

СООБЩЕНИЯ

РАЗВИТИЕ НЕСКОЛЬКИХ ЗАРОДЫШЕВЫХ МЕШКОВ
В СЕМЯЗАЧАТКЕ *RAEONIA ANOMALA* (RAEONIACEAE)

© 2025 г. Е. А. Сапунова¹, Г. Ю. Виноградова^{1,*}

Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН
ул. Проф. Попова, 2, Санкт-Петербург, 197022, Россия

*e-mail: vinogradova-galina@binran.ru

Поступила в редакцию 05.12.2024 г.

Получена после доработки 11.12.2024 г.

Принята к публикации 14.01.2025 г.

В статье представлены результаты исследования развития семязачатка и женского гаметофита у *Raeonia anomala*. Подтверждена возможность образования нескольких зародышевых мешков в одном семязачатке за счет развития нескольких мегаспороцитов многоклеточного спорогенного комплекса и вступления их в мейоз. Установлено, что в семязачатке в мейоз могут вступать от 1 до 4 мегаспороцитов, у которых формируется каллозная оболочка. Наиболее часто образуются 2–3 тетрады мегаспор, хотя дальнейшее развитие происходит обычно в одной тетраде; остальные могут сохраняться в интактном состоянии до позднего 4-ядерного зародышевого мешка. Обсуждены возможные причины развития единственного зародышевого мешка: конкуренция между тетрадами, нарушения в мейозе, механизмы, регулирующие судьбу клеток и программу их развития. Выявлены некоторые морфогенетические корреляции в развитии зародышевого мешка и окружающих структур семязачатка. В частности, показано, что развитие двух зародышевых мешков на поздней 4-ядерной стадии приводит к частичной или полной деструкции нуцеллярного колпачка, тогда как при развитии одного гаметофита он долго сохраняется. Отмечена динамика крахмала в тканях нуцеллуса в период развития гаметофита: его накопление сперва в клетках базальной части, где происходит формирование тетрад и 2-ядерного зародышевого мешка, а затем наибольшая концентрация в латеральных частях париетальной ткани, окружающих растущий гаметофит.

Ключевые слова: *Raeonia*, Raeoniaceae, семязачаток, зародышевый мешок, мегаспорогенез

DOI: 10.31857/S0006813625020041, **EDN:** DNELVA

Успех репродукции растения во многом зависит от нормального развития репродуктивных структур. Кроме того, у многих растений в процессе эволюции выработались механизмы, способствующие поддержанию системы репродукции без ущерба воспроизведению и размножению. По мнению Т.Б. Батыгиной (Batygina, 1993, 1999, 2002), к числу таких механизмов относятся так называемые резервы репродукции, создаваемые формированием дублирующих структур, например, дополнительных спорогенных клеток (множественный археспорий), зародышевых мешков, зародышей (полиэмбриония), функцией которых является поддержание репродукции в случае гибели основной структуры в силу эндогенных или экзогенных факторов.

Образование дополнительных зародышевых мешков у покрытосеменных растений связано

с реализацией потенциалов нескольких спорогенных клеток (множественного археспория), формирующихся у некоторых растений родов *Casuarina* J.R. Forst. & G. Forst. (Treub, 1891; Swamy, 1948; Flores, Moseley, 1982; Sogo et al., 2004), *Corylus* L. (Schnarf, 1929), *Bunium* L., *Muretia* Boiss., *Malabaila* Hoffm. (Kordyum, 1967); *Potentilla* L. (Mandrik, Mentkovskaya, 1977; Eriksen, Fredkinson, 2000; Dobeš et al., 2015), *Euphorbia* L. (Modilewski, 1909, 1911; D'Amato, 1946; Vinogradova, 2017; Titova et al., 2018; Titova, Nyukalova, 2021) и др. В этих случаях дополнительные зародышевые мешки развиваются за счет вступления в мейоз нескольких мегаспороцитов и параллельного развития мегаспор из разных тетрад. Несколько зародышевых мешков в одном семязачатке могут образоваться при развитии нескольких мегаспор одной тетрады при моноспорическом типе развития, на-

пример, у *Oenothera* L. (Renner, 1921; Rodkiewicz et al., 1971; Noher de Halac, Harte, 1977, 1985; Śnieżko, Harte, 1984), *Taraxacum* L. (Musiał et al., 2015), или диады — при биспорическом, например, у *Allium* L. (Vinogradova, 2013). Также к данному явлению можно отнести случаи апоспории у ряда видов семейств Poaceae, Asteraceae и некоторых других, когда в одном семязачатке формируются два зародышевых мешка, один из которых половой природы, формирующийся из мегаспороцита посредством мегаспорогенеза, другой — апомиктической, формирующийся из соматической клетки нуцеллуса посредством митотического деления (Muntzing, 1938; Chen, Kozono, 1994; Carman, 1997; Shishkinskaya et al., 2004; Voronova, Gavrilova, 2007; Carman et al., 2011; Yudakova, Kaybeleva, 2014; Kaybeleva, Yudakova, 2022).

Несмотря на разнообразие способов формирования дополнительных зародышевых мешков, их развитие в одном семязачатке происходит в условиях конкуренции (Noher de Halac, Harte, 1977, 1985; Batygina, 1999, 2002; Vinogradova, 2013), полное созревание элементов в обоих зародышевых мешках происходит редко. Чаще всего дополнительные зародышевые мешки прекращают свое развитие на ранних ценоцитарных стадиях. Однако у некоторых растений несколько зародышевых мешков могут сохранять свою жизнеспособность до зрелого состояния. К их числу относятся виды пионов, для которых авторы отмечали наличие в сформированном семязачатке до 4 зрелых зародышевых мешков (Yakovlev, Ioffe, 1957, 1965; Walters, 1962; Shamrov, 1997). Однако закономерности образования нескольких гаметофитов и способность их достигать зрелого состояния остаются еще слабо изученными.

В связи с этим целью настоящей работы является изучение особенностей формирования многоклеточного спорогенного комплекса, вступления в мейоз нескольких мегаспороцитов и развития нескольких зародышевых мешков в одном семязачатке у *Paeonia anomala* L.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалом для исследования послужили бутоны и цветки в период распускания, собранные с растений *Paeonia anomala* из коллекции открытого грунта Ботанического сада Ботанического

института им. В.Л. Комарова РАН (Санкт-Петербург). Плодолистики или выделенные из них семязачатки, прикрепленные к плаценте, были зафиксированы с фиксаторе Навашина (1%-ный водный раствор хромовых квасцов: 16%-ный раствор формалина: ледяная уксусная кислота в соотношении 10:4:1 по объему) или в 4%-ном растворе параформальдегида в течение 2 сут. Затем материал был отмыт и переведен в 70%-ный этанол для хранения. Обработка материала и приготовление препаратов проводили по общепринятой цитоэмбриологической методике (Pausheva, 1980). Срезы толщиной 8–10 мкм были сделаны на микротоме Microm HM 325 (Carl Zeiss, Germany). Окраску препаратов проводили гематоксилином по Эрлиху с подкраской алциановым синим. Заключали срезы в поливиниловый спирт Mowiol (Fluka, Germany). Для выявления каллозы срезы после депарафинирования были окрашены анилиновым синим (0.1%-ный раствор в 50%-ном этаноле с добавлением 0.1 N раствора K_2HPO_4 в соотношении 3:1 по объему) и заключены в 65%-ный раствор сахарозы под покровные стекла. Для выявления крахмала в тканях семязачатка использована окраска 5%-ным спиртовым раствором йода. Анализ препаратов проводили с помощью микроскопа Axio Imager Z1 (Carl Zeiss, Germany) ЦКП БИН РАН; фотографии выполнены цифровой камерой AxioCam 506 color и обработаны ПО Zen Blue Editor (Carl Zeiss, Germany).

РЕЗУЛЬТАТЫ

У *Paeonia anomala* в апокарпном гинецее закладывается от 12 до 18 семязачатков, расположенных по обеим сторонам брюшного шва плодолистика. Примордий семязачатка формируется на небольшом плацентарном выросте. Примерно в центральной зоне примордия по периферии начинается инициация интегументов, сперва внутреннего из эпидермальных инициалей, затем наружного из производных эпидермального и субэпидермального слоев. В это время в апикальной части примордия эпидермальные клетки периклинально делятся и формируется 2-слойный нуцеллярный колпачок. Периклинальное деление происходит и в субэпидермальном слое, благодаря которому формируется 2-слойная париетальная ткань. Три клетки, расположенные ниже этих слоев, увеличиваются в размерах и начина-

ют дифференцироваться как спорогенные клетки. Они выделяются более крупными размерами с крупным ядром, расположенным в центре, и менее плотной цитоплазмой по сравнению с окружающими клетками нуцеллуса. Под спорогенными клетками можно различить еще два слоя базальной части нуцеллуса, ниже которых дифференцируется слой гипостазы, подходящей к основанию интегументов (рис. 1, 1; 2, 1).

Дальнейший рост семязачатка сопровождается интенсивными делениями клеток всех тканей, включая спорогенные клетки, которые перед делением вытягиваются в продольном направлении. Формируется многоклеточный спорогенный комплекс (рис. 1, 2, 3; 2, 2, 3). Число спорогенных клеток в таком комплексе может варьировать в разных семязачатках, достигая 12–18 клеток, что вероятно связано с интенсивностью их делений. В период митотических делений спорогенных клеток семязачаток увеличивается в размере, удлиняются интегументы, которые растут примерно с одинаковой скоростью и их апикальные части располагаются на одном уровне. Однако интегументы различаются по толщине: внутренний имеет 3 слоя клеток, наружный – 5 слоев к началу профазы деления в спорогенных клетках и достигает 7 слоев ко времени окончательной дифференциации мегаспороцитов в спорогенном комплексе. К этому времени оба интегумента достигают верхушки нуцеллуса. В основании интегументов располагается один слой клеток гипостазы, отграничивающий нуцеллус от халазы, в которой начинает формироваться прокамбиальный тяж (рис. 1, 2, 3). В нуцеллусе продолжают деления в париетальной ткани, которая становится 4-слойной, и в нуцеллярном колпачке, который увеличивается до 3 слоев. Латеральная зона нуцеллуса включает 4 слоя клеток, базальная остается 2-слойной. За счет наиболее интенсивных делений с абаксиальной стороны семязачатка, он разворачивается в гемитропное положение. Фуникулус практически не развит, на плацентарном выросте эпидермальные клетки начинают вытягиваться, формируя плацентарный обтуратор (рис. 1, 2, 3).

Мегаспороциты приступают к мейотическому делению, когда интегументы начинают обрастать верхушку нуцеллуса. Заканчивается мегаспорогенез, как правило, когда интегументы полностью обрастают нуцеллус, вытягиваются в своей апи-

кальной части, начиная формировать микропиле (рис. 1, 4). Мегаспорогенез может происходить в нескольких мегаспороцитах, но не всегда одновременно, поэтому в семязачатке могут присутствовать наряду с тетрадами, диады или мегаспороциты в профазе (рис. 1, 4; 2, 4); иногда формируется лишь одна тетрада (рис. 2, 5). Следует отметить, что в мейоз вступают мегаспороциты, расположенные в халазальной части комплекса на границе с базальной частью нуцеллуса. У мегаспороцитов, вступающих в профазу мейоза I, в микропилярной части формируется каллозная оболочка. В большинстве семязачатков таких мегаспороцитов 2–3, но иногда каллозная оболочка формируется только у одного мегаспороцита, и очень редко их число достигает 4.

Период мегаспорогенеза у *P. anomala* занимает относительно продолжительное время. К стадии формирования тетрад мегаспор помимо вытягивания интегументов и их полного обрастания нуцеллуса, увеличивается массивность его апикальной части за счет продолжающихся периклинальных делений в париетальной ткани и нуцеллярном колпачке, число слоев которых увеличивается до 8–9 и 4–5 соответственно. Число слоев в латеральной и базальной частях нуцеллуса сохраняется прежним (рис. 1, 4). Следует отметить, что в это время в клетках нуцеллуса, окружающих тетрады мегаспор, активно аккумулируется крахмал; также крахмал накапливается и в клетках париетальной ткани, преимущественно в ее центральной зоне (рис. 2, 9). Вероятно, это связано с активным транспортом веществ по этим клеткам к формирующемуся гаметофиту и, возможно, выполнение ими функции питания гаметофита.

Число тетрад мегаспор в исследованных семязачатках варьировало от 1 до 4. Мегаспоры в тетрадах после образования примерно одинакового размера, однако по мере развития халазальная мегаспора начинает расти в объеме и преобладает над остальными, которые сохраняют свою жизнеспособность некоторое время (рис. 2, 4–6). У мегаспор в тетрадах сохраняется каллозная оболочка, толщина которой неравномерна. Наиболее толстый слой каллозы откладывается в апикальной части тетрады, окружая микропилярные мегаспоры, также относительно плотный слой присутствует на поперечных стенках между мегаспорами; на халазальном конце халазальной ме-

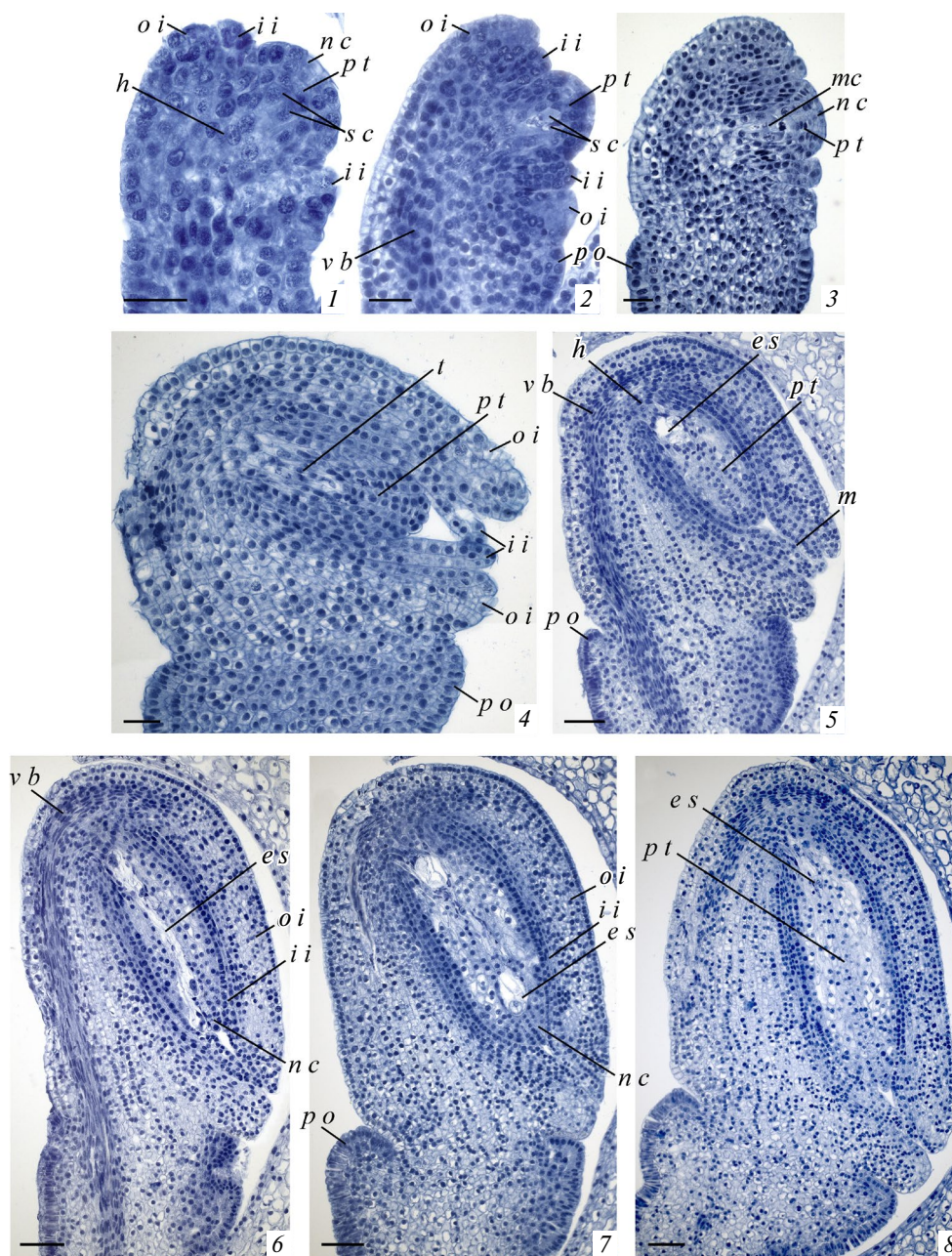


Рис. 1. Развитие семязачатка *Paeonia anomala*: 1 – примордий семязачатка на стадии инициации интегументов и спорогенных клеток; 2–7 – строение семязачатка на стадиях: митотического деления спорогенных клеток и увеличения их числа (2), мегаспороцитов (3), тетрад мегаспор (4), 2-ядерного зародышевого мешка (5), 4-ядерного зародышевого мешка (6) и зародышевого мешка в процессе созревания (7); 8 – сформированный семязачаток с дегенерирующим зародышевым мешком на 4-ядерной стадии.

es – зародышевый мешок, *h* – гипостаза, *ii* – внутренний интегумент, *m* – микропиле, *mc* – мегаспороцит, *nc* – нуцеллярный колпачок, *oi* – наружный интегумент, *po* – плацентарный обтуратор, *pt* – париетальная ткань, *sc* – спорогенные клетки, *t* – тетрада мегаспор, *vb* – проводящий пучок.

Шкала: 1–4 – 50 мкм, 5–8 – 100 мкм.

Fig. 1. Ovule development in *Paeonia anomala*: 1 – ovule primordium at the stage of integument and sporogenous cell initiation; 2–7 – structure of the ovule at the stages of: mitotic division of sporogenous cells and increase in their number (2), megasporocytes (3), megaspore tetrads (4), 2-nucleate embryo sac (5), 4-nucleate embryo sac (6), and embryo sac during maturation (7); 8 – formed ovule with a degenerating embryo sac at the 4-nucleate stage.

es – embryo sac, *h* – hypostase, *ii* – inner integument, *m* – micropyle, *mc* – megasporocyte, *nc* – nucellar cap, *oi* – outer integument, *po* – placental obturator, *pt* – parietal tissue, *sc* – sporogenous cells, *t* – megaspore tetrad, *vb* – vascular bundle.

Scale: 1–4 – 50 μ m, 5–8 – 100 μ m.

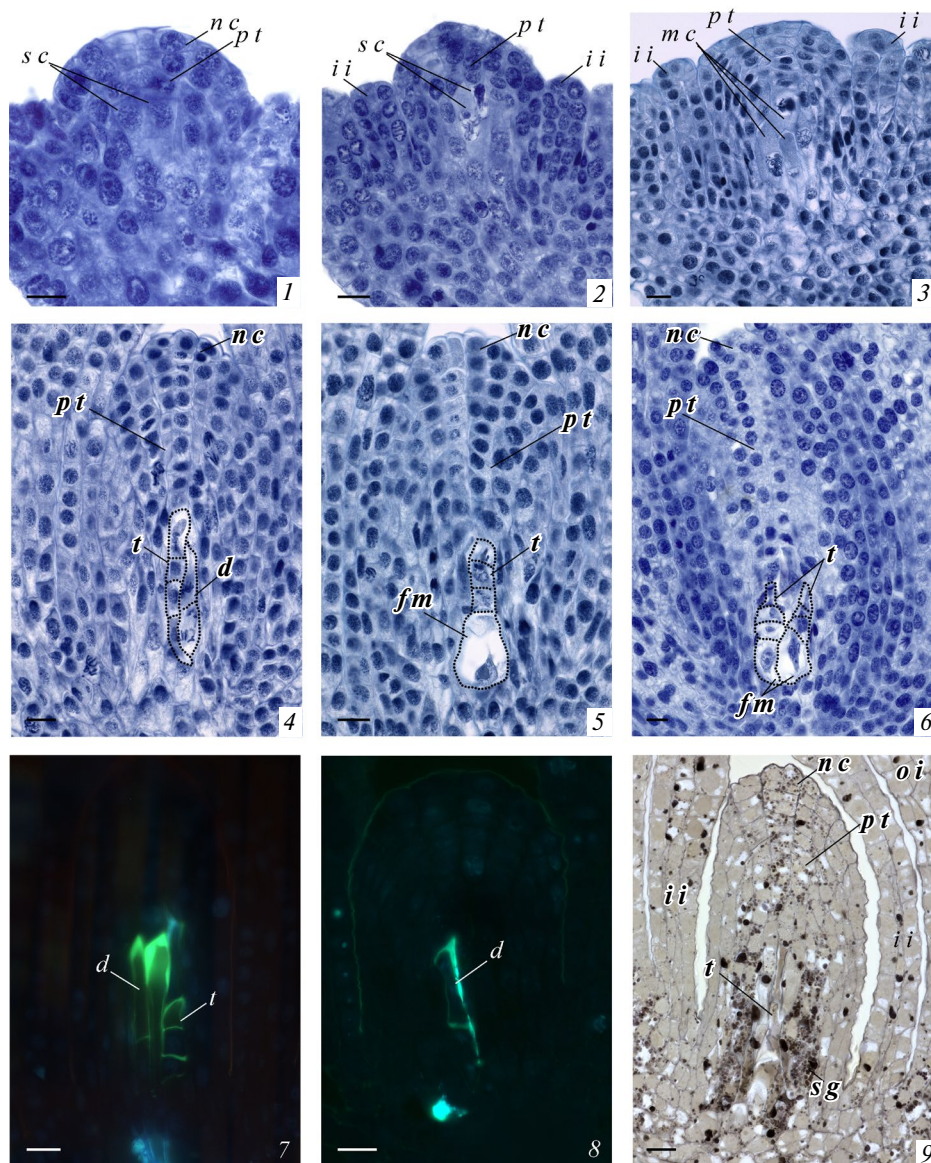


Рис. 2. Развитие многоклеточного спорогенного комплекса и мегаспорогенез в семязачатке *Paeonia anomala*: 1 – дифференциация спорогенных клеток; 2 – профазы митотического деления в спорогенных клетках, приводящего к увеличению их числа; 3 – спорогенный комплекс из нескольких мегаспороцитов, расположенных в 2 слоя в центральной части нуцеллуса; 4–8 – формирование одной или нескольких тетрад мегаспор и диад, в клетках которой ядра находятся в состоянии мейоза II (5 – развитие функциональной халазальной мегаспоры; 7, 8 – визуализация тетрад мегаспор при окраске каллозы анилиновым синим и флуоресцентной микроскопии); 9 – локализация крахмала в клетках семязачатка, преимущественно в базальной части нуцеллуса вблизи тетрады мегаспор и в меньшем количестве в клетках париетальной ткани; *d* – диада клеток, сформированных после мейоза I, *fm* – функциональная мегаспора, *ii* – внутренний интегумент, *mc* – мегаспороцит, *nc* – нуцеллярный колпачок, *oi* – наружный интегумент, *pt* – париетальная ткань, *sc* – спорогенные клетки, *sg* – зерна крахмала, *t* – тетрада мегаспор.

Шкала: 1–9 – 20 мкм.

Fig. 2. Development of the multicellular sporogenous complex and megasporogenesis in the ovule of *Paeonia anomala*: 1 – differentiation of sporogenous cells; 2 – prophase of mitotic division in sporogenous cells, leading to an increase in their number; 3 – sporogenous complex consisting of several megasporocytes arranged in 2 layers in the central part of the nucellus; 4–8 – formation of one or several tetrads of megaspores and dyads, in which the nuclei are in meiosis II (5 – development of the functional chalazal megaspore; 7, 8 – visualization with fluorescent microscopy of the tetrads of megaspores stained with aniline blue); 9 – localization of starch in the cells of the ovule, predominantly in the basal part of the nucellus near the tetrad of megaspores and in smaller quantities in the cells of the parietal tissue; *d* – dyad of cells formed after meiosis I, *fm* – functional megaspore, *ii* – inner integument, *mc* – megasporocyte, *nc* – nucellar cap, *oi* – outer integument, *pt* – parietal tissue, *sc* – sporogenous cells, *sg* – starch grains, *t* – tetrad of megaspores.

Scale: 1–9 – 20 μ m.

гаспоры каллоза практически отсутствует или ее слой прерывистый (рис. 2, 7–8).

После увеличения халазальной мегаспоры и ее деления образуется 2-ядерный зародышевый мешок. В семязачатках с несколькими тетрадами часто только из одной формируется 2-ядерный зародышевый мешок, остальные остаются в интактном состоянии (табл. 1, рис. 3, 1). Зародышевый мешок начинает расти в сторону микропиле. При этом начинается разрушение приле-

гающих к нему с микропилярной стороны клеток париетальной ткани, однако число слоев этой ткани остается 8–9, что предполагает продолжающиеся деления ее клеток в микропилярной части. Также увеличивается число слоев в нуцеллярном колпачке до 6 (рис. 1, 5; 3, 1, 2). Толщина латеральной и базальной частей нуцеллуса не изменяется, хотя клетки латеральной части, прилегающие к зародышевому мешку, начинают проявлять признаки деструкции: клетки сжимаются,

Таблица 1. Количественное соотношение развивающихся гаметофитов, включая стадию тетрады мегаспор, в семязачатках

Table 1. Quantitative ratio of developing gametophytes, including the megaspore tetrad stage, in ovules

Стадия развития Developmental stages	Количество семязачатков / Number of ovules					Всего Total
	с 1 гаметофитом* with 1 gametophyte*	с 2 гаметофитами* with 2 gametophytes*	с 3 гаметофитами* with 3 gametophytes*	с 4 гаметофитами* with 4 gametophytes*	с дегенерирующими гаметофитами* with degenerating gametophytes*	
Тетрады мегаспор Megaspore tetrads	14	21 (из них 4 случая с 1 тетрадой и 1 диадой) 21 (4 of them with 1 tetrad and 1 dyad)	7 (из них 2 случая с 2 тетрадами и 1 диадой) 7 (2 of them with 2 tetrads and 1 dyad)	2 (из них 1 случай с 3 тетрадами и 1 диадой) 2 (1 of them with 3 tetrads and 1 dyad)	2 тетрады 2 tetrads	46
2-ядерный зародышевый мешок 2-nucleate embryo sac	24 (из них 19 с присутствием 1–2 тетрад) 24 (19 of them with the presence of 1–2 tetrads)	11 (из них 4 с присутствием 1 тетрады) 11 (4 of them with the presence of 1 tetrad)	—	—	3 тетрады 3 tetrads	38
4-ядерный зародышевый мешок 4-nucleate embryo sac	15 (из них 3 с 1–2 тетрадами и 3 с 1–2 2-ядерным зародышевым мешком) 15 (3 of them with the presence of 1–2 tetrads, and 3 with 1–2 2-nucleate embryo sacs)	7 (из них 2 с 1–2 тетрадами и 5 с 1–2 2-ядерным зародышевым мешком) 7 (2 of them with the presence of 1–2 tetrads and 3 with 1–2 2-nucleate embryo sacs)	1	—	11 (из них 8 тетрад и 3 4-ядерных зародышевых мешка) 11 (8 of them were tetrads, and 3 were 4-nucleate embryo sacs)	33
Сформированный зародышевый мешок Formed embryo sac	3	1	—	—	—	4

Примечание. * — включая тетрады мегаспор.

Note. * — including the megaspore tetrad stage.

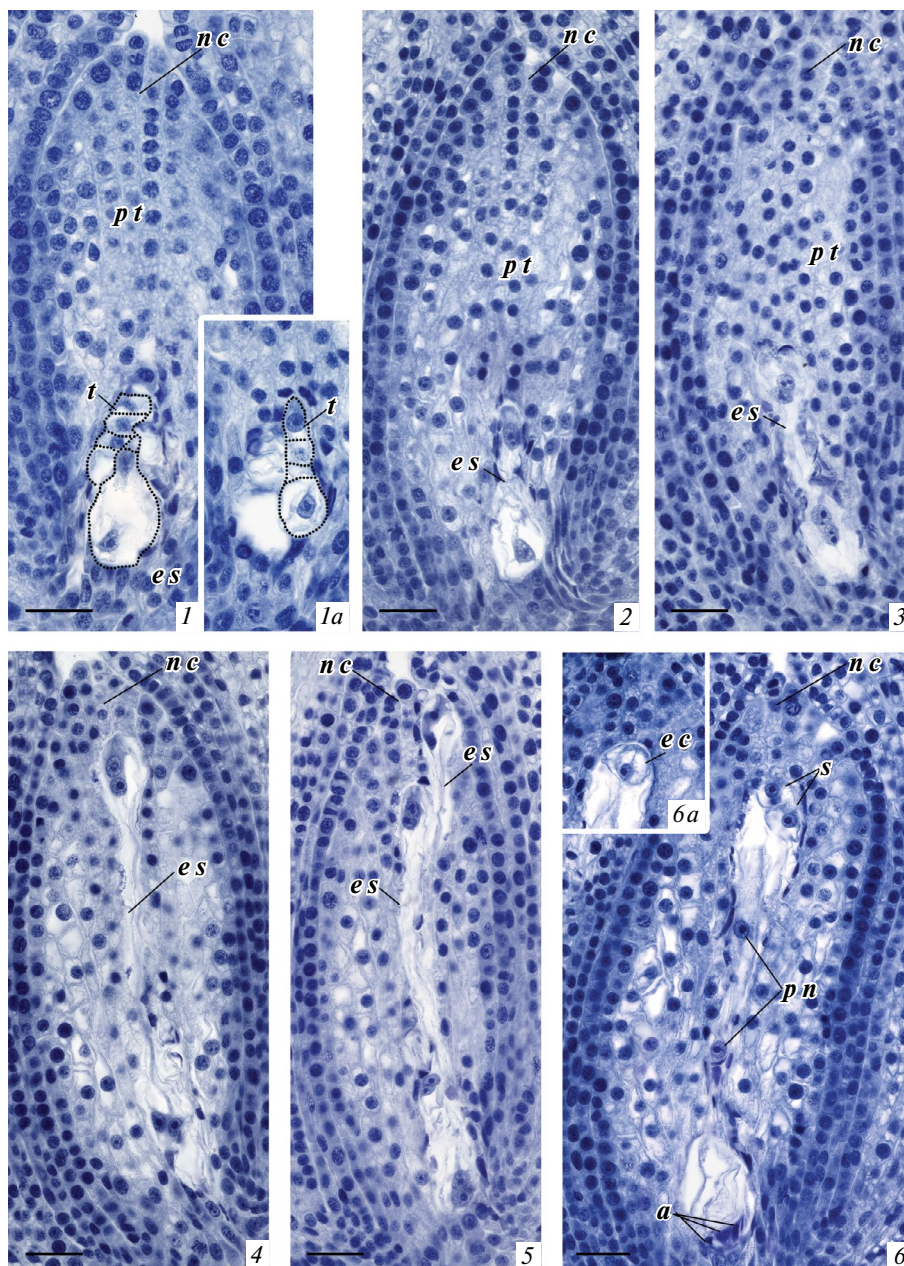


Рис. 3. Развитие зародышевых мешков в семязачатке *Paonia anomala*: 1 – образование 2-ядерного зародышевого мешка из функциональной мегаспоры одной из тетрад, две другие тетрады в семязачатке не развиваются дальше (1а – тетрада мегаспор в том же семязачатке, что и на 1, но на следующем срезе); 2 – 2-ядерный зародышевый мешок, растущий по клеткам париетальной ткани в микропилярном направлении; 3 – 4-ядерный зародышевый мешок, растущий по клеткам париетальной ткани в микропилярном направлении; 4 – 4-ядерный зародышевый мешок; 5 – два 4-ядерных зародышевых мешка в одном семязачатке; 6 – зародышевый мешок в процессе созревания его элементов (6а – яйцеклетка, расположенная на следующем срезе).

а – антиподы, ес – яйцеклетка, еs – зародышевый мешок, nc – нуцеллярный колпачок, pt – париетальная ткань, t – тетрада мегаспор.

Шкала: 1–6 – 50 мкм.

Fig. 3. Development of the embryo sacs in the ovule of *Paonia anomala*: 1 – 2-nucleate embryo sac formed from the functional megaspore of one tetrad, two other tetrads in the ovule do not develop further (1a – tetrad of megaspores in the same ovule as in 1, but in the next section); 2 – 2-nucleate embryo sac growing along the parietal tissue cells in the micropylar direction; 3 – 4-nucleate embryo sac growing along the parietal tissue cells in the micropylar direction; 4 – 4-nucleate embryo sac; 5 – two 4-nucleate embryo sacs in the same ovule; 6 – embryo sac in the process of maturation of its elements (6a – egg cell located in the next section).

a – antipodals, ec – egg cell, es – embryo sac, nc – nucellar cap, pt – parietal tissue, t – tetrad of megaspores.

Scale: 1–6 – 50 μ m.

становятся узкими, их цитоплазма разрушается, хроматин ядер становится плотным, иногда происходит пикноз ядер. В базальной части нуцеллуса, наоборот, клетки становятся крупными, с более плотной цитоплазмой, крупными ядрами, что свидетельствует о выполнении ими транспортной функции (рис. 1, 5; 3, 1, 2).

Семязачаток на стадии 2-ядерного зародышевого мешка продолжает расти, усиливается асимметричный рост его абаксиальной части, приводящий к дальнейшему изгибу оси семязачатка и приобретению геми-кампилотропного положения. Интегументы формируют микропиле — эндо-экзостом. Толщина наружного интегумента увеличивается до 9 слоев, внутренний остается 3-слойным, иногда в области микропиле может утолщаться до 4 слоев. Усиливается дифференциация плацентарного обтуратора, окружающего основание семязачатка (рис. 1, 5).

Второй митоз и образование 4-ядерного ценоцита происходит, когда он достигает примерно половины длины париетальной ткани, продвигаясь по ее центральной части (рис. 3, 3). Строение семязачатка в этот период не изменяется.

Дальнейший рост зародышевого мешка сопровождается продолжением разрушения центральной зоны париетальной ткани до тех пор, пока он не достигнет границы нуцеллярного колпачка. Латеральные части париетальной ткани не разрушаются, в них отмечается накопление крахмала, вероятно, для питания растущего гаметофита. Рост зародышевого мешка в ширину не происходит, и он остается длинным и узким (рис. 1, 6; 3, 4). Иногда в семязачатке развивается два 4-ядерных зародышевых мешка сходного строения (рис. 3, 5). Часто наряду с развивающимися 4-ядерными зародышевыми мешками наблюдаются остатки дегенерирующих 2-ядерных мешков, тетрад или мегаспороцитов, не реализовавших свои потенции (см. табл. 1). Клетки базальной части не разрушаются. Семязачаток продолжает изгибаться, при этом микропиле приближается к плацентарному обтуратору, что характерно для геми-кампилотропного семязачатка. В области рафе проходит массивный проводящий пучок, направленный в халазу, где он образует небольшую ветвь, продолжающуюся в наружный интегумент (рис. 1, 6; 3, 4).

Достигшие нуцеллярного колпачка 4-ядерные мешки приступают к последнему митотическому

делению, которое сопровождается клеткообразованием; формируется 7-клеточный, 8-ядерный зародышевый мешок. Строение семязачатка практически не меняется, лишь продолжает утолщаться наружный интегумент до 11–12 слоев (рис. 1, 7; 3, 6). В некоторых случаях в семязачатке формируется два женских гаметофита (см. табл. 1). Деления в них, как правило, идут синхронно. Зародышевые мешки очень сходны между собой, состоят из яйцевого аппарата на микропиларном полюсе из яйцеклетки и двух синергид, центральной клетки с двумя полярными ядрами и трех антипод на халазальном полюсе. Клетки яйцевого аппарата имеют типичную поляризацию: ядро яйцеклетки смещено к апикальной части, базальную ее часть занимает крупная вакуоль. Синергиды имеют ядра, смещенные в базальное положение, и вакуоли в апикальной части, в основании синергид формируется слабо выраженный нитчатый аппарат. Антиподы небольшие, имеют крупное ядро в центральном положении и плотную цитоплазму без вакуолей. Полярные ядра, формирующиеся вблизи полярных групп клеток, начинают перемещаться к центру зародышевого мешка (рис. 3, 6, 6а). Однако их контакта и слияния не наблюдали, хотя семязачатки были исследованы на момент полного раскрытия цветка и наличия пыльцы на рыльце. Вероятно, полное созревание зародышевого мешка происходит в ходе прогамной фазы оплодотворения.

В одном плодолистике семязачатки, как правило, развиваются синхронно, за исключением небольшого отставания семязачатков, расположенных по краям плаценты. В некоторых плодолистиках отмечено наличие семязачатков меньшего размера и в центральной части плаценты, что показывает их остановку в развитии, связанную с замедлением развития гаметофита — отсутствием мейоза в мегаспороцитах, либо дегенерацией зародышевого мешка на ценоцитных стадиях (см. табл. 1), вплоть до полной деструкции его ядер и сжатия полости зародышевого мешка за счет смыкания тканей нуцеллуса. В некоторых случаях семязачаток продолжает развиваться наряду с соседними, хотя развитие и рост гаметофита останавливаются, как правило, на ранней 4-ядерной стадии (рис. 1, 9). Кроме остановки развития гаметофита или его дегенерации, видимых признаков аберрантности самого семязачатка не наблюдалось. Число таких

семязачатков к моменту раскрытия цветка и опыления может варьировать от 1–2 до 5–6 в зависимости от степени развитости плодолистика.

ОБСУЖДЕНИЕ

Как показало детальное исследование, развитие женских репродуктивных структур у *P. anomala* происходит сходным образом с другими исследованными видами *Paemonia* (Yakovlev, Ioffe, 1957, 1965; Zhgenti, 1974; Shamrov, 1997; Öztürk, Ünal, 2003). Формирование семязачатка, его рост и структурные преобразования очень сходны с описанными у *Paemonia lactiflora* Pall. (Shamrov, 1997). Сформированный семязачаток — красинуцеллярный, битегмальный, гемикампилотропный, с массивным, 11–12-слойным наружным интегументом и 3–4-слойным внутренним интегументом. Следует отметить различное происхождение интегументов — внутреннего за счет эпидермальных инициалей, и наружного за счет эпидермальных и субэпидермальных, что ранее было отмечено только у *P. lactiflora* (Shamrov, 1997) и на основании чего был выделен новый тип образования интегументов — дермально-субдермальный (Shamrov, 2008). Базальная часть нуцеллуса состоит из 2–3 слоев клеток, которые на поздних стадиях развития имеют плотную цитоплазму и крупные ядра, что свидетельствует об их метаболической активности и участии в транспорте веществ к развивающемуся женскому гаметофиту. Накопление большого количества крахмала в клетках базальной части и латеральных частей нуцеллуса вблизи формирующихся тетрад и развивающегося 2-ядерного зародышевого мешка, также указывает на высокую метаболическую активность этих клеток и их участие в питании развивающегося на ранних стадиях гаметофита (Shamrov, 2005). На стадии позднего 4-ядерного и сформированного зародышевого мешка зерна крахмала присутствуют преимущественно в клетках периферической части сохраняющейся париетальной ткани.

О сохранении париетальной ткани на стадии сформированного и зрелого зародышевого мешка в исследованиях других видов пионов не отмечалось, за исключением указания И.И. Шамрова (Shamrov, 1997), что у *P. lactiflora* париетальная ткань разрушается к стадии зиготогенеза; остальные авторы полагали, что париетальная ткань пол-

ностью разрушается растущим зародышевым мешком (Yakovlev, Ioffe, 1957, 1965). Возможно, они считали париетальной тканью только зону над зародышевым мешком, не учитывая, что латеральные области, окружающие большую часть зародышевого мешка, по происхождению также относятся к париетальной ткани. Наши данные показали, что париетальная ткань, которая к стадии 2-ядерного зародышевого мешка становится максимально массивной, достигает 9 слоев клеток. Растущий зародышевый мешок разрушает ее лишь в центральной и апикальной областях, когда гаметофит достигает нуцеллярного колпачка, который, по-видимому, может долго сохраняться. У *P. lactiflora* клетки нуцеллярного колпачка, образованного 4 слоями клеток, сохраняются до стадии раннего проэмбрио (Shamrov, 1997). Следует отметить, что при развитии двух зародышевых мешков один или оба из них разрушают и ткань нуцеллярного колпачка, от которого сохраняется лишь эпидермальный слой. Вероятно, развитие двух гаметофитов требует больше питательных веществ, из-за чего происходит более интенсивное и быстрое разрушение париетальной ткани и нуцеллярного колпачка.

Наши данные подтвердили, что у *P. anomala* развитие нескольких зародышевых мешков обусловлено формированием многоклеточного спорогенного комплекса, как и у других исследованных видов (Yakovlev, Ioffe, 1957, 1960, 1965; Walters, 1962; Zhgenti, 1974; Shamrov, 1997; Öztürk, Ünal, 2003). Число клеток спорогенного комплекса может достигать 18–20 у *P. veitchii* Lynch и 25–27 у *P. causacisa* Schipcz. (Vinogradova, Zhinkina, 2021), 25 — у *P. lactiflora* (Shamrov, 1997), 30–40 — у *P. californica* Nutt. (Walters, 1962). М.С. Яковлев и М.Д. Иоффе (Yakovlev, Ioffe, 1960, 1965), изучавшие мегаспорогенез у различных видов *Paemonia*, в том числе *P. anomala*, отмечали трудность в подсчете числа спорогенных клеток в силу их неоднократного деления и роста в разных направлениях, а также вследствие отсутствия четких границ между спорогенным комплексом и нуцеллярными клетками. По нашим данным у *P. anomala* на ранних стадиях спорогенные клетки отличаются от окружающих клеток более крупными размерами и менее плотной цитоплазмой, хотя они способны периклинально делиться перед дифференциацией в мегаспороциты. Мегаспороциты сильно вытянуты в продольном направлении, имеют центрально расположен-

ное удлиненное ядро. Эти клетки занимают центральную область нуцеллуса, формируя колонку из 5–6 вертикальных рядов по 2–3 слоя в каждом, т. е. общее число мегаспороцитов может варьировать в пределах 12–18 клеток.

Как и у других видов пионов (Yakovlev, Ioffe, 1965; Zhgenti, 1974; Shamrov, 1997; Vinogradova, Zhinkina, 2021), дифференциация мегаспороцитов происходит асинхронно, первыми дифференцируются клетки, расположенные в халазальной части комплекса. Именно эти клетки первыми вступают в профазу мейоза, что можно наблюдать по изменению хроматизации их ядер и образованию синептомального комплекса. В это время у некоторых из этих мегаспороцитов на плазмалемме (клеточной мембране) начинается синтез каллозы, который, по-видимому, осуществляется, как и у других растений, в сторону клеточной стенки (Piršelová, Matušíková, 2013), образуя между ними каллозный слой (каллозную оболочку). Именно мегаспороциты с каллозной оболочкой далее проходят все этапы мегаспорогенеза и формируют тетрады мегаспор, что подтверждает подобный факт, отмеченный у *P. caucasica* и *P. veitchii* (Vinogradova, Zhinkina, 2021). В отличие от этих двух видов, у которых наиболее часто в семязачатке лишь один мегаспороцит имеет каллозную оболочку и формирует после мейоза единственную тетраду мегаспор (хотя отмечены случаи образования двух тетрад), у *P. anomala* наиболее часто наблюдалось образование 2–3 мегаспороцитов с каллозной оболочкой и, соответственно, 2–3 тетрад мегаспор, очень редко встречались случаи с 4 тетрадами (см. табл. 1). У *P. lactiflora* отмечено формирование крупных мегаспороцитов в профазе мейоза I в микропилярной части спорогенного комплекса, которые, предположительно, развиваются в диплоспорические зародышевые мешки, наблюдаемые автором на более поздних стадиях наряду с основным зародышевым мешком, но отстающих от него в развитии (Shamrov, 1997). Существование такого способа образования зародышевого мешка у пионов, вероятно, допустимо и без образования каллозной оболочки вокруг мегаспороцита, как, например, у земляники, у которой было показано, что каллоза может быть маркером для определения типа развития зародышевого мешка в случае образования нескольких гаметофитов в одном семязачатке, так как развитие апомиктических (апоспорических) зародышевых мешков,

в отличие от амфимиктических, происходит без отложения каллозы (Leszczuk et al., 2018).

Следует подчеркнуть, что толщина каллозного слоя вокруг мегаспороцита и вокруг мегаспор тетрады неравномерная: наиболее толстый слой – на апикальном конце вокруг микропилярной мегаспоры, а также на поперечных стенках, тогда как на латеральных стенках слой значительно тоньше, а на халазальном он практически отсутствует. Такая закономерность в распределении каллозы отмечается для многих растений с моноспорическим типом мегаспорогенеза, что по мнению исследователей связано с преимущественным транспортом веществ со стороны халазы из проводящего пучка (Rodkiewicz, 1970; Noher de Halac, Harte, 1977; Rodkiewicz, Bednara, 2002; Rojek et al., 2018).

Образующиеся после мейоза мегаспоры сохраняют свою жизнеспособность продолжительное время, хотя преимущественное развитие получает халазальная, дающая начало зародышевому мешку. Несмотря на частое образование 2–3 тетрад, дальнейшее развитие в большинстве случаев получает лишь одна и соотношение семязачатков с одним и двумя зародышевыми мешками на 2- и 4-ядерной стадиях существенно изменяется в сторону развития одного зародышевого мешка, хотя в некоторых случаях дополнительные тетрады присутствуют в семязачатке рядом с развивающимся ценоцитным зародышевым мешком (см. табл. 1). Возможно, это связано с созданием конкурентных отношений между тетрадами в период определения функциональной мегаспоры, подобно тем, которые существуют при развитии нескольких гаметофитов из мегаспор одной тетрады или диады (Noher de Halac, Harte, 1977, 1985; Vinogradova, 2013; Musial et al., 2015). Например, у *Allium schoenoprasum* L. было показано, что развитие дополнительного зародышевого мешка из микропилярной клетки диады возможно лишь в том случае, если этот зародышевый мешок будет иметь направление своего роста параллельно зародышевому мешку, сформированному из халазальной клетки диады и достигнет базальной части нуцеллуса, где происходит аккумуляция питательных веществ и их транспорт к развивающемуся гаметофиту (Vinogradova, 2013). Сходная картина описана для видов *Oenothera*, у которых часто развиваются две клетки тетрады – микропилярная и халазальная. Их развитие будет реализовано,

если обе клетки будут расти по направлению к париетальной ткани с большим запасом питательных веществ (Noher de Halac, Harte, 1977).

В случае пионов, вероятно, такой жесткой конкуренции не происходит, поскольку оба зародышевых мешка развиваются из халазальных мегаспор собственных тетрад, из мегаспороцитов, занимающих халазальное положение в спорогенном комплексе и имеющих непосредственный контакт с базальной частью нуцеллуса, по клеткам которой происходит транспорт веществ. Для полноценного развития обоих зародышевых мешков возможностей массивного нуцеллуса достаточно. Сходные примеры развития нескольких зародышевых мешков из клеток спорогенного комплекса отмечены у видов *Casuarina*, что авторы связывали с массивным крассинуцеллятным семязачатком (Treub, 1891; Schnarf, 1929).

Также развитие дополнительных зародышевых мешков может быть ограничено и другими механизмами, связанными с сигналингом, регулирующим судьбу функциональной мегаспоры, подобные тем, которые существуют в одной тетраде между мегаспорами, например, молекулярно-генетические механизмы (Demesa-Arévalo, Vielle-Calzada, 2013), или создание различной концентрации ионов кальция в мегаспорах, регулирующих их программу развития (Qiu et al., 2008).

Возможно, остановка развития мегаспор из дополнительных тетрад связана с нарушениями их мейоза и потерей функциональности, как полагал J.L. Walters (1962), что приводит к неспособности дальнейшего развития гаметофита. С этим также может быть связана и остановка некоторых зародышевых мешков на ценоцитных стадиях и их дегенерация, что наблюдалось у данного вида в некоторых семязачатках.

Как показало исследование, у *P. anomala* в некоторых случаях остановка развития происходит во всех тетрадах и не развивается ни одного зародышевого мешка; в редких случаях дегенерируют зародышевые мешки на ценоцитных стадиях. Отсутствие развития гаметофита, как правило, приводит к остановке развития семязачатка и его последующей дегенерации. У *P. lactiflora* отмечены различные нарушения в структуре таких aberrантных семязачатков: увеличение числа слоев интегументального тапетума и апикальной части внутреннего интегумента, гипертрофия их клеток; ранняя дегенерация

нуцеллуса в микропилярной и средней частях, преждевременное накопление танинов в клетках эпидермы наружного интегумента, изменение строения плацентарного obturatora, скоррелированные с гибелью гаметофита и впоследствии всего семязачатка (Shamrov, 1997). По мнению И.И. Шамрова (Shamrov, 2005; 2008), такие нарушения могут быть вызваны изменениями в системе транспорта метаболитов.

Выяснение точных причин остановки развития дополнительных зародышевых мешков (а в некоторых случаях и всех), а также всего семязачатка в целом, требует проведения дальнейших исследований с привлечением дополнительных цитологических, биохимических, генетических, физиологических методов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование развития женских репродуктивных структур у *Paeonia anomala* позволило расширить эмбриологическую характеристику этого вида и рода в целом. Выявлены некоторые закономерности развития семязачатка и морфогенетические корреляции в развитии его тканей и женского гаметофита. В частности, показана корреляция между развитием одного или двух гаметофитов и степенью разрушения париетальной ткани и нуцеллярного колпачка: при наличии двух растущих 4-ядерных мешков происходит разрушение не только центральной зоны париетальной ткани, но и большей части нуцеллярного колпачка, тогда как при развитии одного мешка нуцеллярный колпачок всегда сохраняет свою целостность. Также установлено, что париетальная ткань в ходе развития женского гаметофита практически сохраняет свою целостность в латеральных частях, в клетках которой к стадии позднего 4-ядерного зародышевого мешка накапливается большое количество крахмала. По-видимому, это указывает на ее активное участие в питании гаметофита. На ранних стадиях развития тетрады и 2-ядерного зародышевого мешка аккумуляция крахмала, наоборот, преобладает в клетках базальной части нуцеллуса, тогда как в париетальной ткани его немного.

Развитие нескольких зародышевых мешков у *P. anomala*, как и у других видов пионов, связано с развитием многоклеточного спорогенного комплекса, содержащего от 12 до 18 мегаспороцитов, дифференциация которых происходит

неодновременно. Преимущественное развитие получают мегаспороциты, расположенные в халазальной части спорогенного комплекса, и их вступление в мейоз связано с синтезом каллозы в их клеточной стенке, которая играет важное значение в мегаспорогенезе многих растений. У *P. anomala* обычно в мейоз вступают 2–3 мегаспороцита и формируются 2–3 тетрады мегаспор. Однако дальнейшее развитие получает халазальная клетка, как правило, одной тетрады. Хотя случаи развития двух гаметофитов вплоть до стадии клеткообразования также отмечены. Точной причины такого поведения тетрад в семязачатке установить пока не удалось. Возможно, это связано с конкуренцией между формирующимися тетрадами, либо с нарушениями в мейозе, не позволяющими развиваться гаметофиту дальше, либо с существующими молекулярно-генетическими механизмами, регулирующими программу развития дополнительных тетрад, или с нарушением морфогенетических корреляций между семязачатком и развивающимся гаметофитом. Выяснение этих причин является перспективами дальнейших исследований.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-26-00276, <https://rscf.ru/project/24-26-00276/>. Техническая часть исследования проведена на оборудовании ЦКП “Клеточные и молекулярные технологии изучения растений и грибов” Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (Санкт-Петербург). Авторы благодарны ведущему научному сотруднику Лаборатории анатомии и морфологии БИН РАН, д. б. н., проф. И.И. Шамрову за ценные советы и рекомендации при подготовке рукописи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [Batygina] Батыгина Т.Б. 1993. Эмбриоидогения — новая категория способов размножения цветковых растений. — Тр. Бот. ин-та им. В.Л. Комарова. 8: 15–25.
- [Batygina] Батыгина Т.Б. 1999. Генетическая гетерогенность семян: эмбриологические аспекты. — Физиология растений. 46(3): 438–454.
- Batygina T.B. 2002. Ovule and seed viewed from reliability of biological systems. — In: Embryology of flowering plants. Terminology and concepts. Vol. 1. Generative organs of flower. Enfield (NH, USA). P. 214–217.
- Carman J.G. 1997. Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispority, tetraspority and polyembryony. — Biol. J. Linn. Soc. 61: 51–94.
- Carman J.G., Jamison M., Elliott E., Dwivedi K.K., Naumova T.N. 2011. Apospority appears to accelerate onset of meiosis and sexual embryo sac formation in sorghum ovules. — BMC Plant Biology. 11: 9. <http://www.biomedcentral.com/1471-2229/11/9>
- Chen L.Z., Kozono T. 1994. Cytology and quantitative analysis of aposporous embryo sac development in guineagrass (*Panicum maximum* Jacq.). — Cytologia. 59: 259–260.
- D’Amato F. 1946. Nuove ricerche embriologiche e carologiche sul genere *Euphorbia*. — Nuovo Giorn. Bot. Ital. 53: 405–436.
- Demesa-Arévalo E., Vielle-Calzada J.-P. 2013. The classical arabinogalactan protein AGP18 mediates megaspore selection in *Arabidopsis*. — Plant Cell. 25(4): 1274–1287. <https://doi.org/10.1105/tpc.112.106237>
- Dobeš C., Lückl A., Kausche L., Scheffknecht S., Prohaska D., Sykora C., Paule J. 2015. Parallel origins of apomixis in two diverged evolutionary lineages in tribe *Potentilleae* (Rosaceae). — Bot. J. Linn. Soc. 177(2): 214–229. <https://doi.org/10.1111/boj.12239>
- Eriksen B., Fredrikson M. 2000. Megagametophyte development in *Potentilla nivea* (Rosaceae) from Northern Swedish Lapland. — Amer. J. Bot. 87(5): 642–651.
- Flores E.M., Moseley M.F. 1982. The anatomy of the pistillate inflorescence and flower of *Casuarina verticillata* Lamarck (Casuarinaceae) — Amer. J. Bot. 69(10): 1673–1684. <https://doi.org/10.2307/2442922>
- [Kaybeleva, Yudakova] Кайбелева Э.И., Юдакова О.И. 2022. Апомиксис у злаков флоры Саратовской области. — Бот. журн. 107(8): 766–780. <https://doi.org/10.31857/S0006813622080087>
- [Kordyum] Кордюм Е.А. 1967. Цитозембриология семейства зонтичных. Киев. 176 с.
- Leszczuk A., Domaciuk M., Szczuka E. 2018. Unique features of the female gametophyte development of strawberry *Fragaria × ananassa* Duch. — Scientia Horticulturae. 234: 201–209. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.02.030>
- [Mandrik, Mentkovskaya] Мандрик В.Ю., Ментковская Е.А. 1977. Цитозембриологическое исследование некоторых популяций *Potentilla erecta* (L.) Hampe (Rosaceae) в Украинских Карпатах (Микроспорогенез. Дифференциация семяпочки и развитие женского гаметофита). — Бот. журн. 62(7): 1062–1073.
- Modilewski J. 1909. Zur Embryobildung von *Euphorbia procera*. — Ber. Deutsch. Bot. Ges. 27(1): 21–26.
- Modilewski J. 1911. Über die anomale Embryosack-entwicklung bei *Euphorbia palustris* L. und anderen Euphorbiaceen. — Ber. Deutsch. Bot. Ges. 29(7): 430–436.
- Müntzing A. 1938. Note on heteroploid twin plants from eleven genera. — Hereditas. 24(4): 487–491. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1938.tb03222.x>

- Musiał K., Kościńska-Pająk M., Antolec R., Joachimiak A.J. 2015. Deposition of callose in young ovules of two *Taraxacum* species varying in the mode of reproduction. — *Protoplasma*. 252(1): 135–144.
<https://doi.org/10.1007/s00709-014-0654-8>
- Noher de Halac I., Harte C. 1977. Different patterns of callose wall formation during megasporogenesis in two species of *Oenothera* (Onagraceae). — *Pl. Syst. Evol.* 127: 23–38.
<https://doi.org/10.1007/BF00988016>
- Noher de Halac I., Harte C. 1985. Cell differentiation during megasporogenesis and megagametogenesis. — *Phytomorphology*. 35(3-4): 189–200.
- Öztürk R., Ünal M. 2003. Cytoembryological studies on *Paonia peregrina* L. — *J. Cell and Mol. Biol.* 2: 85–89.
- [Pausheva] Паушева З.П. 1980. Практикум по цитологии растений. М. 255 с.
- Piršelová B., Matusíková I. 2013. Callose: the plant cell wall polysaccharide with multiple biological functions. — *Acta Physiol. Plant.* 35: 635–644.
<https://doi.org/10.1007/s11738-012-1103-y>
- Qiu Y.L., Liu R.S., Xie C.T., Russell S.D., Tian H.Q. 2008. Calcium changes during megasporogenesis and megaspore degeneration in lettuce (*Lactuca sativa* L.). — *Sex. Plant Reprod.* 21: 197–204.
<https://doi.org/10.1007/s00497-008-0079-7>
- Renner O. 1921. Heterogamie im weiblichen Geschlecht und Embryosackentwicklung bei Oenotheren. — *Zeitschr. Bot.* 13: 609–621.
- Rodkiewicz B. 1970. Callose in cell walls during megasporogenesis in angiosperms. — *Planta*. 93: 39–47.
- Rodkiewicz B., Bednara J. 2002. Megasporogenesis. — In: *Embryology of flowering plants. Terminology and concepts*. Vol. 1. Generative organs of flower. Enfield (NH, USA). P. 114–115.
- Rodkiewicz B., Bednara J., Pora H. 1971. Alternative localization of the active megaspore in tetrads in *Oenothera muricata*. — *Bull. Acad. Polon. Sci. Ser. Sci. biol.* 19(10): 691–694.
- Rojek J., Kapusta M., Kozieradzka-Kiszkurno M., Majcher D., Gorniak M., Sliwinska E., Sharbel T.F., Bohdanowicz J. 2018. Establishing the cell biology of apomictic reproduction in diploid *Boechera stricta* (Brassicaceae). — *Ann. Bot.* 122(4): 513–539.
<https://doi.org/10.1093/aob/mcy114>
- Schnarf K. 1929. *Embryologie der Angiospermen*. Berlin. 690 p.
- [Shamrov] Шамров И.И. 1997. Развитие семязачатка и семени у *Paonia lactiflora* (Paeoniaceae). — *Бот. журн.* 82(6): 24–46.
- [Shamrov] Шамров И.И. 2005. Транспорт метаболитов и возможные причины образования aberrантных семязачатков. — *Бот. журн.* 90(11): 1651–1675.
- [Shamrov] Шамров И.И. 2008. Семязачаток цветковых растений: структура, функции, происхождение. М. 350 с.
- [Shishkinskaya et al.] Шишкинская Н.А., Юдакова О.И., Тырнов В.С. 2004. Популяционная эмбриология и апомиксис у злаков. Саратов. 145 с.
- Śnieżko R., Harte C. 1984. Polarity and competition between megaspores in the ovule of *Oenothera* hybrids. — *Pl. Syst. Evol.* 144: 83–97.
<https://doi.org/10.1007/BF00986667>
- Sogo A., Noguchi J., Jaffré T., Tobe H. 2004. Pollen-tube growth pattern and chalazogamy in *Casuarina equisetifolia* (Casuarinaceae) — *J. Plant Res.* 117(1): 37–46.
<https://doi.org/10.1007/s10265-003-0129-z>
- Swamy B.G.L. 1948. A contribution to the life history of *Casuarina*. — *Proc. Amer. Acad. Arts and Sci.* 77(1): 3–32.
- [Titova et al.] Титова Г.Е., Яковлева О.В., Жинкина Н.А., Гельтман Д.В. 2018. Развитие семени у некоторых видов секций *Helioscopia* и *Esula* подрода *Esula* рода *Euphorbia* (Euphorbiaceae). — *Бот. журн.* 103(11): 1355–1389.
<https://doi.org/10.7868/S0006813618110017>
- [Titova, Nyukalova] Титова Г.Е., Ньюкалова М.А. 2021. Развитие зародышевого мешка у *Euphorbia myrsinites* и *E. komaroviana* (Euphorbiaceae). — *Бот. журн.* 106(5): 438–459.
<https://doi.org/10.31857/S0006813621050057>
- Treub M. 1891. Sur les Casuarinees et leur place dans le systeme naturel. — *Annales du Jardin Botanique de Buitzen-zorg*. 10: 145–219.
- [Vinogradova] Виноградова Г.Ю. 2013. Полиэмбриония у *Allium schoenoprasum* (Alliaceae). Происхождение зародышей. — *Бот. журн.* 98(8): 957–973.
<https://doi.org/10.1134/S1234567813080028>
- [Vinogradova] Виноградова Г.Ю. 2017. Морфогенез женских репродуктивных структур у видов *Euphorbia* (Euphorbiaceae), различающихся по типу развития зародышевого мешка. — *Бот. журн.* 102(8): 1060–1093.
- [Vinogradova G.Yu., Zhinkina N.A.] 2021. Why does only one embryo sac develop in the *Paonia* ovule with multiple archesporium? — *Plant Biology*. 23(2): 267–274.
<https://doi.org/10.1111/plb.13206>
- [Voronova, Gavrilova] Воронова О.Н., Гаврилова В.А. 2007. Апоспория у подсолнечника *Helianthus annuus* (Asteraceae). — *Бот. журн.* 92(10): 1535–1544.
- Walters J.L. 1962. Megasporogenesis and gametophyte selection in *Paonia californica*. — *Amer. Jour. Bot.* 49(7): 787–794.
<https://doi.org/10.2307/2439173>
- [Yakovlev, Ioffe] Яковлев М.С., Иоффе М.Д. 1957. Особенности эмбриогенеза рода *Paonia* L. — *Бот. журн.* 42(10): 1491–1502.
- [Yakovlev, Ioffe] Яковлев М.С., Иоффе М.Д. 1960. Мегаспорогенез у *Paonia anomala* L. — В сб.: Вопросы эволюции, биогеографии, генетики и селекции. Сборник, посвященный 70-летию со дня рождения академика Н.И. Вавилова. М.—Л. С. 320–325.
- [Yakovlev, Ioffe] Яковлев М.С., Иоффе М.Д. 1965. Эмбриология некоторых представителей рода *Paonia* L. — В кн.: Морфология цветка и репродуктивный процесс у покрытосеменных растений. М.—Л. С. 140–176.

- [Yudakova, Kaybeleva] Юдакова О.И., Кайбелева Э.И. 2014. Апоспория у представителей рода *Koeleria* Pers. — Бюлл. Бот. сада Саратовского гос. ун-та. 14: 154–161.
- [Zhgenti] Жгенти Л.П. 1974. Цито-эмбриология некоторых кавказских видов рода *Paenonia*: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Тбилиси. 41 с.

DEVELOPMENT OF SEVERAL EMBRYO SACS IN OVULE OF *PAEONIA ANOMALA* (PAEONIACEAE)

E. A. Sapunova¹, G. Yu. Vinogradova^{1, *}

¹Komarov Botanical Institute of RAS
Prof. Popova Str., 2, Saint-Petersburg, 197022, Russia

*e-mail: vinogradova-galina@binran.ru

The article presents the results of the study of development of the ovule and female gametophyte in *Paenonia anomala* L. The possibility of the formation of several embryo sacs in one ovule due to the development of several megasporocytes of the multicellular sporogenous complex and their entry into meiosis is confirmed. From 1 to 4 megasporocytes can enter meiosis, if they are covered by callose. Most often, 2–3 tetrads of megaspores are formed, although further development usually occurs in one tetrad; the rest can remain intact until the late 4-nucleate embryo sac. Possible reasons for the development of a single embryo sac are discussed: competition between tetrads, disruptions in meiosis, mechanisms regulating the fate of cells and the program of their development. Some morphogenetic correlations in the development of the embryo sac and the surrounding structures of the ovule are revealed. In particular, it has been shown that the development of two embryo sacs at the late 4-nucleate stage correlates with partial or complete destruction of the nucellar cap, whereas during the development of one gametophyte it is preserved for a long time. The dynamics of starch in the nucellar tissues during the gametophyte development has been noted: its accumulation first in the cells of the basal part, where the formation of tetrads and a 2-nucleate embryo sac occurs, and then its highest concentration in the lateral parts of the parietal tissue surrounding the growing gametophyte.

Keywords: *Paenonia*, Paeniaceae, ovule, embryo sac, megasporogenesis

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was funded from the Russian Science Foundation grant No. 24-26-00276, <https://rscf.ru/ru/project/24-26-00276/>. The research was done using the equipment of The Core Facilities Center “Cell and Molecular Technologies in Plant Science” at the Komarov Botanical Institute RAS (St. Petersburg, Russia).

The authors are grateful to Professor I.I. Shamrov, the Leading Researcher of the Laboratory of Anatomy and Morphology of the Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, for valuable advice and recommendations in preparing the manuscript.

REFERENCES

- Batygina T.B. 1993. Embryoidogeny— a new category of reproduction in flowering plants. — Tr. Bot. In-ta im. V.L. Komarova. 8: 15–25 (In Russ.).
- Batygina T.B. 1999. Genetic heterogeneity of seeds: embryological aspects. — Fiziologiya rasteniy. 46(3): 438–454 (In Russ.).
- Batygina T.B. 2002. Ovule and seed viewed from reliability of biological systems. — In: Embryology of flowering plants. Terminology and concepts. Vol. 1. Generative organs of flower. Enfield (NH, USA). P. 214–217.
- Carman J.G. 1997. Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispory, tetraspory and polyembryony. — Biol. J. Linn. Soc. 61: 51–94.
- Carman J.G., Jamison M., Elliott E., Dwivedi K.K., Naumova T.N. 2011. Apospory appears to accelerate onset of meiosis and sexual embryo sac formation in sorghum ovules. — BMC Plant Biology. 11: 9.
<http://www.biomedcentral.com/1471-2229/11/9>
- Chen L.Z., Kozono T. 1994. Cytology and quantitative analysis of aposporous embryo sac development in guineagrass (*Panicum maximum* Jacq.). — Cytologia. 59: 259–260.
- D’Amato F. 1946. Nuove ricerche embriologiche e carilogiche sul genere *Euphorbia*. — Nuovo Giorn. Bot. Ital. 53: 405–436.

- Demesa-Arévalo E., Vielle-Calzada J.-P. 2013. The classical arabinogalactan protein AGP18 mediates megaspore selection in *Arabidopsis*. — *Plant Cell*. 25(4): 1274–1287. <https://doi.org/10.1105/tpc.112.106237>
- Dobeš C., Lückl A., Kausche L., Scheffknecht S., Prohaska D., Sykora C., Paule J. 2015. Parallel origins of apomixis in two diverged evolutionary lineages in tribe *Potentilleae* (Rosaceae). — *Bot. J. Linn. Soc.* 177(2): 214–229. <https://doi.org/10.1111/boj.12239>
- Eriksen B., Fredrikson M. 2000. Megagametophyte development in *Potentilla nivea* (Rosaceae) from Northern Swedish Lapland. — *Amer. J. Bot.* 87(5): 642–651.
- Flores E.M., Moseley M.F. 1982. The anatomy of the pistillate inflorescence and flower of *Casuarina verticillata* Lamarck (Casuarinaceae). — *Amer. J. Bot.* 69(10): 1673–1684. <https://doi.org/10.2307/2442922>
- Kaybeleva E.I., Yudakova O.I. 2022. Apomixis in grasses of Saratov region flora. — *Bot. Zhurn.* 107(8): 766–780 (In Russ.). <https://doi.org/10.31857/S0006813622080087>
- Kordyum E.A. 1967. Tsitoembriologiya semeistva zontichnykh [Cytoembryology of family Umbelliferae]. Kiev. 176 p. (In Russ.).
- Leszczuk A., Domaciuk M., Szczuka E. 2018. Unique features of the female gametophyte development of strawberry *Fragaria × ananassa* Duch. — *Scientia Horticulturae*. 234: 201–209. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.02.030>
- Mandrik V.Yu., Mentkovskaya E.A. 1977. Cytoembryological study of some populations of *Potentilla erecta* (L.) Hampe (Rosaceae) in Ukrainian Carpathians (Microsporogenesis. Differentiation of seedbud and development of female gametophyte). — *Bot. Zhurn.* 62(7): 1062–1073 (In Russ.).
- Modilewski J. 1909. Zur Embryobildung von *Euphorbia procera*. — *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 27(1): 21–26.
- Modilewski J. 1911. Über die anomale Embryosack-entwicklung bei *Euphorbia palustris* L. und anderen Euphorbiaceen. — *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 29(7): 430–436.
- Müntzing A. 1938. Note on heteroploid twin plants from eleven genera. — *Hereditas*. 24(4): 487–491.
- Musiał K., Kościńska-Pająk M., Antolec R., Joachimiak A.J. 2015. Deposition of callose in young ovules of two *Taraxacum* species varying in the mode of reproduction. — *Protoplasma*. 252(1): 135–144. <https://doi.org/10.1007/s00709-014-0654-8>
- Noher de Halac I., Harte C. 1977. Different patterns of callose wall formation during megasporogenesis in two species of *Oenothera* (Onagraceae). — *Pl. Syst. Evol.* 127: 23–38. <https://doi.org/10.1007/BF00988016>
- Noher de Halac I., Harte C. 1985. Cell differentiation during megasporogenesis and megagametogenesis. — *Phytomorphology*. 35(3-4): 189–200.
- Öztürk R., Ünal M. 2003. Cytoembryological studies on *Paeonia peregrina* L. — *J. Cell and Mol. Biol.* 2: 85–89.
- Pausheva Z.P. 1980. Praktikum po tsitologii rasteniy [Manuals for plant cytology]. Moscow. 255 p. (In Russ.).
- Piršelová B., Matušíková I. 2013. Callose: the plant cell wall polysaccharide with multiple biological functions. — *Acta Physiol. Plant.* 35: 635–644. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1103-y>
- Qiu Y.L., Liu R.S., Xie C.T., Russell S.D., Tian H.Q. 2008. Calcium changes during megasporogenesis and megaspore degeneration in lettuce (*Lactuca sativa* L.). — *Sex. Plant Reprod.* 21: 197–204. <https://doi.org/10.1007/s00497-008-0079-7>
- Renner O. 1921. Heterogamie im weiblichen Geschlecht und Embryosackentwicklung bei Oenotheren. — *Zeitschr. Bot.* 13: 609–621.
- Rodkiewicz B. 1970. Callose in cell walls during megasporogenesis in angiosperms. — *Planta*. 93: 39–47.
- Rodkiewicz B., Bednara J. 2002. Megasporogenesis. — In: Embryology of flowering plants. Terminology and concepts. Vol. 1. Generative organs of flower. Enfield (NH, USA). P. 114–115.
- Rodkiewicz B., Bednara J., Pora H. 1971. Alternative localization of the active megaspore in tetrads in *Oenothera muricata*. — *Bull. Acad. Polon. Sci. Ser. Sci. biol.* 19(10): 691–694.
- Rojek J., Kapusta M., Kozieradzka-Kiszkurno M., Majcher D., Gorniak M., Sliwinska E., Sharbel T. F., Bohdanowicz J. 2018. Establishing the cell biology of apomictic reproduction in diploid *Boechera stricta* (Brassicaceae). — *Ann. Bot.* 122(4): 513–539. <https://doi.org/10.1093/aob/mcy114>
- Schnarf K. 1929. Embryologie der Angiospermen. Berlin. 690 p.
- Shamrov I.I. 1997. Development of the ovule and seed in *Paeonia lactiflora* (Paeoniaceae). — *Bot. Zhurn.* 82(6): 24–46 (In Russ.).
- Shamrov I.I. 2005. Metabolite transport and possible factors of aberrant ovule formation. — *Bot. Zhurn.* 90(11): 1651–1675 (In Russ.).
- Shamrov I.I. 2008. Ovule of flowering plants: structure, functions, origin. Moscow. 350 p. (In Russ.).
- Shishkinskaya N.A., Yudakova O.I., Tyrnov B.S. 2004. Populatsionnaya embriologiya i apomiks u zlakov [Population embryology and apomixis in cereals]. Saratov. 145 p. (In Russ.).
- Śnieżko R., Harte C. 1984. Polarity and competition between megaspores in the ovule of *Oenothera* hybrids. — *Pl. Syst. Evol.* 144: 83–97. <https://doi.org/10.1007/BF00986667>
- Sogo A., Noguchi J., Jaffré T., Tobe H. 2004. Pollen-tube growth pattern and chalazogamy in *Casuarina equisetifolia* (Casuarinaceae) — *J. Plant Res.* 117(1): 37–46. <https://doi.org/10.1007/s10265-003-0129-z>
- Swamy B.G.L. 1948. A contribution to the life history of *Casuarina*. — *Proc. Amer. Acad. Arts and Sci.* 77(1): 3–32.
- Titova G.E., Nyukalova M.A. 2021. Embryo sac development in *Euphorbia myrsinites* and *E. komaroviana* (Euphorbiaceae). — *Bot. Zhurn.* 106(5): 438–459 (In Russ.). <https://doi.org/10.31857/S0006813621050057>

- Titova G.E., Yakovleva O.V., Zhinkina N.A., Geltman D.V. 2018. Seed development in some species of *Helioscopia* and *Esula* sections, subgenus *Esula* of the genus *Euphorbia* (Euphorbiaceae) — Bot. Zhurn. 103(11): 1355–1389 (In Russ.).
<https://doi.org/10.7868/S0006813618110017>
- Treub M. 1891. Sur les Casuarinees et leur place dans le systeme naturel. — Annales du Jardin Botanique de Buitenzorg. 10: 145–219.
- Vinogradova G.Yu. 2013. Polyembryony in *Allium schoenoprasum* (Alliaceae). Origin of embryos. — Bot. Zhurn. 98(8): 957–973 (In Russ.).
<https://doi.org/10.1134/S1234567813080028>
- Vinogradova G.Yu. 2017. Morphogenesis of the female reproductive structures in *Euphorbia* (Euphorbiaceae) species different by the embryo sac development type. — Bot. Zhurn. 102(8): 1060–1093 (In Russ.).
- Vinogradova G.Yu., Zhinkina N.A. 2021. Why does only one embryo sac develop in the *Paeonia* ovule with multiple archesporium? — Plant Biology. 23: 267–274.
<https://doi.org/10.1111/plb.13206>
- Voronova O.N., Gavrilova V.A. 2007. Apospory in the sunflower *Helianthus annuus* (Asteraceae). — Bot. Zhurn. 92(10): 1535–1544 (In Russ.).
- Walters J.L. 1962. Megaspороgenesis and gametophyte selection in *Paeonia californica*. — Amer. Jour. Bot. 49(7): 787–794.
<https://doi.org/10.2307/2439173>
- Yakovlev M.S., Yoffe M.D. 1957. Osobennosti embriogeneza roda *Paeonia* L. [Features of embryogenesis of the genus *Paeonia* L.]. — Bot. Zhurn. 42(10): 1491–1502 (In Russ.).
- Yakovlev M.S., Yoffe M.D. 1960. Megaspороgenes u *Paeonia anomala* L. [Megaspороgenesis in *Paeonia anomala* L.]. — In: Voprosy evolutsii, biogeografii, genetiki i selektsii. Sbornik, posvyashchennyi 70-letiyu so dnya rozhdeniya akademika N.I. Vavilova. Moscow, Leningrad. P. 320–325 (In Russ.).
- Yakovlev M.S., Yoffe M.D. 1965. The embryology in genus *Paeonia* L. — In: Flower morphology and reproductive process in Angiosperms. Moscow; Leningrad. P. 140–176 (In Russ.).
- Yudakova O.I., Kaybeleva E.I. 2014. Apospory in representatives of the genus *Koeleria* Pers. — Bull. Bot. gard. Saratov University. 14: 154–161 (In Russ.).
- Zhgenti L.P. 1974. Tsito-embriologiya nekotorykh kavkazskikh vidov roda *Paeonia* [Cyto-embryology of some Caucasian species of genus *Paeonia*]: Abstract of a dissertation for the degree of Candidate of Biological Sciences. Tbilisi. 41 p. (In Russ.).