

Особенности развития перикарпия *Couroupita guianensis* Aubl. (Lecythidaceae)

Development features of pericarp of *Couroupita guianensis* Aubl. (Lecythidaceae)

Васеха Н. Д.¹, Бобров А. В.², Михайлова А. А.¹, Здравчев Н. С.¹, Иовлев П. С.¹

Vasekha N. D.¹, Bobrov A. V.², Mikhaylova A. A.¹, Zdravchev N. S.¹, Iovlev P. S.¹

¹ Главный ботанический сад им. Н. В. Цицина РАН, г. Москва, Россия. E-mails: natashavasekha@yandex.ru, ana.mikhaylova@list.ru, zdravchevnikita@yandex.ru, iovlev.petr@gmail.com

¹ Main Botanical Garden nm. N. V. Tsitsin of Russian Academy of Science, Moscow, Russia

² Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, г. Москва, Россия. E-mail: avfch_bobrov@mail.ru

² Moscow State University nm. M. V. Lomonosov, Moscow, Russia

Реферат. Плоды представителей семейства Lecythidaceae, отличающегося заметным карпологическим разнообразием, исследованы недостаточно. Сказанное справедливо и в отношении олиготипного неотропического рода *Couroupita*. С целью выявления структурных признаков плода, закономерностей гистогенеза перикарпия и определения гистогенетического типа плода мы изучили морфологические и анатомические особенности плода *Couroupita guianensis* Aubl. на разных стадиях развития. Выявленная структура перикарпия позволяет говорить о выделении специализированного морфогенетического типа амфисарки, не известного ранее у других представителей Magnoliophyta: склеренхимные зоны локализованы во внешней и средней зонах мезокарпия. Морфологические и анатомические особенности плода указывают на несоответствие структуры перикарпия и современного способа диссеминации *C. guianensis*. Предполагается, что плод распространяется эндозоохорно, однако среди представителей современной фауны Южной Америки в регионах естественного произрастания *C. guianensis* нет животных, способных нарушить целостность мощной косточки плода, представленной внутренней склеренхимной зоной. По всей видимости, *C. guianensis* утратила своих потенциальных диссеминаторов после позднечетвертичного вымирания мегафауны. В качестве гипотетических диссеминаторов могут выступать представители семейств Megatheriidae, Nothrotheriidae, Gomphotheriidae, Mammutidae, Toxodontidae. В результате проведенных исследований, мы можем заключить, что плод *C. guianensis* иллюстрирует на настоящий момент эволюционный анахронизм.

Ключевые слова. Амфисарка, анахронизм диссеминации, гистогенез, перикарпий, эндозоохория.

Summary. At present, there is a paucity of works dedicated to carpological investigations of *Couroupita guianensis* Aubl. In order to identify structural features, particularly those related to fruit histogenesis and determination of its histogenetic type, we examined the anatomical and morphological characteristics of the fruit of *C. guianensis* at different stages of development. The observed structure of the pericarp allows for the identification of a specialized morphogenetic type of amphicarp, which has not been previously reported in other representatives of Magnoliophyta. The sclerenchymatous zones are localized in the outer and middle zones of the mesocarp. The morphological and anatomical features of the fruit indicate a discrepancy between the structure of the pericarp and the contemporary method of *C. guianensis* dissemination. It is hypothesized that the fruit is endozoochorous, although among the present-day fauna of South America, there are no animals capable of breaking the integrity of the powerful bony structure of the fruit, which is represented by the internal sclerenchymatous zone. Apparently, *C. guianensis* lost its potential disseminators after the late Quaternary extinction of megafauna. As hypothetical disseminators, some representatives of the families Megatheriidae, Nothrotheriidae, Gomphotheriidae, Mammutidae, and Toxodontidae could be suggested. Based on our investigations, we can conclude that the fruit of *C. guianensis* currently illustrates an evolutionary anachronism of dissemination.

Key words. Amphisarca, anachronism of dissemination, endozoochory, histogenesis, pericarp.

Couroupita guianensis Aubl. является представителем семейства Lecythidaceae, включающего в свой состав 24 рода и входящего на настоящий момент в обширный порядок Ericales (APG IV). Олиготипный род *Couroupita* Aubl. включает всего 3 вида: *C. guianensis*, *C. nicaraguarensis* DC., *C. subsessilis* Pilg.

Couroupita guianensis – высокое тропическое листопадное дерево с выраженной кауликарпией; вид имеет крупные ароматные цветки красного оттенка, очередные цельные листья, чашевидный

андрофор, образованный срастающимися тычиночными нитями, 20–60 стаминодиев, закрученных внутрь, околоцветник в нижней части формирует трубку, полностью приросшую к завязи. *Couroupita guianensis* имеет крупные сферические невскрывающиеся многосемянные плоды с развитой косточкой, завязь и плод полунижние. Естественный ареал *C. guianensis* охватывает северную часть Южной Америки, но растение довольно широко интродуцировано в некоторых странах Азии и Карибского бассейна.

Большинство исследований *Couroupita* посвящено выявлению и изучению активных веществ, представляющих интерес в фармацевтической отрасли (Aravind et al., 2017), а также выяснению филогенетических связей родов внутри семейства Lecythidaceae (Huang et al., 2015). При этом работ по сравнительной морфологии *Couroupita*, включая карпологический анализ, крайне мало (Tsou, Mori, 2017). Предварительные данные по анатомии перикарпия *C. guianensis* приводятся в работе Bobrov and Romanov (2019), в которой плод *Couroupita* отнесен к одному из типов амфисарки – амфисарке *Theobroma*-типа.

Изучение структуры и гистогенеза плодов *Couroupita* позволит выявить структурные признаки плодов, выявить важнейшие события в процессе развития перикарпия, границы гистогенетических зон и установить морфогенетический тип плода. Полученные данные позволят выявить гипотетических диссеminatивных крупных невскрывающихся плодов *C. guianensis*.

Для проведения исследования плоды *C. guianensis* были собраны в заповеднике Bondla Wildlife Sanctuary (Индия) и в условиях культивирования в Рио-де-Жанейро (Бразилия) на четырех стадиях развития, условно обозначенных как «незрелая» (ст. 1), «почти незрелая» (ст. 2), «почти зрелая», (ст. 3) и «зрелая», (ст. 4), после чего зафиксированы в 70%-м растворе этанола. С помощью стандартных методик (Прошина, 1960; O'Brien, McCully, 1981) были изготовлены временные препараты поперечных срезов через нижнюю, среднюю и верхнюю части плодов, а также продольных срезов на последней стадии развития. Анатомические описания основываются на срезах перикарпия в верхней части плода. В виду значительной многослойности перикарпия и разрастанию пульпы плодов, анатомию стенки плода изучали в зоне наименьшего расстояния между поверхностью плода и его полостью. Препараты изучались с помощью светового микроскопа Olympus CX41, фотографии сделаны цифровой камерой Canon EOS 7D Mark II. В работе используется терминология, предложенная A. V. F. Ch. Bobrov и M. S. Romanov (2019).

В результате проведенных органогенетических исследований было показано, что перикарпий дифференцирован на три гистогенетических зоны: экзокарпий – производное внешней эпидермы карпелл, мезокарпий – производное мезофилла карпелл, и эндокарпий – производное внутренней эпидермы карпелл. В процессе исследования в целом нами было выделено пять топографических зон мезокарпия: mA, представляющая собой перидерму; mB, дифференцирующаяся на более поздних стадиях на зоны mB1 – наружный пояс склерид на периферии плода, mB2 – основная паренхимная зона, mB3 – косточка плода; и mC – внутренняя паренхимная зона с разбросанными группами тонкостенных склерид, обособляющаяся с третьей стадии развития.

На начальной стадии развития плода (ст. 1) перикарпий в его верхней части сложен 105–130 слоями клеток, при этом экзокарпий представлен одним слоем мелких тонкостенных клеток. Мезокарпий находится на начальных стадиях дифференциации: периферическая зона (mA), представленная перидермой (вытянутые в радиальном направлении клетки, расположенные довольно правильными радиальными рядами толщиной 15–18 слоев); и основная многослойная (90–110 слоев) паренхимная зона (mB) изодиаметрических тонкостенных клеток с встречающимися среди них достаточно крупными и разнообразными по форме группами склерид. Однослойных эндокарпий также составляют тонкостенные тангентально вытянутые клетки. При этом однослойность эндокарпия подтверждается отсутствием тангентальных делений клеток, формирующих внутренних слоев мезокарпия.

На следующей стадии развития (ст. 2) общая толщина перикарпия составляет 140–165 слоев клеток, и основное увеличение числа слоев клеток до 18–25 происходит в перидермальной (mA) и в основной зоне мезокарпия mB – до 120–140 слоев. При этом происходит разрушение и частичное сдувание самых внешних слоев клеток – наиболее рано сформировавшихся или растрескивание и формирование «островков» первичной перидермы (mA), на поверхности которых еще отмечаются фрагменты экзокарпия. Также наблюдается небольшое увеличение концентрации проводящих элементов во внутренней части зоны мезокарпия (mB).

В ходе дальнейшей дифференциации мезокарпия на третьей стадии развития толщина перикарпия достигает 160–190 слоев клеток (ст. 3), и начинаются процессы специализации его внутренней зоны мезокарпия (mC). В целом в мезокарпии происходит частичная склерификация первичной перидермы (mA) и параллельно усиливается разрушение и слущивание ее наиболее старых слоев клеток; крупные группы склереид сосредоточиваются ближе к периферии плода, что позволяет выделить новую зону mB1 в составе зоны mB. Аналогично внутри зоны mB увеличивается концентрация проводящих элементов на границе с зоной mC. Основная же паренхимная зона мезокарпия (mB2) практически не содержит склереид, как и зона mC, в которой, однако, наблюдается начало дифференциации очень многочисленных концентрических групп инициалий склереид среди паренхимных клеток.

Максимальной степени дифференциации и толщины перикарпия (470–500 слоев клеток) плод достигает на четвертой стадии развития (ст. 4). Первичная перидерма (mA) почти полностью слущивается, тогда как в зоне mB1 происходит практически полная склерификация клеток и формируется внешний непрерывный пояс склереид. Кардинальные преобразования происходят также во внутренней зоне мезокарпия, располагающейся конутри от проводящих элементов: изодиаметрические клетки паренхимы, прилегающие к внутренней зоне мезокарпия трансформируются в многослойную склеренхимную зону и формируют мощную косточку плода в средней зоне мезокарпия (mB3). В то же время во внутренней зоне мезокарпия (mC) прогрессирует дифференциация многочисленных групп тонкостенных склереид со слабо одревесневшими стенками, равномерно распределенными в паренхиме. Зона mC формирует основную внутреннюю мякоть плода, и группы тонкостенных склереид, вероятно, играют важную функциональную роль в структурировании пульпы плода. По нашим оценкам, общая толщина мякоти плода может достигать более 1500 слоев клеток. Однослойный экзокарпий верхней части и эпидерма нижней разрушаются в ходе разрастания перидермальной зоны, способствующей формированию опробковевшей структуры. Однослойный эндокарпий остается неизменным на всем протяжении развития – один слой тонкостенных тангентально вытянутых клеток. Общая толщина перикарпия составляет 470–500 слоев клеток.

Строение плодов в верхней и нижней части схожи на всех стадиях развития, отличие заключается в большем числе слоев стенки плода в нижней части плода, в связи с присутствием в составе стенки плода как перикарпия, так и прирастающего к нему эпикарпия – производного тканей экстракарпеллярной части. Отличие нижней части также заключается в наличии более мощных продольных проводящих пучков в наружной зоне мезокарпия.

На всех стадиях развития в средней части плода нами отмечены полости в периферии мезокарпия (зоны mB1 и mB2), немного ниже морфологической границы срастания карпеллярных и экстракарпеллярных тканей. Предполагается, что эти полости (лакуны) – результат неполного срастания некоторых участков гинецея с экстракарпеллярной частью.

Полученные результаты позволяют подтвердить, что плод *C. guianensis* представляет собой амфисарку с очень твердой внешней поверхностью и средним диаметром зрелого плода 18 см. Ранее было предложено описание двух типов амфисарки.

В результате проведения анатомического исследования перикарпия обнаружена его значительная многослойность (не менее 470 слоев клеток), дифференциация мезокарпия на несколько гистологических зоны и формирование двух склеренхимных зон в мезокарпии: наружного пояса склереид (mB1) и внутренней мощной склеренхимной косточки (mB3). Выявление формирования наружного пояса склереид в плодах *C. guianensis* предполагает рассмотрение данного типа плода как специализированного типа амфисарки *Theobroma*-типа с дополнительно дифференцирующейся внешней склеренхимной зоной. По всей видимости, изученные ранее плоды *C. guianensis* (Bobrov, Romanov, 2019) были неполностью зрелыми, финальная стадия (ст. 4) развития не рассматривалась, в связи с чем не была обнаружена склерификация помимо средней зоны мезокарпия (mB3), также и его наружной зоны (mB1), происходящей на поздних стадиях развития. Фактически плод *C. guianensis* имеет в своей стенке две косточки, «вложенные» одна в другую и разделенные зоной паренхимы (mB2), и, таким образом, представляет уникальный тип амфисарки *Theobroma*-типа, не обнаруженный ранее у других представителей покрытосеменных.

Стоит отметить, что функционально внешняя и внутренняя зоны склеренхимы различны. Внутренняя зона – косточка плода – очень мощная, но при этом относительно хрупкая, тяжело поддающаяся даже режущим металлическим инструментам. Внешняя склеренхимная зона визуальнo склери-

фицирована не менее, однако обладает меньшей плотностью и хрупкостью, и большей пластичностью. Последнее позволяет предположить, что внешняя склеренхимная зона выполняет скорее структурную функцию и лишь немного – защитную (от несильных механических воздействий, например – продолжительное сдерживание начала процесса гниения), в то время как внутренняя косточка определенно играет функцию защиты семян.

Couropita отличается способностью сохранять мякоть плодов свежей в течение очень длительного времени: упавший плод может пролежать свежим несколько месяцев. Высока вероятность, что важную роль в сохранении свежести мякоти плода играют «консервирующие» вещества и особая структура пульпы плода, сформированной внутренней зоной мезокарпия (mC). Роль в поддержании внутренней структуры мякоти играют многочисленные группы тонкостенных склереид, образующихся к финальной стадии развития (ст. 4) плода во внутренней паренхиме мезокарпия (mC). Скорее всего, такая дифференциация способствует созданию определенного «каркаса» в толще перикарпия, окруженного мощной косточкой, что особенно важно для продолжительного поддержания мякоти и семян в свежем состоянии.

Особенности морфологического и анатомического строения *C. guianensis* указывают на эндозоохорность плода: большой объем сочной мякоти, сильный запах и отсутствие других явных приспособление для другого способа диссеминации. Поиск возможных кандидатов на роль диссеminatивов *Couropita* – интересная тема для детального исследования, поскольку в настоящее время в фауне регионов естественного произрастания *C. guianensis* нет животных, способных нарушить целостность мощной внутренней косточки плода и добраться до его мякоти (внутренняя зона мезокарпия – mC). В связи с этим большинство плодов со временем падают на землю и долго лежат под деревом, пока не начинают гнить. Таким образом, плод *C. guianensis* можно рассматривать как яркий пример анахронизма диссеминации. Чрезвычайно крупный размер плода, мощная твердая косточка, многосемянность – все эти признаки относятся к категории плодов, распространявшихся плейстоценовой мегафауной (Guimaraes et al., 2008). Учитывая регион естественного произрастания, кандидатами на роль диссеminatивов могут быть ископаемые представители южноамериканской мегафауны: наземные ленивцы *Megatherium*, *Eremotherium* (Megatheriidae) и *Nothrotheriops* (Nothrotheriidae), представители семейства гомфотеровых (Gomphotheriidae): *Cuvieronius*, *Stegomastodon*, *Notiomastodon*; мастодонтов (Mammutiidae): *Mammut*, токсодонтов (Toxodontidae): (*Toxodon*) и другие. Вероятнее всего, в результате позднечетвертичного вымирания мегафауны в Южной Америке (15–11 тыс. лет назад), *C. guianensis* утратила своих диссеminatивов и иллюстрирует явное несоответствие структуры плода, способа диссеминации и гипотетических диссеminatивов – современных представителей фауны региона естественного произрастания.

Таким образом, в результате карпологических исследований выявлен специализированный тип амфисарки *Theobroma*-типа, ранее не описанный для представителей Magnoliophyta: склеренхимная зона локализуется в периферической и средней зонах мезокарпия. Анатомические и морфологические особенности плода одновременно указывают на эндозоохорность и невозможность эффективного эндозоохорного распространения современными представителями фауны Южной Америки. Предполагается, что *C. guianensis* утратила своих первоначальных диссеminatивов после плейстоценового вымирания. Плоды *C. guianensis* можно рассматривать как пример эволюционного анахронизма, а именно – анахронизм диссеминации.

Благодарности. Исследование выполнено в рамках ГЗ Главного ботанического сада им. Н. В. Цицина РАН № 122042700002–6 на УНУ «Фондовая оранжерея», а также в рамках ГЗ № 121051100137-4 «Пространственно-временная организация экосистем в условиях изменений окружающей среды» и Программы развития Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова «Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды».

ЛИТЕРАТУРА

- Прозина М. Н.** Ботаническая микротехника: Учебное пособие. – М.: Высшая школа, 1960. – 207 с.
- Aravind D. S., Karthikeyan R., Babu P. S.** In-vitro anti tubercular activity of flowers of *Couropita guianensis* L. // Journal of Applied Pharmaceutical Research, 2017. – Vol. 5, No. 1. – С. 27–29.
- Bobrov A. V. F. Ch., Romanov M. S.** Morphogenesis of fruits and types of fruit of angiosperms // Botany Letters, 2019. – Vol. 166(3). – P. 366–399.

Guimaraes Jr P. R., Galetti M., Jordano P. Seed dispersal anachronisms: rethinking the fruits extinct megafauna ate // PloS one, 2008. – Vol. 3, No. 3. – e1745.

Huang Y. Y., Mori S. A., Kelly L. M. Toward a phylogenetic-based generic classification of Neotropical Lecythidaceae – I. Status of *Bertholletia*, *Corythophora*, *Eschweilera* and *Lecythis* // Phytotaxa, 2015. – Vol. 203, No. 2. – C. 85–121.

O'Brien T. P., McCully M. E. The Study of Plant Structure: Principles and Selected Methods. – Melbourne: Termarcarphi & Pty. Ltd, 1981. – 358 p.

Tsou C. H., Mori S. A. Floral organogenesis and floral evolution of the Lecythidoideae (Lecythidaceae) // American Journal of Botany, 2007. – Vol. 94, No. 5. – C. 716–736.