

Zapylenie u antarktycznej rośliny kwiatowej
Colobanthus quitensis (Kunth) Bartl.

IRENA GIEŁWANOWSKA¹, EWA SZCZUKA^{1,2},
ANNA BOCHENEK¹

1. Katedra Fizjologii i Biotechnologii Roślin, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski,
Oczapowskiego 1A, 10-719 Olsztyn

2. Zakład Biologii Antarktyki, Polska Akademia Nauk, Ustrzycka 10/12, 02-141 Warszawa

1. Department of Plant Physiology and Biotechnology, University of Warmia and Mazury,
Oczapowskiego 1A, 10-719 Olsztyn, Poland

2. Department of Antarctic Biology, Polish Academy of Sciences,
Ustrzycka 10/12, 02-141 Warsaw, Poland

Zakład Anatomii i Cytologii Roślin, UMCS, Instytut Biologii,
Akademicka 19, 20-033 Lublin, eszczuka@biotop.umcs.lublin.pl

Department of Plant Anatomy and Cytology, MCS University,
Akademicka 19, 20-033 Lublin, Poland

Pollination in the Antarctic flowering plant
Colobanthus quitensis (Kunth) Bartl.

(Otrzymano: 20.04.2005)

Summary

Colobanthus quitensis forms chasmogamic and cleistogamic flowers. Their structure signals the possibility of both cross-pollination and self-pollination. In favorable conditions (natural or laboratory), flowers open creating a possibility for cross-pollination. The occurrence of cleistogamy in the investigated species may be conditioned by abiotic factors: low temperature, high air humidity, and strong wind. In closed flowers, a part of pollen grains reaches the stigma surface, and the rest remains inside the microsporangium. Pollen grains germinate on the stigma surface or inside the microsporangium. Often, two or more pollen tubes grow from a single pollen grain. Closed flowers and the direct contact between the style stigma and anther prove the preference for autogamy. Autogamy ensures the reproductive success of the investigated plant in the exceptionally harsh Antarctic environment.

Key words: *Colobanthus quitensis*, mikrosporogeneza, ziarna pyłku, zapylenie, kleistogamia, Antarktyka

WSTĘP

Colobanthus quitensis jest jedną z zaledwie dwu rodzimych roślin naczyniowych rosnących i rozmnażających się w Antarktyce. W środowisku naturalnym roślina rozmnaża się głównie wegetatywnie, ale wytwarza też nasiona. Kwitnie stosunkowo obficie, a kwiaty pojawiają się prawie każdego roku. Krótkie i chłodne antarktyczne lato powoduje, że wytworzone po zapyleniu i zapłodnieniu nasiona są często martwe (Edwards, 1974; Convey, 1996). Od dawna zwracano uwagę na występowanie i zdolność reprodukcyjną tej antarktycznej rośliny kwiatowej. Takie badania przeprowadzał Corner (1971) na Wyspach Argentyńskich od grudnia 1963 do kwietnia 1965 roku. Ze znacznie dokładniejszych obserwacji Edwards'a (1974) wynika, że na wyspach Archipelagu Orkadów Południowych kwitnienie i owocowanie *Colobanthus quitensis* było zróżnicowane w czasie, w zależności od mikrosiedliska i sezonu. W 1968 roku pierwsze pąki kwiatowe kolobanta pojawiły się w grudniu. Na początku stycznia 1969, czyli w połowie lata, zalążnie miały długość około 0,6 mm, a dojrzałe owoce (torebki) 1,4 mm. W październiku 1969 roku autor obserwował na roślinach kolobanta pąki kwiatowe w różnych stadiach rozwojowych, ale były one zakażone nicieniami i znajdowały się w stanie rozkładu.

W oparciu o obserwacje własne oraz niepublikowane informacje innych badaczy, Edwards (1974) stwierdził, że płodne nasiona kolobanta rozwijają się z zawiązków tych kwiatów, które powstały na początku sezonu wegetacyjnego. Pąki kwiatowe wyróżnicowane pod koniec sezonu wegetacyjnego, giną nie wydając nasion, chociaż obserwowano w nich nieliczne zalążki. Dotychczas nie interesowano się zapyleniem *Colobanthus quitensis*. W prezentowanej pracy zajmujemy się zapyleniem tej antarktycznej rośliny kwiatowej.

MATERIAŁ I METODY

Pąki kwiatowe i kwiaty *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. z rodziny goździkowatych (Caryophyllaceae) zbierano podczas antarktycznego lata (od grudnia do marca) 2001/2002 w pobliżu Polskiej Stacji Antarktycznej im. Henryka Arctowskiego (obszar o współrzędnych geograficznych 62°09,8'S i 58°28,5'W). Materiał zbierano podczas XXVI Wyprawy Antarktycznej, zorganizowanej przez Zakład Biologii Antarktyki PAN w Warszawie. Rośliny przeznaczone do badania i uprawy w kraju zebrano w dniu wyjazdu ze Stacji, w listopadzie 2002 roku. Zielone okazy oraz nasiona *Colobanthus quitensis* po przywiezieniu do Olsztyna posadzono w doniczkach, w Szklarni Katedry Fizjologii i Biotechnologii Roślin UWM, a także w uniwersyteckim Ogrodzie, gdzie prowadzono uprawę tej antarktycznej rośliny naczyniowej.

Mikroskopia świetlna i elektronowa

Materiał do badań w mikroskopie świetlnym i elektronowym utrwalano w 3,5% roztworze aldehydu glutarowego w buforze fosforanowym o pH 7,0–7,2, w temperaturze pokojowej przez 10 godzin. Po płukaniu materiał utrwalano w 2,5% wodnym roztworze czterotlenku osmu przez 8 godzin w temperaturze pokojowej. Po wypłukaniu materiał odwodniono w szeregu alkoholi i acetonu. Odwodniony materiał zatopiono w żywicy epoksydowej Poly Bed 812. Skrawki półcienne i ultracienne

kie przygotowano ultramikrotomem Leica (Ultracut R), używając noży szklanych lub diamentowych.

Półcienkie skrawki o grubości 1,5–2,0 μm barwiono błękitem toluidyny i błękitem toluidyny z azurem B (wg Pearse, 1962), zamykano w glicerynie, obserwowano i fotografowano w mikroskopach świetlnych Olympus i Nikon Optiphot II.

Skrawki ultracienkie o grubości 60–90 nm kontrastowano nasyconym wodnym roztworem octanu uranylu i cytrynianem ołowiu (Reynolds, 1963) i obserwowano w mikroskopie JEOL Jem 100S.

WYNIKI

Rośliny *Colobanthus quitensis* rosnące na stanowisku naturalnym (w zbiorowisku tundry antarktycznej) w niewielkiej odległości od Polskiej Stacji Polarnej tworzyły płaskie, zbite maty otoczone kępkami *Deschampsia antarctica*, mchami i porostami (Ryc. 1). W porównaniu z nimi rośliny uprawiane w szklarni, w temperaturze pokojowej rosły szybciej i miały długie odgałęzienia boczne. W ciągu roku na bocznych pędach wyrastało 10–12 par liści, z których większość pozostawała zielona. Dwuletnie okazy zakwitły (Ryc. 2). W kilkudniowych odstępach na jednym okazy wyróżnicowało się 0–6 (średnio 2) pąków kwiatowych.



Ryc. 1. *Colobanthus quitensis* (strzałki) na stanowisku naturalnym w pobliżu Polskiej Stacji Antarktycznej, na Wyspie Króla Jerzego. 0,2x.

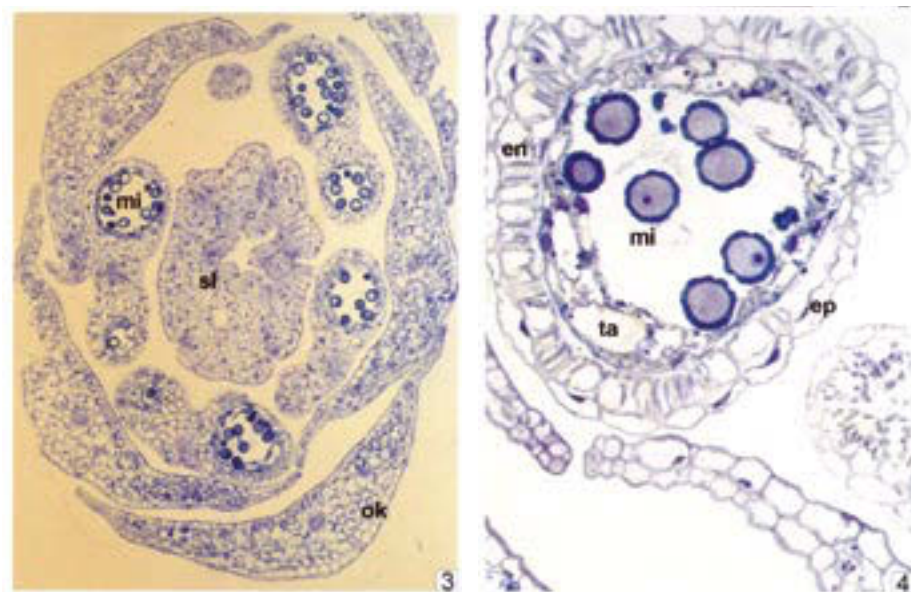
Fig. 1. *Colobanthus quitensis* (arrows) in natural habitat near the Polish Antarctic Station on King George Island.



Ryc. 2. Dwuletni *Colobanthus quitensis* uprawiany w szklarni. Widoczne kwiaty (strzałki). 0,5x.
 Fig. 2. Two-years old *Colobanthus quitensis* grown in a greenhouse. Flowers visible (arrows).

Drobne, niepozorne kwiaty kolobanta antarktycznego są pojedyncze, obupłciowe. Zakładają się w kątach liści, w szczytowych częściach modułowych pędów. W zamkniętych pąkach kwiatowych, ukrytych pomiędzy blaszkami liściowymi, rozwijają się mikro- i megasporofile osłonięte pięcioma elementami niezróżnicowanego okwiatu. Zdarzała się także inna liczba elementów okwiatu, na przykład 4 lub 6. Okwiat tworzą zielone liście kwiatowe umieszczone w dwóch okółkach. Liście te nie są ze sobą zrośnięte, ale bardzo ściśle do siebie przylegają.

W warunkach naturalnych pąki *Colobanthus quitensis* pozostają długo zamknięte (Ryc. 3). Często kwiaty wcale się nie otwierają. Pięć elementów okwiatu jest ułożonych w dwóch okółkach – część z nich styka się brzegami, a inne przylegają do siebie powierzchniami. Wewnątrz okwiatu zamkniętych jest 5 pręcików i słupek. Główkę każdego pręcika budują dwa mikrosporangia kolistego kształtu na przekroju poprzecznym. Ścianę mikrosporangium tworzą następujące warstwy komórek: zewnętrzna – epiderma, warstwa komórek, która przekształca się w endotecjum, warstwa pośrednia i tapetum. Wewnątrz mikrosporangium mikrosporoocyty dzieliły się mejotycznie; powstawały mikrospory otoczone sporodermą. W tym stadium, w ścianie mikrosporangium epiderma była zdegenerowana. Komórki warstwy endotecjalnej (endothecium) wyróżniały się wyraźnymi listwowymi zgrubieniami ścian. Widoczne były zdeintegrowane komórki warstwy pośredniej, a tapetum zostało zużyte przez rozwijające się mikrospory (Ryc. 4).



Ryc. 3. Przekrój poprzeczny zamkniętego pąka kwiatowego z mikrosporami w mikrosporangiach. Widoczne elementy okwiatu (ok), pręciki z dwoma mikrosporangiami (mi) i słupek (sl). 200x.

Fig. 3. Transverse section of a closed flower bud with microspores in microsporangia. Visible floral perianth (ok), anthers with two microsporangia (mi) and style (sl).

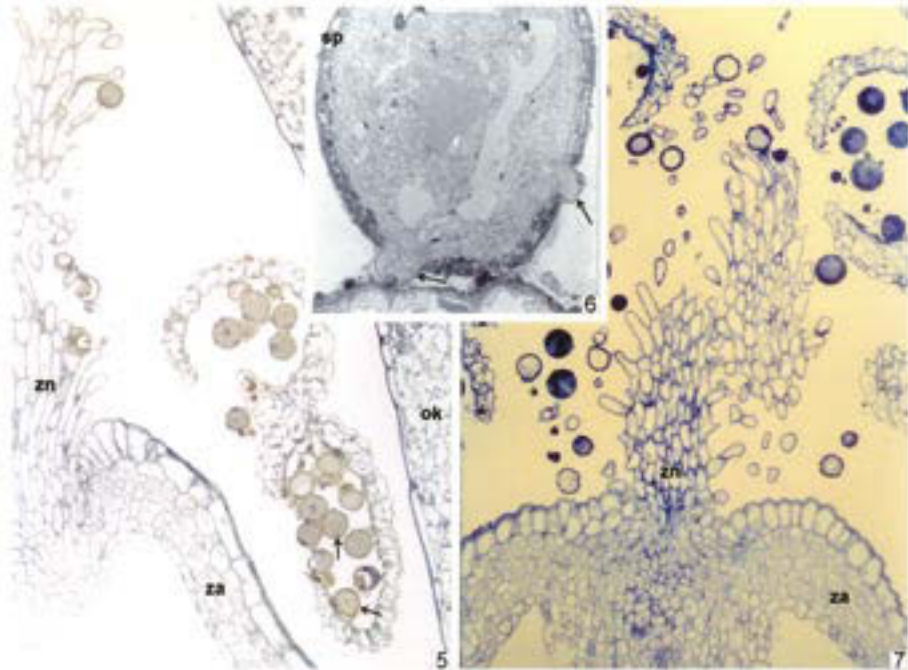
Ryc. 4. Powiększone mikrosporangium (mi) z mikrosporami w loculus. Widoczne: epiderma (ep), endothecium (en) i zdeintegrowane tapetum (ta). 1200x.

Fig. 4. Magnified microsporangium (mi) with microspores in loculus as shown in fig. 3. Visible: epidermis (ep), endothecium (en) and disintegrated tapetum (ta).

Dojrzałe mikrosporangia *Colobanthus quitensis* pękały w specjalnym miejscu, stomium, po wewnętrznej, dośrodkowej stronie pylnika (Ryc. 5), gdy pyłek był dojrzały i zawierał dwukomórkowy gametofit męski. Po pęknięciu pylnika część pyłku dostawała się na powierzchnię komórek receptywnych pięciodzielnego, pierzastego znamienia a część pozostawała wewnątrz mikrosporangium (Ryc. 7).

Większość kwiatów kolobanta antarktycznego, podczas pękania pylników ma szczelnie zamknięte elementy okwiatu. W warunkach antarktycznych kwiaty z otwartym okwiatem obserwowano jedynie wyjątkowo, w przypadku roślin rosnących w specjalnych niszach, ciepłych i dokładnie osłoniętych skałami zagłębieniach terenu. Po przeniesieniu roślin z zamkniętymi pąkami do laboratorium na stacji i przetrzymywaniu w suchym powietrzu, w temperaturze pokojowej (około 20°C), wszystkie pąki kwiatowe po pewnym czasie otwierały się. Otwarte kwiaty kolobanta obserwowano także na roślinach rosnących w doniczkach w warunkach szklarniowych, w Olsztynie.

Część ziaren pyłku, w obu rodzajach kwiatów, kielkowała na powierzchni pierzastego znamienia: niektóre ziarna pyłku kielkowały wewnątrz mikrosporangium. Z pojedynczego ziarna pyłku wyrastało często dwie (Ryc. 6) albo więcej łagiewek.



Ryc. 5. Przekrój podłużny zamkniętego pąka kwiatowego z ziarnami pyłku w otwartych mikrosporangiach. Niektóre z ziaren pyłku kielkują (strzałki). Widoczne fragmenty okwiatu (ok), ściany zalążni (za) i znamienia (zn). 550x.

Fig. 5. Longitudinal section of a closed flower bud with pollen grains in open microsporangia. Some of the pollen grains are germinating (arrows). Fragments of perianth, ovary wall (za) and stigma (zn) visible.

Ryc. 6. Mikroskop elektronowy. Kielkujące ziarno pyłku z widoczną sporodemą (sp) i dwiema łagiewkami (strzałki). 5500x.

Fig. 6. Electron microscope. Germinating pollen grain with visible sporoderm (sp) and two pollen tubes (arrows).

Ryc. 7. Przekrój podłużny zamkniętego pąka kwiatowego z wysypującymi się ziarnami pyłku. za – ściana zalążni, zn – znamię. 550x.

Fig. 7. Longitudinal section of a closed flower bud with released pollen grains. za – ovary, zn – stigma.

DYSKUSJA

Kolobant antarktyczny jest rośliną modelową w badaniach zdolności adaptacyjnych roślin do ekstremalnie surowych i bardzo zmiennych warunków środowiska. O wyjątkowo niegościnnym środowisku Antarktyki decydują czynniki abiotyczne tj. niska temperatura, niezwykle krótki sezon wegetacyjny z temperaturami powyżej 0°C, gwałtowne zmiany temperatur, cykliczne zamarzanie i topnienie, nawilżanie i wysychanie, silne, cyklonalne wiatry, długi dzień i intensywne promieniowanie świetlne latem (w tym UV-B), brak światła zimą, zasolenie oraz duża zmienność siedlisk (Edwards i Smith, 1988; Zúñiga i in., 1996; Beyer i in., 2000; Alberdi i in., 2002). Na niewielkich, wolnych od lodu powierzchniach Wyspy Króla Jerzego przeważają odsłonięte miejsca, z niskimi temperaturami mimo znacznego nasłonecznienia, z silnym wiatrem, mechanicznym działaniem śniegu, lodu i okruchów skał; ale są także ciche i wilgotne nisze (Giełwanowska i Szczuka, 2005). Niezależnie od pozostałych czynników wpływających na rozwój roślin, długość sezonu wegetacyjnego jest krytyczna dla kwitnienia, zapylania i wytwarzania nasion kolobanta (Edwards, 1974).

W badaniach przedstawionych w tej pracy, pąki kwiatowe *Colobanthus quitensis* z mejozą w mikrosporangiach były całkowicie okryte najmłodszymi liśćmi. Elementy okwiatu pozostawały szczelnie zamknięte także w stadium dojrzałego pyłku i wyróżnicowanych w zalążkach woreczków zalążkowych. W warunkach laboratoryjnych, po dojrzeniu pyłku, kwiaty *Colobanthus quitensis* otwierały się. W okolicy Polskiej Stacji Antarktycznej, zaobserwowano tylko pojedyncze rośliny *Colobanthus quitensis* z otwartymi kwiatami.

U badanego kolobanta obserwowano dwa rodzaje kwiatów: chasmogamiczne i kleistogamiczne. Oba rodzaje kwiatów obserwowano również w drugiej rodzimej dla Antarktyki rośliny naczyniowej – śmiałka antarktycznego (*Deschampsia antarctica*). Na podstawie naszych badań można przypuszczać, że występowanie kleistogamii u kolobanta, podobnie jak u *Deschampsia antarctica*, wywołują czynniki abiotyczne, takie jak niska temperatura powietrza, silne, ochładzające i wysuszające wiatry oraz duża wilgotność. Wiadomo, że niektóre gatunki roślin mogą rozwijać kwiaty kleistogamiczne zależnie od warunków ekologicznych. Niska temperatura, susza, zacieńnienie często indukują kleistogamię, dzięki której roślina zawiązuje nasiona mimo braku obcego pyłku. Na pędach *Lespedeza stipulata* w temperaturze 21°C rozwijają się bezpłatkowe kwiaty kleistogamiczne, a w temperaturze 27°C w pąkach tworzą się płatki i kwiaty mogą się otwierać (Rodkiewicz i in., 1996). Ponadto, w materiale zebranym w maju i czerwcu, chłodniejszego niż zwykle, 1996 roku (podczas XX Wyprawy Polarnej) obserwowano jedynie kleistogamiczne kwiaty *Deschampsia* (Giełwanowska i Loro, 1998). Badania Levkovsky i in., (1981) dowodzą, że zjawisko kleistogamii u przedstawicieli Poaceae zasiedlających wyspy arktyczne jest indukowane niską temperaturą (3,5–5,0°C) i dużą wilgotnością powietrza. Z tego powodu autorzy używają terminu kriokleistogamii. U obu antarktycznych roślin naczyniowych zjawisko kleistogamii może być indukowane niższą temperaturą niż sugerują autorzy. Kleistogamię związaną z niską temperaturą można obserwować także u innych niż *Deschampsia antarctica* gatunków traw (Kłys i Jankun, 2002).

Znane są gatunki roślin, które stale mają dwa rodzaje kwiatów: zamknięte kleistogamiczne, oraz otwierające się przed zapyleniem (Rokkiewicz i in., 1996). U kleistogamicznego gatunku *Collomia grandiflora* (Polemoniaceae) z dimorficznymi kwiatami wykazującymi wyraźne zróżnicowanie budowy egzyny pyłku, struktury papilli na powierzchni znamion, oraz długości słupkowiec, krzyżowe zapylenie pomiędzy distylicznymi kwiatami kleistogamicznymi i chasmogamicznymi nie daje pozytywnych rezultatów (Lord i Eckard, 1984, 1986, cyt. za Raghavan, 1997). Dojrzały, trójjądrowy pyłek kolobanta kielkował zarówno na powierzchni znamion słupka jak i w mikrosporangium, chociaż mikrosporangia zawsze się otwierały.

Budowa morfologiczna kwiatów *Colobanthus quitensis* wskazuje na możliwość zarówno obcopylności, jak i samopylności. W sprzyjających warunkach, kwiaty kolobanta otwierają się, co umożliwia krzyżowe zapylenie. Zamknięte kwiaty, bezpośredni kontakt znamion słupków z pylnikami pręcików, a także cechy nie przedstawione w wynikach takie jak bardzo mocno zredukowana ilość pyłku w kwiecie i prawie 100% jego żywotność dowodzą preferencji autogamii. Autogamia uniemożliwia wprawdzie mieszanie genów i ogranicza powstawanie nowych cech, ale zapewnia sukces rozrodczy, co pozwala na zasiedlenie obu gatunkom roślin naczyniowych obszarów w surowym środowisku Antarktyki.

WNIOSKI

1. *Colobanthus quitensis* wytwarza dwa rodzaje kwiatów: chasmogamiczne i kleistogamiczne.
2. Kleistogamia *Colobanthus quitensis* uwarunkowana jest specyficznymi warunkami klimatycznymi Antarktyki.
3. W warunkach naturalnych u *Colobanthus quitensis* preferowana jest autogamia.

Podziękowanie

Praca częściowo sfinansowana ze środków KBN – grant: PBZ – KBN – 108/P04/2004

LITERATURA

- Alberdi M., Bravo L.A., Gutiérrez A., Gidekel M., Corcuera L.J., 2002. Ecophysiology of Antarctic vascular plants. *Physiol. Plant.* 115: 479–486.
- Beyer L., Böller M., Seppelt R.D., 2000. Nutrient and thermal regime, microbial biomass and vegetation of Antarctic soils in the Wind-mill Islands Region of east Antarctica (Wilkes Land). *Arct. Antarct. Alp. Res.* 32: 30–39.
- Convey P., 1996. Reproduction of Antarctic flowering plants. *Antarctic Sci.* 8: 127–134.
- Corner R.W.M., 1971. Studies in *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. and *Deschampsia antarctica* Desv.: IV. Distribution and reproductive performance in the Argentine Islands. *Br. Antarct. Surv. Bull.* 26: 41–50.
- Edwards J.A., 1974. Studies in *Colobanthus quitensis* (Kunt) Bartl. and *Deschampsia antarctica* Desv.: VI. Reproductive performance on Singy Island. *Br. Antarct. Surv. Bull.* 39: 67–86.
- Edwards J.A., Lewis Smith R.I., 1988. Photosynthesis and respiration of *Colobanthus quitensis* and *Deschampsia antarctica* from the maritime Antarctic, British Antarctic. *Survey Bulletin*, 81: 43–63.

- Giełwanowska I., Loro P.M., 1998. Niektóre cechy biologiczne *Deschampsia antarctica* Desv., Some biological characteristics of *Deschampsia antarctica* Desv. W: Botanika polska u progu XXI wieku, Materiały sympozjum i obrad sekcji 51 Zjazdu Polskiego Towarzystwa Botanicznego, Gdańsk, s.160.
- Giełwanowska I., Szczuka E., 2005. New ultrastructural features of leaf cells organelles in *Deschampsia antarctica* Desv. Polar Biol. s. 5.
- Kłyś A., Jankun J., 2002., Biologia rozmnażania wiechliny - *Poa* L. (Poaceae). The biology of reproduction in *Poa* L. (Poaceae). Wiadomości Botaniczne, 46(3/4): 19–28.
- Levkovsky V.P., Tikhmenev E.A., Levkovsky E. P., 1981. Cleistogamy in Arctic grasses. Bot. Zhurn. 66: 116–120.
- Pearse A.G.E., 1962. Histochemistry. Curchil B.T.D. London. pp. 444-446.
- Reynolds E.S., 1963. The use of lead citrate of high pH as an electron – opaque stain in electron microscopy. J. Cell Biol. 17: 208–212.
- Raghavan V., 1997. Molecular Embryology of Flowering Plants. Cambridge University Press, s. 690.
- Rodkiewicz B., Śnieżko R., Fyk B., Niewęgłowska B., Tchórzewska D., 1996. Embriologia *Angiospermae* rozwojowa i eksperymentalna., s. 274, Wyd. Univ. Mariae Curie Skłodowska, Lublin.
- Zúñiga G.E., Alberdi M., Corcuera L.J., 1996. Non-structural carbohydrates in *Deschampsia antarctica* Desv. from South Shetland Islands, Maritime Antarctic. Environ. Exper. Bot. 36: 393–398.

Streszczenie

Colobanthus quitensis wytwarza kwiaty chasmogamiczne i kleistogamiczne. Ich budowa wskazuje na możliwość zarówno obcopylności, jak i samopylności. W sprzyjających warunkach (naturalnych lub laboratoryjnych) kwiaty otwierają się i wtedy istnieje możliwość krzyżowego zapylenia. Występowanie kleistogamii u badanego gatunku może być uwarunkowane czynnikami abiotycznymi: niską temperaturą, wysoką wilgotnością powietrza oraz silnym wiatrem. W zamkniętych kwiatach część pyłku dostaje się na powierzchnię znamienia a część pozostaje wewnątrz mikrosporangium. Ziarna pyłku kiełkują na powierzchni znamienia lub wewnątrz mikrosporangium. Z pojedynczego ziarna pyłku wyrasta często dwie albo więcej ławgiewek. Zamknięte kwiaty i bezpośredni kontakt znamion słupków z pylnikami pręcików dowodzą preferencji autogamii. Autogamia zapewnia sukces reprodukcyjny badanej rośliny w wyjątkowo surowym środowisku Antarktyki.

