982. Vol. 69, N 6. P. 1004–1021.
4. Carmichael J. S., Friedman W. E. Double fertilization in *Gnetum gnemon* (Gnetaceae): its bearing on the evolution of sexual reproduction within the Gnetales and the anthophyte clade // Amer. J. Bot. 1996. Vol. 83, N 6. P. 767–780.
5. Ляшенко Н. И. Морфологическое строение верхушки вегетативного побега у *Gnetum gnemon* (Gnetaceae) и некоторых покрытосеменных растений // Бот. журн. 1984. Т. 69, № 12. С. 1668–1673.
6. Doyle J. A. Molecules, morphology, fossils, and the relationship of angiosperms and Gnetales // Molecular Phylogenetics and Evolution. 1998. Vol. 9, N 3. P. 448–462.
7. Soltis D. E., Soltis P. S., Zanis M. J. Phylogeny of seed plants based on evidence from eight genes // Amer. J. Bot. 2002. Vol. 89. P. 1670–1681.
8. Rodin R. J. Leaf structure and evolution in American species of *Gnetum* // Phytomorphology. 1966. Vol. 16. P. 56–68.
9. Inamdar J. A., Bhatt D. C. Epidermal structure and ontogeny of stomata in vegetative and reproductive organs of *Ephedra* and *Gnetum* // Ann. Bot. 1972. Vol. 36. P. 1041–1046.
10. Tomlinson B., Fisher J. B. Development of nonlignified fibers in leaves of *Gnetum gnemon* (Gnetales) // Amer. J. Bot. 2005. Vol. 92. P. 383–389.
11. Паутов А. А., Пагода Я. О., Крылова Е. Г. Строение листа *Gnetum gnemon* (Gnetaceae) // Бот. журн. 2012. Т. 97, № 12. С. 1497–1505.
12. Manner H. I., Elevitch C. R. *Gnetum gnemon* (gnetum) // Species profiles of Pacific Island agroforestry. 2006. Ver. 1.1. P. 1–9.
13. Markgraf F. Monographie der Gattung *Gnetum* // Bull. Jard. Bot. Buitenzorg. 1929. Bd 10. Ser. 3. S. 407–511.
14. Gillespie L. J., Nowicke J. W. Systematic implications of pollen morphology in *Gnetum* // Acta. Bot. Gallica. 1994. Vol. 141, N 2. P. 131–139.
15. Дуэльд А. Б. Восстановление рода *Thoa* Aublet (Gnetaceae) // Turczaninowia. 2000. Vol. 3, N 4. P. 28–36.
16. Теклёва М. В. Ультраструктура спородермы в систематике и филогении ископаемых гнетофитов и платаноидов: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2007. 27 с.
17. Won H., Renner S. S. Horizontal gene transfer from flowering plants to *Gnetum* // PNAS. 2003. Vol. 100, N 19. P. 10824–10829.
18. Won H., Renner S. S. Dating dispersal and radiation in the Gymnosperm *Gnetum* (Gnetales) — clock calibration when outgroup relationships are uncertain // Systematic Biology. 2006. Vol. 55, N 4. P. 610–622.
19. Справочник по ботанической микротехнике / Барыкина Р. П., Веселова Т. Д., Девятов А. Г., Джалилова Х. Х., Ильина Г. М., Чубатова Н. В. М., 2004. 311 с.
20. Васильев Б. П. Строение листа древесных растений различных климатических зон. Л., 1988. 208 с.
21. Захаревич С. Ф. К методике описания эпидермиса листа // Вестн. С.-Петербург. ун-та. 1954. № 4. С. 65–75.

22. Баранова М. А. Принципы сравнительно-стоматографического изучения цветковых растений // Комаровские чтения. Л., Наука, 1990. 69 с.

23. Кендалл М. Дж., Стьюарт М. Многомерный статистический анализ и временные ряды. М., 1976. 736 с.

24. Шмидт В. М. Математические методы в ботанике. Л., 1984. 287 с.

25. Паутов А. А. Роль морфогенетических корреляций в возникновении гетеростоматности // Бот. журн. 2009. Т. 94, № 6. С. 785–792.

Статья поступила в редакцию 13 июня 2013 г.