

УДК 581.33:633.872.1

**РАЗВИТИЕ МУЖСКОЙ ГЕНЕРАТИВНОЙ СФЕРЫ *QUERCUS ILEX* L.
(FAGACEAE) В УСЛОВИЯХ ЮЖНОГО БЕРЕГА КРЫМА****Татьяна Николаевна Кузьмина, Светлана Васильевна Шевченко,
Светлана Павловна Корсакова**

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

Представлены результаты исследования генезиса пыльников *Quercus ilex* L. (Fagaceae) и качества его пыльцевых зерен в зависимости от высоты произрастания и формы цветения. Установлено, что дифференциация клеточных слоев пыльников *Q. ilex* начинается в III декаде июля года, предшествующего цветению. В начале октября формируются спорогенные клетки. В этом состоянии генеративные почки находятся в течение шести месяцев. Реактивация ростовых процессов и дифференцировка клеточных слоев микроспорангиев происходит в апреле. Переход пыльников *Q. ilex* ранней формы цветения к микроспорогенезу наблюдался во II декаде апреля, а у поздней формы мейоз был отмечен в III декаде апреля. Пыление у *Q. ilex* в зависимости от формы цветения наблюдалось в I – III декадах мая. Формирование слоев стенки микроспорангия *Q. ilex* происходит по центробежному типу. Тапетум секреторного типа. Стенка сформированного пыльника состоит из эпидермы, эндотеция, среднего слоя и тапетума. В зрелом состоянии она образована из эпидермальных клеток и эндотеция с фиброзными утолщениями. Микроспорогенез у *Q. ilex* идет по симультанному типу с образованием тетрад с тетраэдрическим расположением микроспор. Зрелые пыльцевые зерна у *Q. ilex* двухклеточные. При аномальном развитии пыльников не происходит апоптоз клеток тапетальной ткани, в результате чего развитие микроспор приостанавливается, что приводит к стерильности. Выявлено, что качество пыльцы *Q. ilex* зависит от высоты произрастания растения и характера цветения. Наибольшая доля морфологически нормальных пыльцевых зерен отмечалась у растений ранней формы цветения, расположенных на высоте 160 м. н.у.м. (85 – 90%). У деревьев *Q. ilex*, растущих на высоте 30 м. н.у.м, преобладали аномальные и стерильные пыльцевые зерна.

Ключевые слова: дуб; цитозмбриология покрытосеменных растений; пыльник; генезис; микроспорогенез; пыльцевые зерна

Введение

Исследования, проводимые в последние годы, подтверждают влияние изменения климата на репродуктивную сферу древесных растений (Bogdziewicz et al., 2020; Shibata et al., 2020). Высокая чувствительность генеративных структур, в частности пыльников, к изменениям гидротермических факторов среды позволяет рассматривать их как модельные объекты для оценки структурно-морфологических механизмов адаптации репродуктивных элементов растений к условиям изменения климата (Круглова, 2023). Отсутствие необходимых для полноценного развития видов температур или резкие их колебания приводят к сдвигу фенофаз развития генеративной сферы растений (Spano et al., 1999), а также могут вызывать аномалии развития генеративных структур, в том числе сопровождающихся полной деструкцией генеративных элементов и их стерильностью (Мирославов и др., 2010).

На сегодняшний день на Южном берегу Крыма отмечается устойчивая тенденция к повышению температуры в ранне-весенний и летний периоды, при этом основные риски для растений связаны с усилением гидротермического стресса (Корсакова, Корсаков, 2023). В этих условиях большую роль в фитоценозах приобретают засухоустойчивые виды. Так, благодаря более высокой засухоустойчивости, теневыносливости и жароустойчивости, по сравнению с аборигенным видом – *Q. pubescens* Willd., натурализовавшийся на Южном берегу Крыма вечнозеленый *Quercus ilex* L. (дуб каменный) в последние десятилетия успешно

внедряется в естественные и нарушенные фитоценозы западного южного побережья (Плугатарь и др., 2022). Вместе с тем, исследования показывают, что при водном дефиците у *Q. ilex* наблюдается снижение количества жизнеспособных пыльцевых зерен (García-Mozo et al., 2007; Вукоча et al., 2018), что отражается на семенной продуктивности вида (Le Roncé et al., 2021). Оценка репродуктивных возможностей вида требует комплексного подхода, учитывающего особенности генезиса его генеративных структур. Однако, в литературных источниках отсутствует детальная характеристика генезиса пыльников *Q. ilex*, что определило цель данного исследования. Кроме того, в задачи исследования была включена оценка состояния мужского гаметофита растений *Q. ilex* различных форм цветения, в зависимости от высоты произрастания в условиях Южного берега Крыма.

Объекты и методы исследования

Объектом исследования являлись пыльники *Quercus ilex*. Генеративные почки и соцветия брали с контрольных растений *Q. ilex*, произрастающих на высоте 30 м н.у.м. (парк Монтедор, г. Ялта, Республика Крым; 44°50'63" с.ш., 34°23'10" в.д.) и 160 м н.у.м. (арборетум Никитского ботанического сада, г. Ялта, Республика Крым; 44°30'34" с.ш., 34°13'58" в.д.). Сбор материала для анализа проводили ежемесячно с июля по март, и еженедельно в апреле и мае в 2023–2024 гг.

Растительный материал (почки, соцветия) фиксировали в смеси FAA (formalin : acetic acid : alcohol 70% – 7:7:100). Обезвоживание материала проходило при инкубации его в ряде замен изопропилового спирта. Длительность инфильтрации объектов парафином составляла 3 суток. Изготовление срезов для постоянных цитозембриологических препаратов делали с помощью ротационного микротомы RMD-3000 (Россия). Препараты окрашивали гематоксилином Гейденгайна с последующей подкраской алциановым синим. При характеристике генезиса стенки микроспорангия основывались на классификации, предложенной Э.С. Терехиным с соавторами (Терехин и др., 1993, Шамров, 2019).

Оценку цитоморфологического состояния пыльцевых зерен *Q. ilex* проводили на препаратах пыльцы, полученной из пыльников тычиночных цветков 30–50 соцветий в период массового цветения. Препараты пыльцы окрашивали метилгрюнпиронином (Шевченко и др., 1986). Материал анализировали в 100 полях зрения для каждого варианта. Пыльцевые зерна, имеющие однородную окраску с выраженными ядрами вегетативной и генеративной клеток, оценивались как морфологически нормальные. В случае вакуолизации цитоплазмы, изменении ее структуры или слабой выраженности ядер пыльцевые зерна характеризовались как аномальные, а при дегенерации содержимого пыльцевого зерна оно рассматривалось как стерильное. При проведении морфометрических измерений пыльцы учитывали длину полярной оси и экваториальный диаметр 500 пыльцевых зерен.

Анализ цитозембриологических препаратов проводили с помощью светового микроскопа AxioScope A.1 (Carl Zeiss, Германия) с подключенной к нему цифровой камерой AxioCamERc5s (Carl Zeiss, Германия). При микроскопическом анализе использовали метод светлого поля, а также метод наблюдения в поляризованном свете – для выявления локализации фиброзы в слоях стенки микроспорангия. Анализ цифровых фотоснимков делали с помощью программных приложений AxioVision Rel. 4.8.2. (Carl Zeiss, Германия) и ImageJ 1.48v (<http://imagej.nih.gov/ij>).

Статистическую обработку данных проводили с помощью программного приложения Statistica 10.0 (StatSoft. Ins., USA). Определение статистически значимого различия выборочных долей пыльцевых зерен, относящихся к различным вариантам, делали с помощью критерия χ^2 Пирсона при доверительной вероятности $P=0,95$.

Определения 95% доверительных интервалов (95% ДИ) выборочных долей в средних образцах пыльцевых зерен с помощью онлайн-калькулятора (<http://vassarstats.net/prop1.html>) по методу Уилсона. Морфометрические данные представлены в виде $X \pm S_x$, где X – среднее арифметическое, S_x – стандартная ошибка среднего.

В работе использовали данные агрометеорологического бюллетеня агрометеостанции Никитский сад ФГБУ «Крымское УГМС» за апрель и май 2023 и 2024 гг. (рис. 1), согласно которым в I и II декадах апреля 2023 г. температуры воздуха превышали норму на 0,8–1,3°C. В III декаде апреля было относительно прохладно и температуры опускались ниже нормы на 0,6°C. В мае 2023 г. преобладал пониженный температурный фон с небольшими волнами тепла и сильными осадками. В I и III декадах было, соответственно, на 1,6 и 0,7°C холоднее обычного. В апреле 2024 г. наблюдалась необычно теплая и сухая погода. Температуры воздуха устойчиво превышали норму на 6,4 – 4,4°C. В середине мая заток холодных воздушных масс обусловил падение температур на 1,8°C ниже нормы. К концу мая вновь потеплело. В 2023 г. количество осадков было обильным в течение апреля и мая, а в 2024 г. в этот период их практически не было. Обобщая погодные условия за анализируемые месяцы можно заключить, что теплообеспеченность весеннего периода 2024 г. была значительно выше, чем 2023 г., а осадков выпало очень мало.

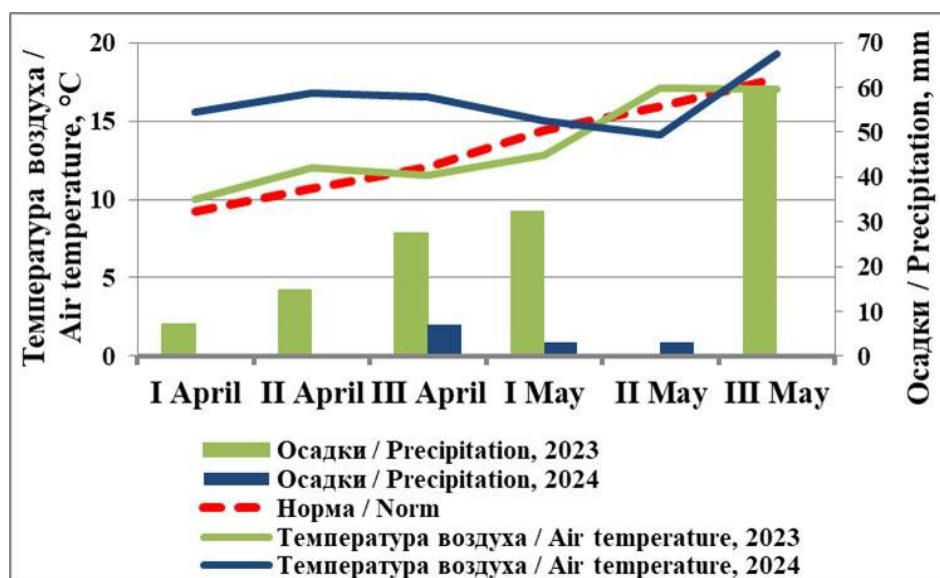


Рис. 1 График температуры воздуха и количества осадков (апрель – май 2023 г. и 2024 г.).

Fig. 1 Graph of air temperature and precipitation (April – May 2023 and 2024).

Результаты и их обсуждение

Quercus ilex, как и другие представители рода *Quercus* L., является однодомным растением, у которого однополые (тычиночные и пестичные) цветки расположены на одном растении. Мужская генеративная сфера *Q. ilex* представлена тычиночными цветками, собранными в соцветия – сережки. Цветок содержит 5–6 тычинок с пыльниками, имеющими четыре гнезда, или микроспорангия. Закладка генеративных почек происходит сразу после цветения, в конце мая – начале июня. Первые деления клеток при дифференциации пыльников отмечаются в III декаде июля в год, предшествующий цветению. Деление археспориальной клетки, расположенной субэпидермально, приводит к образованию париетальной и спорогенной клеток (рис 2, 1–3).

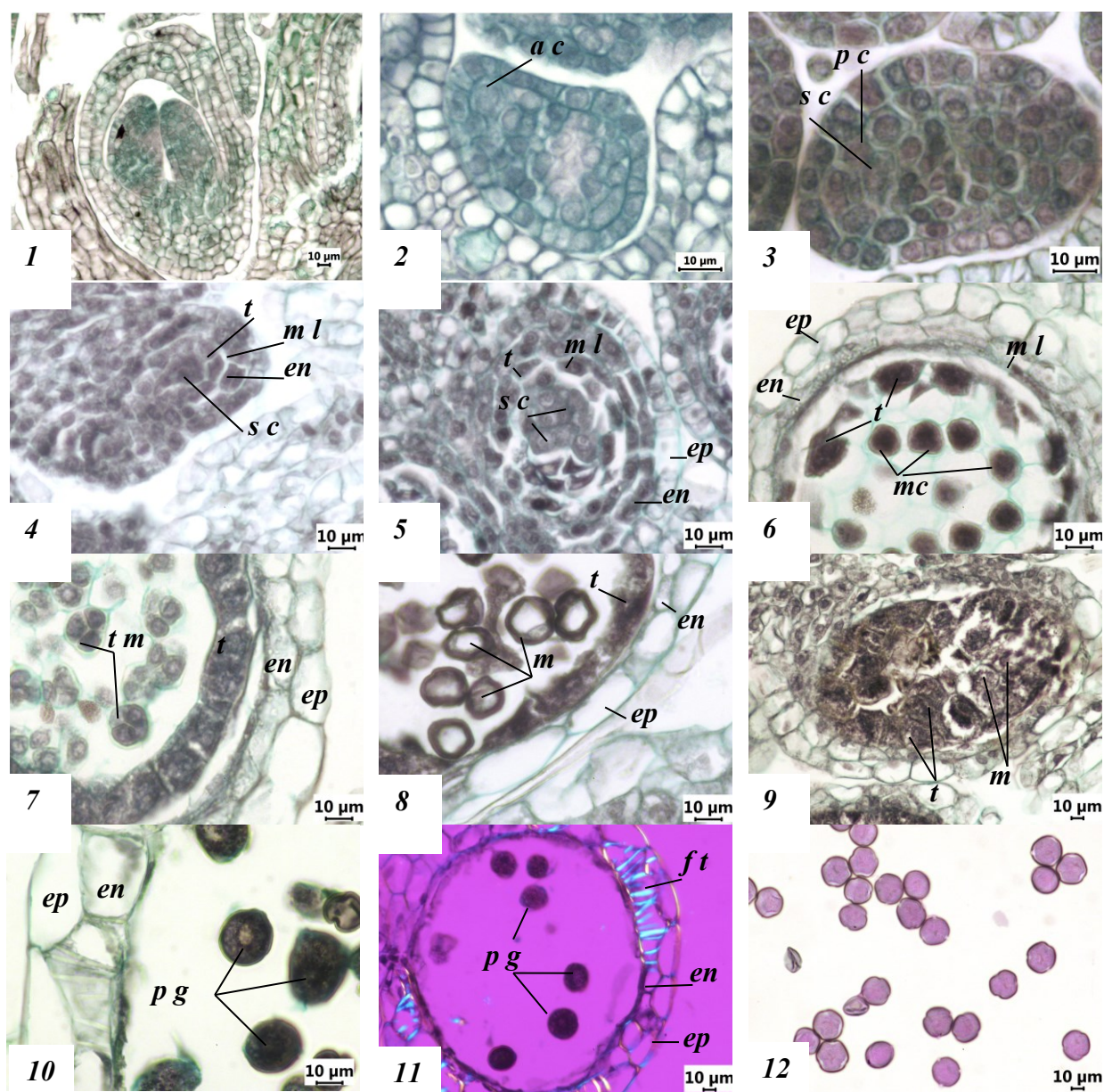


Рис. 2 Фрагменты микроспорангиев *Q. ilex* на разных стадиях развития: 1 – 3 – начальные стадии развития пыльника на стадии археспория и его деления (октябрь – март) (1 – продольный срез цветка; 2, 3 – поперечный срез пыльника); 4 – пыльник на стадии дифференциации клеточных слоев стенки; 5 – поперечный срез сформированного пыльника; 6 – микроспорогенез; 7 – на стадии распада тетрад микроспор; 8 – на стадии вакуолизированных микроспор; 9 – поперечный срез аномального пыльника; зрелый микроспорангий в светлом поле (10) и поляризованном свете (11); 12 – зрелые пыльцевые зерна. Масштабная линейка – 10 мкм. (*a c* –archesporial cell; *en* – эндотечий, *ep* – эпидерма, *ft* – фиброзные утолщения, *m* – микроспора, *m l* –средний слой, *mc* – микроспороцит, *p c* – парietальная клетка, *p g* – пыльцевые зерна, *s c* – спорогенная клетка; *t* – тапетум; *t m* – тетрады микроспор).

Fig. 2 Microsporangium fragments of *Q. ilex* at different stages of development: 1–3 –initial stages of anther development at the stage of archesporium and its division (October – March) (1 – longitudinal section of the flower; 2, 3 – transverse section of the anther); 4 – anther at the stage of differentiation of cell wall layers; 5 – transverse section of the formed anther; 6 – microsporogenesis; 7 –at the stage of decomposition of tetrad microspores; 8 – at the stage of vacuolized microspores; 9 – a cross section of an abnormal anther; mature microsporangium in a light field (10) and polarized light (11); 12 – mature pollen grains. The scale range is 10 microns. (*a c* – archesporial cell; *en* – endothecium, *ep* – epiderma, *ft* – fibrous thickenings, *m* – microspore, *m l* –middle layer, *mc* – microsporocyte, *p c* – parietal cell, *p g* – pollen grains, *s c* – sporogenic cell; *t* – tapetum; *t m* – tetrads of microspores).

В таком состоянии пыльник находится с октября до начала апреля. После чего процессы дифференциации клеточных слоев стенки микроспорангия активизируются в результате деления париетальных клеток, образуя два слоя клеток. Затем клетки наружного слоя делятся периклинально с образованием среднего слоя и эндотеция. Клетки внутреннего слоя без делений преобразуются в тапетум (рис. 2, 4). Такая последовательность дифференциации клеточных слоев стенки микроспорангия соответствует центробежному типу. Тапетум в этом случае является производным внутреннего париетального слоя. В сформированном состоянии стенка микроспорангия *Q. ilex* состоит из эпидермы, эндотеция, среднего слоя и тапетума (рис. 2, 5). Тапетум секреторного типа, как правило, образован одним слоем двуждерных клеток, но встречаются участки, где формируются два слоя тапетальных клеток.

Переход пыльников к микроспорогенезу у *Q. ilex* сопряжен с фазой бутонизации. В 2024 г. у растений ранней формы цветения он проходил во II декаде апреля, а у поздней формы микроспорогенез был в III декаде апреля, что на 18 дней раньше, чем в 2023 г. Микроспорогенез у *Q. ilex* идет по симультанному типу с образованием тетрад микроспор, с преимущественно тетраэдрическим их расположением (рис. 2, 6, 7).

В постмейотический период происходит ряд процессов трансформации клеточных слоев стенки микроспорангия: увеличение объема клеток эпидермы, деструкция тапетального слоя, облитерация клеток среднего слоя, образование фиброзных утолщений в клетках эндотеция (рис. 2, 8). В этот период в результате дифференцирующего деления формируются двухклеточные пыльцевые зерна. Стенка зрелого микроспорангия *Q. ilex* состоит из крупных эпидермальных клеток и эндотеция с фиброзными утолщениями (рис. 2, 10, 11).

Однако, у растений поздней формы цветения в ряде случаев в постмейотический период отсутствовал апоптоз тапетальной ткани, при этом клетки тапетума разрастались в полость микроспорангия, зажимая микроспоры (рис. 2, 9). В результате таких процессов дифференцировка микроспор была нарушена, а их развитие приостановлено. В последствие такие пыльники становились стерильными.

Пыление у *Q. ilex* проходило в I – III декадах мая в зависимости от формы цветения. В 2024 г. растения перешли к этой фазе на 10 дней раньше, чем в 2023 г.

Зрелые пыльцевые зерна у *Q. ilex* двух клеточные, с тремя аперттурами в виде пор. Их экваториальный диаметр (Е) составляет $21,55 \pm 0,05$ мкм, а полярная ось (Р) равна $20,41 \pm 0,06$ мкм. Отношение полярной оси к экваториальному диаметру (Р/Е) у пыльцевых зерен *Q. ilex* равно $0,95 \pm 0,02$, что характеризует их как сплюсненно-сфероидальные, что типично для представителей рода *Quercus* L. (Нарышкина, 2015).

Анализ качества мужского гаметофита у растений, произрастающих на высоте 30 м. н.у.м., не выявил различий по долям морфологически нормальных пыльцевых зерен у ранней и поздней форм, доля которых находилась в пределах 30%. У этих растений преобладали аномальные пыльцевые зерна, а также значительной была доля стерильной пыльцы (табл. 1). Высокая доля морфологически нормальных пыльцевых зерен была выявлена у деревьев *Q. ilex* ранней формы цветения, произрастающих на высоте 160 м н.у.м. У этой формы растений доля морфологически нормальных пыльцевых зерен составила 90%, что статистически выше ($\chi^2=301,41$; $df=1$, $p=0,00001$), чем у поздноцветущих растений (62%). При сравнении качества пыльцы, продуцируемой за два года, выявлено, что по долям морфологически нормальных пыльцевых зерен качество пыльцы в 2024 г. было выше по сравнению с предыдущим годом как у деревьев ранней, так и у поздней форм цветения. При этом отмечено также снижение долей стерильных пыльцевых зерен. Кроме того, у ранней формы снизилась доля аномальной пыльцы (табл. 2).

Несмотря на существующие обобщающие работы по цитоэмбриологии представителей рода *Quercus*, в литературных источниках не приводятся данные о характере генезиса стенки микроспорангия у видов этого рода (Наумова, 1981; Камелина, 2009). Проведенный нами анализ, показал, что последовательность делений клеток и формирование клеточных слоев стенки микроспорангия у *Q. ilex* соответствует центробежному типу генезиса. В целом, по основным цитоэмбриологическим признакам (количество клеточных слоев в сформированной стенке микроспорангия и в зрелом ее состоянии, тип тапетума, характер микроспорогенеза, тип тетрад, характеристика пыльцевых зерен) *Q. ilex* соответствует другим видам рода, в том числе и *Q. pubescens* (Шевченко и др., 2023).

Таблица 1

Цитоморфологическая оценка средних образцов пыльцы *Q. ilex* ранней и поздней форм цветения, произрастающих на разной высоте над уровнем моря (2024 г.)

Table 1

Cytomorphological assessment of average pollen samples of *Q. ilex* of early and late flowering forms growing at different height above sea level (2024)

Высота над уровнем моря, м / Height above sea level, m	Форма цветения / The form of flowering	Количество проанализированных пз, ед. / The number of analyzed pollen grains	Пыльцевые зерна, % Pollen grain, %					
			Морфологически нормальные / Morphologically normal		Аномальные / Abnormal		Стерильные / Sterile	
			Среднее / Mean	95% ДИ / CI	Среднее / Mean	95% ДИ / CI	Среднее / Mean	95% ДИ /CI
30	Ранняя / Early	357	33,33	28,64–38,37	41,74	36,74–46,92	24,93	20,73–29,67
	Поздняя / Late	319	27,90	23,26–33,06	45,45	40,07–50,94	19,44	15,47–24,14
	χ^2 p		0,24 p=0,6269		0,95 p=0,3304		2,93 p=0,0869	
160	Ранняя / Early	2174	89,88	88,54–91,08	7,18	6,17–8,34	2,94	2,31–3,74
	Поздняя / Late	934	63,81	60,68–66,83	12,63	10,65–14,91	23,55	20,94–26,38
	χ^2 p		301,41* p=0,00001		24,21* p=0,00001		334,26* p=0,00001	
Примечание. χ^2 – значение χ^2 Пирсона и уровень его статистической значимости (p); * – различия статистически значимы при P=0,95; 95% ДИ – 95% доверительный интервал. Note. χ^2 – Pearson's χ^2 value and the level of its statistical significance (p); * – differences are statistically significant at P=0.95; 95% CI – 95% confidence interval.								

Консервативность характера генезиса пыльников в пределах рода позволяет рассматривать продолжительность отдельных его этапов как адаптивную реакцию на условия произрастания (Julian et al., 2010). В целом, нахождение пыльников древесных растений в осеннее-зимний период на стадии спорогенной ткани является распространенной стратегией для растений, произрастающих на территориях с умеренным и субтропическим климатом (Миргородская, Котеева, 2022; Fadón et al., 2023). Такой вариант динамики генезиса пыльников отмечен у *Q. pubescens* (Шевченко и др., 2023). Однако, у *Q. pubescens* дифференциация слоев стенки микроспорангия

проходит в осенние месяцы, и в период зимнего покоя они находятся в сформированном состоянии. В тоже время у *Q. ilex* к началу холодного периода в пыльниках проходит только деление археспориальной клетки с образованием париетальной и спорогенной клеток. В этом состоянии почки *Q. ilex* сохраняются в течение осенне-зимнего и ранне-весеннего периодов. Дифференциация клеточных слоев микроспорангия и микроспороцитов у *Q. ilex* проходит в апреле. Характерно, что аналогичный тип развития пыльников, когда пыльники в течение зимы находятся в недифференцированном состоянии, в условиях Южного берега Крыма отмечается у *Jasminum fruticans* L. (Oleaceae), ареал которого, как и *Q. ilex*, приурочен к экосистемам средиземноморского типа (Кузьмина, 2022).

Таблица 2

Сравнительная цитоморфологическая характеристика пыльцевых зерен *Q. ilex* ранней и поздней форм цветения в условиях Южного берега Крыма в 2023 и 2024 гг. (160 м н.у.м)

Table 2

Comparative cytomorphological characteristics of pollen grains of *Q. ilex* of early and late flowering forms in the conditions of the Southern Coast of Crimea in 2023 and 2024 (160 m above sea level)

Форма цветения / The form of flowering	Год / Year	Количество проанализированных из, ед. / The number of analyzed pollen grains, units	Пыльцевые зерна, % Pollen grain, %					
			Морфологически нормальные / Morphologically normal		Аномальные/ Abnormal		Стерильные / Sterile	
			Среднее / Mean	95% ДИ / CI	Среднее / Mean	95% ДИ / CI	Среднее / Mean	95% ДИ/ CI
Ранняя / Early	2023	5472	85,36	84,40–86,27	9,94	9,18–10,76	4,70	4,17–5,29
	2024	2174	89,88	88,54–91,08	7,18	6,17–8,34	2,94	2,31–3,74
	χ^2 p		27,46* p=0,00001		14,31* p=0,0002		11,88* p=0,0006	
Поздняя / Late	2023	4304	57,88	56,4–59,3,5	9,29	8,46–10,19	32,83	31,44–34,25
	2024	934	63,81	60,68–66,83	12,63	10,65–14,91	23,55	20,94–26,38
	χ^2 p		49,37* p=0,00001		9,61* p=0,0019		30,77* p=0,00001	
Примечание. χ^2 – значение χ^2 Пирсона и уровень его статистической значимости (p);* – различия статистически значимы при P=0,95; 95% ДИ – 95% доверительный интервал. Note. χ^2 – Pearson's χ^2 value and the level of its statistical significance (p); * – differences are statistically significant at P=0.95; 95% CI – 95% confidence interval.								

Способность клеток спорогенной ткани выдерживать значительные температурные колебания и другие неблагоприятные абиотические факторы, влияние которых сопровождает растения в период зимнего покоя, связывают с их низкой метаболической активностью. Так, в период покоя в клетках спорогенной ткани отмечают снижение активности ядрышкового аппарата клеток и образование стопок гранулярного эндоплазматического ретикулаума, что типично для покоящихся меристематических клеток (Котеева и др., 2015).

Переход пыльников к микроспорогенезу у *Q. ilex* сопряжен с фазой бутонизации. В ходе микроспорогенеза образуются гаплоидные микроспоры. Поскольку процесс двух последовательных делений материнских клеток микроспор сопровождается перестройкой хромосомного материала, что повышает риски возникновения хромосомных aberrаций, особенно в случае воздействия

неблагоприятных внешних факторов, то мейотический период является одним из критических в процессе генезиса мужского гаметофита (Batygina, Vasilyeva, 2003). У покрытосеменных растений прослеживается приуроченность этого периода генезиса мужской генеративной сферы к сезону с наиболее мягкими погодно-климатическими условиями (Кузьмина, 2022). У *Q. ilex* в 2023 г. микроспорогенез прошел во II декаде мая, а в 2024 г. – в III декаде апреля.

Известно, что основным фактором, оказывающим влияние на чередование фенологических фаз у древесных растений, является температура (Fadón et al., 2020; Плугатарь и др., 2022а). Анализ метеоданных показал, что прослеживается зависимость динамики накопления сумм активных температур воздуха более +10°C и фенодаты микроспорогенеза. Переход к микроспорогенезу у *Q. ilex* наблюдался при суммарном накоплении температур более +10°C в диапазоне 626–687°C. Средняя декадная температура в период микроспорогенеза у *Q. ilex* в 2023 г. во II декаде мая составляла +17,1°C, в 2024 г. во время микроспорогенеза ранней формы *Q. ilex* (II декада апреля) среднедекадная температура составила +16,8°C, в III декаде апреля, при микроспорогенезе у позднецветущей формы, она была +16,5°C. Таким образом, смещение фенодаты микроспорогенеза на период с устойчивыми положительными температурами воздуха можно рассматривать как элемент адаптивной стратегии растения, направленной на снижение рисков возникновения аномалий в ходе мейотического деления микроспороцитов.

Известно, что абиотические стрессы влияют на все процессы развития пыльников, включая развитие и деградацию тапетума, микроспорогенез и развитие пыльцы, расхождение пыльников и удлинение нитей. При абиотических стрессах отмечают нарушения обмена фитогормонов, липидов и углеводов, которые изменяют гомеостаз активных форм кислорода (АФК) в пыльниках, что сказывается на качестве пыльцы (Zhang et al., 2021). При воздействии высоких температур дегенеративные процессы в пыльниках выявляют после образования микроспор (Suzuki, 2001). В таких условиях в пыльниках отмечают изменение хода трансформации клеточных слоев стенки микроспорангия, главным образом, тапетума. Тапетум как ткань, непосредственно примыкающая к спорогенным клеткам / микроспорам, играет ключевую роль в метаболическом обмене тканей микроспорангия (Pacini, 2010). Период лизиса тапетума является запрограммированным процессом – апоптозом. Благодаря своей дегенерации тапетум не только обеспечивает питательными веществами развивающиеся микроспоры, но также способствует образованию пыльцевой стенки (Clawla et al., 2017). Отклонение в процессе апоптоза тапетальной ткани приводит к нарушению снабжения микроспор питательными веществами микроспор, что во многих случаях приводит к мужскому бесплодию (Kawanabe et al., 2006; Oshino et al., 2007).

Анализ пыльников растений *Q. ilex*, растущих на высоте 30 м н.у.м., как у ранней, так и поздней форм цветения, показал, что их развитие было приостановлено на стадии вакуолизированных микроспор. В таких микроспорангиях был отчетливо выражен слой тапетальной ткани, который в норме на данной стадии должен отсутствовать (см. рис. 2, 9). Аналогичная картина наблюдалась и у растений поздней формы цветения на высоте 160 м н.у.м. Можно предположить, что незначительная доля морфологически нормальных пыльцевых зерен, выявленная на указанных высотах (см табл. 1), является следствием аномалий генезиса микроспорангия в постмейотический период.

Известно, что на состояние гаметофита древесных растений влияют условия, сопровождающие период покоя. Так, отсутствие низких температур в этот период для растений областей с сезонным климатом приводят к аномалиям развития мужской

генеративной сферы в результате нарушения их морфогенетической программы развития. В частности, установлено, что отсутствие низкотемпературного периода для растений умеренной климатической зоны выражается в деструктивных процессах в клетках спорогенной ткани и тапетума, в которых снижается количество рибосом, усиливается вакуолизация клеток и лизисных процессов в них, что не происходит при нормальном развитии (Котеева и др., 2015). Учитывая, что приморские склоны южной половины горизонта до высоты 80 м н.у.м. на Южном берегу Крыма являются самыми теплыми по метеоусловиям (средняя месячная температура воздуха в течение всего года выше 0°C) (Плугатарь и др., 2015), то преобладание аномалий развития мужского гаметофита на высоте 30 м н.у.м. может быть обусловлено отсутствием необходимого для нормального развития мужского гаметофита охлаждения.

Летний период с высокими температурами и засухой также негативно сказывается на качестве пыльцевых зерен *Q. ilex* в следующем сезоне (Bykova et al., 2018). Таким образом, можно отметить негативное влияние повышения температуры воздуха на состояние мужской генеративной сферы *Q. ilex*.

Заключение

Установлено, что начало дифференциации клеточных слоев пыльников *Q. ilex* происходит в III декаде июля года, предшествующего цветению. В начале октября в результате деления археспориальных клеток формируются париетальные и спорогенные. В этом состоянии пыльники находятся до апреля, когда происходит реактивация ростовых процессов и дифференцировка клеточных слоев микроспорангиев. Переход пыльников к микроспорогенезу у *Q. ilex*, зависит от формы цветения и погодно-климатических условий года. Его сроки варьируют от II декады апреля до II декады мая. Пыление у *Q. ilex* проходит в I – III декадах мая в зависимости от формы цветения.

Дифференциация стенки микроспорангия *Q. ilex* идет в центробежном направлении. Тапетум секреторного типа является производным внутреннего париетального слоя. Стенка сформированного пыльника состоит из эпидермы, эндотеция, среднего слоя и тапетума. В зрелом состоянии она образована из эпидермальных клеток и эндотеция с фиброзными утолщениями. Микроспорогенез у *Q. ilex* симультанного типа с образованием тетрад микроспор, расположенных преимущественно тетраэдрически. Зрелые пыльцевые зерна у *Q. ilex* двухклеточные.

У *Q. ilex* в ряде случаев отмечали аномалии развития пыльников, приводящие к их стерильности. В этих случаях в постмейотический период отсутствовал апоптоз клеток тапетальной ткани, в результате чего развитие микроспор приостанавливалось, что приводило к его стерильности.

Качество пыльцы *Q. ilex* зависит от высоты произрастания растения и формы цветения. Наилучшее качество пыльцы у растений ранней формы цветения, расположенных на высоте 160 м. н.у.м. (85 – 90%). У деревьев *Q. ilex*, растущих на высоте, 30 м н.у.м. в средних образцах пыльцы преобладают аномальные и стерильные пыльцевые зерна. У этих растений были отмечены аномалии генезиса пыльников.

Благодарности

Работа выполнена в рамках темы Госзадания ФГБУН «НБС-НИЦ» № FNNS-2022-0003.

Acknowledgements

The study was carried out within the framework of the State Task № FNNS-2022-0003 of FSFIS «NBG-NSC».

Литература / References

Камелина О.П. Систематическая эмбриология цветковых растений. Двудольные. – Барнаул: Изд-во «АРИКА», 2009. 501 с.

[Kamelina O.P. Systematic embryology of flowering plants. Dicotyledons. Barnaul. 2009. 501 p.]

Корсакова С.П., Корсаков П.Б. Изменение климатических норм на южном берегу Крыма за последние 90 лет // Plant Biology and Horticulture: theory, innovation. 2023. № 2 (167). С. 84–95. DOI: 10.25684/2712-7788-2023-2-167-84-95

[Korsakova S.P., Korsakov P.B. Changes in climatic norms on the Southern coast of Crimea over the past 90 years. *Plant Biology and Horticulture: theory, innovation*. 2023. 2(167): 84–95. DOI: 10.25684/2712-7788-2023-2-167-84-95]

Котеева Н.К., Миргородская О.Е., Булышева М.М., Мирославов Е.А. Формирование пыльцы *Ribes nigrum* (Grossulariaceae) в связи с периодом пониженных температур // Ботанический журнал. 2015. Т.100 (6). № 10. С. 1001–1014.

[Koteyeva N. K., Mirgorodskaya O. E., Bulisheva M. M., Miroslovov E. A. Pollen development in *Ribes nigrum* (Grossulariaceae) in relation to the low temperature period. *Botanicheskii Zhurnal*. 2015. 100 (6): 16–24]

Круглова Н.Н. Системный подход к морфогенезу пыльника цветковых растений // Plant Biology and Horticulture: theory, innovation. 2023. № 1(166). С. 7–15. DOI 10.36305/2712-7788-2023-1-166-7-15

[Kruglova N.N. System approach to morphogenesis of anthers of flowering plants. *Plant Biology and Horticulture: theory, innovation*. 2023. 1(166): 7–15. DOI 10.36305/2712-7788-2023-1-166-7-15]

Кузьмина Т.Н. Сезонная динамика роста и развития пыльников *Jasminum fruticans* L. (Oleaceae) в условиях Южного берега Крыма // Экосистемы. 2022. Вып. 32. С. 42–51.

[Kuzmina T.N. Seasonal dynamics of growth and development of anthers of *Jasminum fruticans* L. (Oleaceae) in conditions of the Southern Coast of Crimea. *Ekosistemy*. 2022. Iss. 32:42–51.]

Миргородская О.Е., Котеева Н.К. Сезонные особенности развития мужской генеративной сферы древесных покрытосеменных растений умеренной зоны // Материалы XV Всероссийской палинологической конференции, посвященной памяти доктора геолого-минералогических наук В.С. Волковой и доктора геолого-минералогических наук М.В. Ощурковой. (г. Москва, 1–3 июня, 2022). Москва, 2022. С. 223–224. DOI:10.54896/9785891188532_2022_46

[Mirgorodskaya O.E., Koteeva N.K. Seasonal features of pollen development of woody angiosperms in the temperature zone. Materials of the XV All-Russian Palynological Conference dedicated to the memory of Doctor of Geological and Mineralogical Sciences V.S. Volkova and Doctor of Geological and Mineralogical Sciences M.V. Oschurkova. (Moscow, June 1–3, 2022). Moscow, 2022. P. 223 – 224. DOI:10.54896/9785891188532_2022_46]

Мирославов Е.А., Бармичева Е.М., Миргородская О.Е. Значение пониженных температур осеннего и зимнего периода для развития растений умеренных широт // Растительные ресурсы. 2010. Т. 46. N. 3. С. 1–12.

[Miroslovov E.A., Barmicheva E.M., Mirgorodskaya O.E. A role of low temperature in autumn and winter for ontogenesis of plant in temperate climate zone. *Plant resources*. 2010. 46(3): 1–12.]

Наумова Т.Н. Семейство Fagaceae // Сравнительная эмбриология цветковых растений. Winteraceae – Juglandaceae. Ленинград: Наука, 1981. С. 197–201.

[Naumova T.N. Semeistvo Fagaceae [Family Fagaceae]. *Comparative cytoembryology of flowering plants. Winteraceae – Juglandaceae*. Leningrad. 1981. P. 197–201.]

Нарышкина Н.Н. Морфология пыльцы восточноазиатских представителей рода *Quercus* (Fagaceae) // Ботанический журнал. 2015. Т. 100, № 9. С. 873–885.

[Naryshkina N.N. Pollen morphology of East Asian species of *Quercus* (Fagaceae). *Botanicheskii Zhurnal*. 2015. 100(9):873–885.]

Плугатарь Ю.В., Корсакова С.П., Ильницкий О.А. Экологический мониторинг Южного берега Крыма. – Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2015. 164 с.

[Plugatar Yu.V., Korsakova S.P., Ilitsky O.A. Ecological monitoring of the Southern Coast of the Crimea. Simferopol: PP «ARIAL», 2015. 164 p.]

Плугатарь Ю.В., Корженевский В.В., Абраменков А.А. Шибляк или маквис? О внедрении *Quercus ilex* L. в фитоценозы южнобережного Крыма // Plant Biology and Horticulture: theory, innovation. 2022. № 3 (164). С. 6–19. DOI: 10.36305/2712-7788-2022-3-164-6-19

[Plugatar Yu.V., Korzhenevsky V.V., Abramenzkov A.A. Shibliak or maquis? On the introduction of *Quercus ilex* L. in phytocoenosis of the Southern Coast of the Crimea. *Plant Biology and Horticulture: theory, innovation*. 2022. 3(164): 6–19. DOI: 10.36305/2712-7788-2022-3-164-6-19]

Плугатарь Ю.В., Корсакова С.П., Ковалев М.С. Особенности цветения некоторых субтропических видов в условиях южного берега Крыма // Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. 2022а. Вып. 145. С. 56–66. DOI: 10.36305/0513-1634-2022-145-56-66

[Plugatar Yu.V., Korsakova S.P., Kovalev M.S. Peculiarities of some subtropical plant species flowering in condition of the Southern Coast of The Crimea. *Bull. Of the State Nikina Botan. Gard*. 2022. 145:56–66. DOI: 10.36305/0513-1634-2022-145-56-66]

Терёхин Э.С., Батыгина Т.Б., Шамров И.И. Классификация типов стенки микроспорангия у покрытосеменных. Терминология и концепции // Ботанический журнал. 1993. Т. 78 (6). С. 16–24.

[Teryokhin E.S., Batygina T.B., Shamrov I.I. The classification of microsporangium wall types in angiosperms. Terminology and conceptions. *Botanicheskii Zhurnal*. 1993. 78 (6): 16–24.]

Шамров И.И., Анисимова Г.М., Бабро А.А. Формирование стенки микроспорангия пыльника и типизация тапетума покрытосеменных растений. Ботанический журнал. 2019. Т. 104, № 7. С. 1001–1032. DOI: 10.1134/S0006813619070093

[Shamrov I.I., Anisimova G.M., Babro A.A. Formation of anther microsporangium wall and typification of tapetum in angiosperms. *Botanicheskii Zhurnal*. 2019. 104 (7): 1001–1032. DOI: 10.1134/S0006813619070093]

Шевченко С.В., Кузьмина Т.Н., Плугатарь Ю.В., Корсакова С.П. Генезис пыльников и оценка качества мужского гаметофита *Quercus pubescens* Willd. (Fagaceae) // Бюллетень ГНБС. 2023. Вып. 149. С. 139–148. DOI: 10.25684/0513-1634-2023-149-139–148

[Shevchenko S.V., Kuzmina T.N., Plugatar Yu.V., Korsakova S.P. Genesis of anthers and assessment of the quality of male gametophyte of *Quercus pubescens* Willd. (Fagaceae). *Bulletin of the State Nikitsky Botanical Gardens*. 2023. 149:139–148. DOI: 10.25684/0513-1634-2023-149-139-148]

Шевченко С.В., Ругузов И.А., Ефремова Л.М. Методика окраски постоянных препаратов метиловым зеленым и пиронином // Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. 1986. Вып. 60. С. 99–101.

[Shevchenko S.V., Ruguzov I.A., Efremova L.M. Staining methods if permanent preparation with metyl green pyronin. *Bull. Of the State Nikina Botan.* 1986. 60:99–101.]

Batygina T.B., Vasilyeva V.E. Periodization in the development of flowering plant reproductive structures: critical periods // *Acta Biologica Cracoviensia. Series Botanica.* 2003. Vol. 45. No. 1. P. 27–36.

Bogdziewicz M., Kelly D., Thomas P.A., Lageard J.G.A., Hacket-Pain A. Climate warming disrupts mast seeding and its fitness benefits in European beech // *Nature Plants.* 2020. Vol. 6. P. 88–94. DOI: 10.1038/s41477-020-0592-8

Bykova O., Limousin J.-M., Ourcival J.-M., Chuine I. Water deficit disrupts male gametophyte development in *Quercus ilex* // *Plant Biology.* 2018. Vol. 20(3). P. 450–455. doi: 10.1111/plb.12692.

Chawla M., Verma V., Kapoor M., Kapoor S. A novel application of periodic acid–Schiff (PAS) staining and fluorescence imaging for analyzing tapetum and microspore development // *Histochem Cell Biol.* 2017. Vol. 147. P. 103–110. DOI: 10.1007/s00418-016-1481-0.

Fadón E., Fernandez E., Behn H., Luedeling E.A Conceptual framework for winter dormancy in deciduous trees // *Agronomy.* 2020. Vol. 10. P. 241–261. DOI:10.3390/agronomy10020241

Fadón E., Herrera S., Gheban T.I., Rodrigo J. Chilling requirements of apricot (*Prunus armeniaca* L.) cultivars using male meiosis as a dormancy biomarker // *Plants.* 2023. 12. P. 3025–3036. DOI: 10.3390/plants12173025

García-Mozo H., Gómez-Casero M.T., Domínguez E., Galán C. Influence of pollen emission and weather related factors on variations in holm oak (*Quercus ilex* subsp. *ballota*) acorn production // *Environmental and Experimental Botany.* 2007. Vol. 61. P. 35–40. DOI: 10.1016/j.envexpbot. 2007.02.009

Julian C., Herrero M., Rodrigo J. Flower bud differentiation and development in fruiting and non-fruiting shoots in relation to fruit set in apricot (*Prunus armeniaca* L.) // *Trees-Struct. Funct.* 2010. 24 (5). P. 833–841. DOI:10.1007/s00468-010-0453-6

Kawanabe T., Ariizumi T., Kawai-Yamada M., Uchimiya H., Toriyama K. Abolition of the tapetum suicide program ruins microsporogenesis // *Plant Cell Physiol.* 2026. Vol. 47. P. 784–787. DOI:10.1093/pcp/pcj039

Le Roncé I., Gavinet J., Ourcival J.-M., Mouillot F., Chuine I., Limousin J.-M. Holm oak fecundity does not acclimate to a drier world // *New Phytol.* 2021. 231(2): 631–645. DOI: 10.1111/nph.17412

Oshino T., Abiko M., Saito R., Ishiishi E., Endo M., Kawagishi-Kobayashi M., Higashitani M. Premature progression of anther early developmental programs accompanied by comprehensive alteration on transcription during high-temperature injury in barley plants // *Mol. Genet. Genomics.* 2007. Vol. 278. P. 31–42. DOI: 10.1007/s00438-007-0229-x

Pacini E. Tapetum character states: analytical keys for tapetum types and activities // *Canad. J. Bot.* 1997. Vol. 75(9). P: 1448–1459.

Pérez-Ramos I.M., Rodríguez-Calcerrada J., Ourcival J.M., Rambal S. *Quercus ilex* recruitment in a drier world: a multi-stage demographic approach // *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics.* 2013. Vol. 15. P. 106–117.

Shibata M., Masaki T., Yagihashi T., Shimada T., Saitoh T. Decadal changes in masting behaviour of oak trees with rising temperature // *Journal of Ecology.* 2020. Vol. 108. P. 1088–1100. DOI: 10.1111/1365-2745.13337

Spano D., Cesaraccio C, Duce P., Snyder R.L. Phenological stages of natural species and their use as climate indicators // *International Journal of Biometeorology.* 1999. V. 42. P. 124–133. DOI: 10.1007/s004840050095

Suzuki K., Takeda H., Tsukaguchi T., Egawa Y. Ultrastructural study on degeneration of tapetum in anther of snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under heat stress // Sex Plant Reprod. 2001. Vol. 13. P: 293–299.

Zhang Z., Hu M., Xu W., Wang Y., Huang K., Zhang Ch., Wen J. Understanding the molecular mechanism of anther development under abiotic stresses // Plant Molecular Biology. 2021. Vol. 105. P.:1–10. DOI: 10.1007/s11103-020-01074-z

Статья поступила в редакцию

Kuzmina T.N., Shevchenko S.V., Korsakova S.P. Development of the male generative sphere of *Quercus ilex* L. (Fagaceae) in the conditions of the Southern Coast of Crimea // Plant Biology and Horticulture: theory, innovation. 2025. № 1 (174). P. 17-29

The results of the study of the genesis of anthers of *Quercus ilex* L. (Fagaceae) and the quality of its pollen grains, depending on the height of growth and the form of flowering, are presented. It has been established that differentiation of the cell layers of the anthers of *Q. ilex* begins in the 3rd decade of July of the year preceding flowering. Sporogenic cells form in early October. Generative buds have been in that state for six months. The reactivation of growth processes and differentiation of the cell layers of microsporangium occurs in April. Transition of anthers *Q. ilex* of the early flowering form to microsporogenesis was observed in the 2nd decade of April, and in the late form meiosis was noted in the 3rd decade of April. Dusting in *Q. ilex*, depending on the form of flowering, was observed in the 1st – 3rd decades of May. The differentiation of the microsporangium wall of *Q. ilex* has a centrifugal type. The tapetum is secretory type. The wall of the formed anther consists of the epidermis, endothecium, middle layer and tapetum. In its mature state, it is formed from epidermal cells and endothecium with fibrous thickenings. Microsporogenesis in *Q. ilex* follows a simultaneous type with the formation of tetrads with tetrahedral decomposition of microspores. Mature pollen grains in *Q. ilex* are bicellular. In *Q. ilex*, with abnormal development of anthers, apoptosis of tapetal tissue cells does not occur, as a result of which the development of microspores was suspended, which led to sterility. It was revealed that the quality of pollen of *Q. ilex* depends on the height of the plant and the form of flowering. The largest proportion of morphologically normal pollen grains was observed in early flowering plants located at an altitude of 160 m a.s.l. (85–90%). Abnormal and sterile pollen grains prevailed in plants growing at an altitude of 30m a.s.l.

Key words: oak; cytoembryology; anther; genesis; microsporogenesis; pollen grains