

**ФОРМИРОВАНИЕ МУЖСКОЙ И ЖЕНСКОЙ ГЕНЕРАТИВНЫХ
СФЕР У *BRASSICA TAURICA* (TZVEL.) TZVEL.
(СЕМ. BRASSICACEAE)**

Т.Н. КУЗЬМИНА, С.В. ШЕВЧЕНКО, доктор биологических наук

Введение

Широкое практическое использование представителей рода *Brassica* (сем. Brassicaceae) в сельском хозяйстве и других отраслях деятельности человека явилось важной предпосылкой для эмбриологических исследований различных видов и подвидов данного рода. На сегодняшний день в литературных источниках представлены данные по эмбриологии *B. oleracea* [35; 39], *B. oleracea* var. *capitata* [32], *B. napus* [6; 33; 41], *B. juncea* [5; 25; 37], *B. nigra* [41], *B. rapa* [40], *B. campestris* [24; 36; 38] и др. Однако наравне с изучением практически значимых видов и разновидностей интерес представляют дикорастущие виды, данные о процессах формирования генеративных структур которых, составляют основу для развития сравнительной и экологической эмбриологии [9]. В то же время изучение эмбриологии способно выявить аномалии в ходе семенного размножения, свойственные виду и влияющие на его возобновление, что особенно важно для редко встречающихся видов, приуроченных к определенным ландшафтам.

Одним из таких видов является *Brassica taurica* (Tzvel.) Tzvel. (*B. sylvestris* (L.) Mill. subsp. *taurica* Tzvel.), или капуста крымская (сем. Brassicaceae Burnett) – древнесредиземноморский реликт [18]. На территории Крыма вид встречается на каменистых осыпях восточного подножья Аюдага. Единичные особи этого вида произрастают в районе мыса Мартьян. На сегодняшний день вопрос о таксономическом статусе данного растения является спорным. По мнению Ан.В. Ена [3], приуроченность ареала растения к месту остатков античных и средневековых поселений на горе Аюдаг является свидетельством того, что таксон «может быть формой одичавшей огородной культуры, сохраняющую свою популяцию на протяжении нескольких столетий», и следовательно он относится к адвентивным видам и не может быть эндемом Крыма. В то же время в Каталоге редких, исчезающих и уничтожаемых растений флоры Крыма [7] данный таксон значится крымским эндемом и отнесен ко II категории (редкие и очень редкие), в справочных изданиях растение рассматривается как самостоятельный вид – *Brassica taurica* (Tzvel.) Tzvel. [14; 19].

Известно, что строение и развитие мужского гаметофита, микроспорогенез и тип тапетума, тип женского археспория, нуцеллуса и семязачатка, а также число семязачатков в завязи являются важными цитоэмбриологическими признаками, необходимыми для уточнения таксономического ранга растения.

Таким образом, учитывая статус данного растения (вид занесен в Красную книгу Украины [19] (I категория) и список охраняемых растений Бернской Конвенции об охране дикой флоры и фауны [8]), изучение формирования мужского и женского гаметофитов является необходимой составляющей для расширения данных цитоэмбриологии представителей рода и семейства, решения вопросов, связанных со сложностями таксономического определения и необходимостью сохранения генофонда данного вида.

В связи с вышеизложенным, целью данной работы являлось выявление характерных особенностей строения и развития генеративной сферы и репродуктивного потенциала в ходе реализации репродуктивной стратегии раритетного вида флоры Крыма *V. taurica*.

Объекты и методы исследований

Для цитоэмбриологических исследований брали бутоны и цветки разных стадий развития у растений *V. taurica*, образующих ценопопуляции бухты Панаир (I) и мыса Монастырского (II) горы Аюдаг. Объекты фиксировали в смеси Чемберлена (90:5:5). Подготовка материала для приготовления постоянных препаратов осуществлялась по общепринятой методике [15]. Парафиновые срезы толщиной 8-10 мкм окрашивали гематоксилином и алциановым синим по модифицированной методике [4]. Пыльцевые зерна окрашивали ацетокармином [15] или метиловым зеленым и пиронином [23]. Анализ препаратов проводили с помощью микроскопа «Jenaval 2» фирмы Carl Zeiss. Фотографии сделаны цифровой фотокамерой Olympus SP-350 при увеличении микроскопа 500x и 1250x. Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение

Закладка репродуктивной сферы гермафродитного цветка *V. taurica* происходит во второй декаде февраля. Сначала образуются примордии тычинок, в которых постепенно дифференцируется микроспорангий, содержащий спорогенную ткань (рис. 1, 1). Стенка микроспорангия развивается центробежно по типу двудольных и полностью сформирована на стадии микроспороцитов. В этот период она с внешней стороны состоит из 5 слоев клеток: эпидермиса, эндотеция, двух средних слоев и тапетума (рис. 1, 2). Тапетум секреторного типа является производным первичного париетального слоя. На ранних стадиях развития микроспорангия его клетки одноядерные, а в сформированном микроспорангии - 2-ядерные. Однако, в некоторых случаях, клетки после образования двух ядер переходят к цитокинезу, вследствие чего формируется двухслойный участок тапетума, представленный одноядерными клетками. В результате этого, тапетальный слой можно охарактеризовать как нерегулярно двухслойный. На стадии образования тетрад микроспор в тапетуме отмечается начало дезинтеграции клеток, что сопровождается их

уплощением и увеличением вакуолей. Ядра клеток в этот период интенсивно окрашиваются гематоксилином. По данным гистохимического анализа тапетума *V. juncea*, проведенного Г.М. Ильиной [5], показано, что в период образования тетрад микроспор в клетках тапетума при окраске гематоксилином и реакции по Фельгену ядра сильно окрашиваются и не имеют видимой структуры, что свидетельствует, по мнению автора, о дегенерации тапетума. Однако, учитывая активную роль тапетума в образовании экзины и трифины пыльцевых зерен и сохранение клеточной структуры тапетума до дифференцирующего митоза микроспор, можно предположить, что насыщенная окраска гематоксилином клеток тапетума в период образования микроспор свидетельствует об изменении интенсивности синтетической активности тапетума в этот период. В последующем дезинтеграция тапетума усиливается, и в период спермиогенеза его клетки лизируют.

В постмейотический период, начиная со стороны связника, происходит редукция средних слоев. При этом сначала лизирует внутренний средний слой, а позже, на стадии дифференцирующего митоза, главным образом, по периферии - слой, примыкающий к эндотецию. Кроме того, на стадии дифференцирующего митоза, происходит уплощение клеток эпидермиса и эндотеция (рис. 1, 3 – 1, б). На поверхности эпидермиса наблюдается кутикула и простые волоски. В эндотеции образуются радиально расположенные фиброзные пояски. Кроме того, фиброзные утолщения отмечаются и в клеточных стенках паренхимной ткани пыльника со стороны связника.

Таким образом, внешняя сторона стенки зрелого микроспорангия образована уплощенными клетками эпидермиса, покрытыми кутикулой и волосками, и фиброзным эндотецием (рис. 1, 7). Со стороны связника сохраняется средний слой с фиброзными образованиями.

Микроспороциты – крупные многогранные клетки с хорошо выраженным ядром – образуют несколько рядов. В некоторых гнездах пыльников отмечается лизис части спорогенных клеток, однако причины данного явления не известны. Мейоз в пыльниках у *V. taurica* идет асинхронно. В разных гнездах пыльника могут находиться мейоциты от метафазы I деления до анафазы II деления мейоза. Мейотические деления микроспор начинаются в пыльниках медиальных тычинок. В то время, как микроспоры латеральные тычинок находятся на стадии профазы, в микроспорангиях медиальных тычинок микроспороциты находятся на стадии I мейотического деления. У основания пыльника, как правило, располагаются мейоциты более поздних стадий. Микроспорогенез у *V. taurica* идет по симультанному типу. Микроспоры в тетрадах располагаются тетраэдрически или изобиллатерально и обособлены каллозными оболочками, которые постепенно уменьшаются (рис. 1, 3 – 1, 4). В дальнейшем микроспоры вакуолизируют, ядро и цитоплазма при этом смещаются к оболочке, и наступает дифференцирующий митоз, который завершается цитокинезом с образованием вегетативной и

генеративной клеток. На этой стадии формируются оболочки пыльцевого зерна. Генеративная клетка смещается к периферии. Следует отметить, что спермиогенез происходит в закрытых пыльниках до начала цветения. К началу цветения и вскрытия пыльников в их гнездах находятся 3-х клеточные пыльцевые зерна (рис. 1, 8).

Зрелые пыльцевые зерна у *B. taurica* меридиально трехбороздные с сетчатой поверхностью спородермы, трехклеточные, встречаются также 4-х, 2-х, 1-бороздные пыльцевые зерна. Пыльца *B. taurica* желтого цвета, округлой или сфероидальной формы, длиной $31,7 \pm 0,18$ мкм и шириной $26,97 \pm 0,27$ мкм. Морфометрические параметры пыльцевых зерен медиальных и латеральных тычинок приведены в таблице 1. В медиальных тычинках морфологически нормальные пыльцевые зерна составляют 87,83%, в латеральных тычинках – 89,46%. Доля дефективной пыльцы, размером $18,84 \pm 0,29$ мкм, составила 12,17% и 10,54% соответственно для медиальных и латеральных тычинок. Основной причиной образования дефективных стерильных пыльцевых зерен являются нарушения в ходе мейоза: неравномерное расхождение хромосом, выбрасывание хромосом за пределы ахроматинового веретена и образование микроядер как в процессе редукционного (I) деления, так и при эквационном (II) делении (рис. 2).

Пыльца у *B. taurica* покрыта особым веществом, вероятно, трифиной, которая, как известно, откладывается на поверхности пыльцевых зерен у видов сем. Brassicaceae и обуславливает проявление спорофитной самонесовместимости [1; 2] (рис. 1, 9). Трифина представляет собой гетерогенную смесь веществ с большим содержанием липидов и гликолипидов и цитоплазматических остатков [27; 29]. По мнению H.G. Dickinson, D. Lewis [28] и J. Heslop-Harrison [30], трифина является продуктом тапетума и формирует покрытие пыльцевых зерен в период его дезорганизации.

При проращивании пыльцевых зерен *B. taurica* на искусственной питательной среде, содержащей 1% раствор агара и 25% раствор сахарозы (при температуре $+19-20^{\circ}\text{C}$), образование пыльцевых трубок начинается через час после посева пыльцы. Жизнеспособность пыльцевых зерен *B. taurica* в ходе цветения снижается и на третьи сутки количество проросшей пыльцы составляет 14,97% и 17,86% для медиальных тычинок и латеральных тычинок соответственно, а на пятые сутки пыльца утрачивает способность к образованию пыльцевых трубок.

Следует отметить, что согласно литературным данным, род *Brassica* характеризуется довольно однообразным формированием микроспорангия и строением пыльцевых зерен. Основные различия заключаются лишь в количестве средних слоев внешней стенки микроспорангия. Так, в стенке микроспорангия у *B. napus* и *B. campestris* var. *Yellow Sarson* отмечается 2 средних слоя [6; 36], а у *B. juncea* 2-3 средних слоя [5]. Тапетум у всех представителей рода секреторного типа, образованный двух- (*B. napus* [6]) или трехклеточными клетками (*B. campestris* var. *Yellow Sarson* [36]), является

производным первичного париетального слоя. Стенка зрелого микроспорангия образована двумя слоями: эпидермисом и эндотецием с фиброзными утолщениями. Спорогенная ткань многоклеточная, состоит из несколько десятков многоугольных клеток (*B.napus* [6]; *B. juncea* [5]). Микроспорогенез идет по симультанному типу с образованием тетраэдрически или изобиллатерально расположенных тетрад микроспор (*B.napus* [6]; *B. juncea* [5]). Таким образом, способ формирования стенки микроспорангия, тип тапетума, тип микроспорогенеза и пыльцевых зерен у *B. taurica* соответствует данным характеристикам, свойственным другим представителям рода *Brassica*. В то же время, у *B. taurica* нами отмечены следующие особенности в ходе развития микроспорангия и микроспорогенеза: формирование простых волосков из клеток эпидермального слоя микроспорангия, закладка фиброзных утолщений не только в эндотеции с внешней стороны, но и в клетках со стороны связника; образование 2-слойных участков тапетума, как результат дополнительных делений; асинхронный митоз в медиальных и латеральных тычинках.

Таблица 1.

Морфометрические параметры пыльцевых зерен медиальных и латеральных тычинок у *B. taurica*

Популяция	Морфометрические параметры	Размах варьирования		Среднее арифметическое, $M \pm m$ (мкм)	Среднее квадратичное отклонение, σ	Коэффициент варьирования, V (%)	
		min, мкм	max, мкм				
I	медиальные тычинки	длина	28	42	$32,80 \pm 0,42$	3,48	0,11
		ширина	22	38	$27,46 \pm 0,36$	3,04	0,11
		дефективные	14	22	$18,14 \pm 0,37$	1,96	0,11
II	медиальные тычинки	длина	30	42	$32,13 \pm 0,30$	2,35	0,07
		ширина	22	38	$27,36 \pm 0,35$	2,78	0,10
		дефективные	16	22	$18,84 \pm 0,29$	1,61	0,09
I	латеральные тычинки	длина	28	44	$32,09 \pm 0,39$	3,21	0,10
		ширина	22	42	$27,01 \pm 0,42$	3,52	0,13
		дефективные	16	20	$18,34 \pm 0,30$	1,61	0,09
II	латеральные тычинки	длина	24	42	$31,7 \pm 0,34$	2,77	0,08
		ширина	20	36	$25,7 \pm 0,35$	2,89	0,11
		дефективные	16	22	$18,97 \pm 0,31$	1,70	0,09

Таблица 2.

Соотношение морфологически нормальных и дефективных пыльцевых зерен в пыльниках *B. taurica*

популяция	медиальные тычинки		латеральные тычинки	
	морфологически нормальные пыльцевые зерна, %	дефективные пыльцевые зерна, %	морфологически нормальные пыльцевые зерна, %	дефективные пыльцевые зерна, %
I	88,75	11,25	90,56	9,44
II	87,83	12,17	89,46	10,54

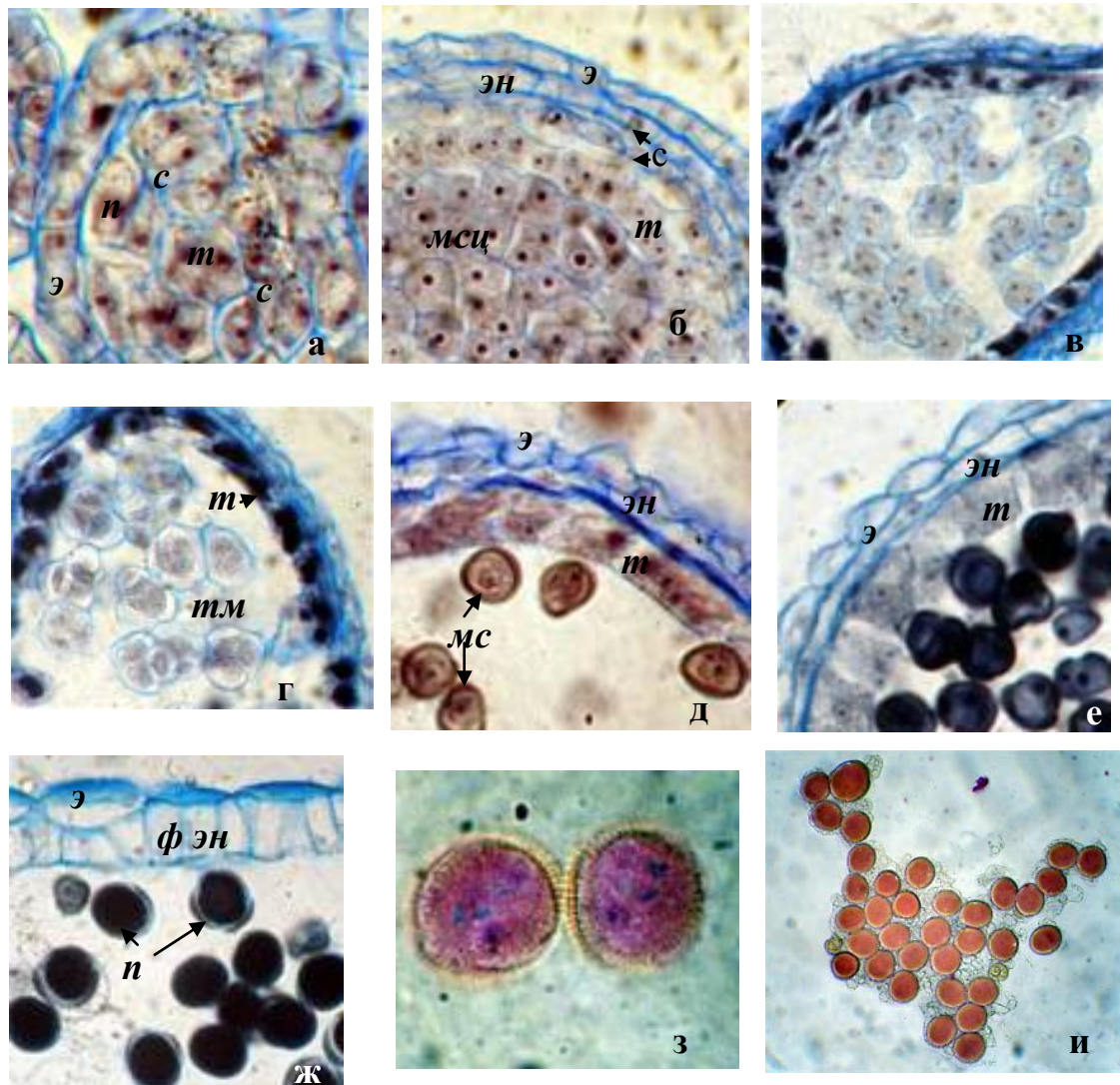


Рис. 1. Развитие стенки микроспорангия и мужского гаметофита у *V. taurica*: 1 – деление клеток париетального слоя, образование среднего слоя в стенке микроспорангия; 2 – сформированная стенка микроспорангия; 3 – микроспорогенез; 4 – тетрады микроспор; 5 – фрагмент стенки пыльника на стадии микроспор; 6 – микроспорангий на стадии дифференцирующего деления микроспор; 7 – стенка зрелого пыльника и пыльцевые зерна; 8 – 3-х клеточные пыльцевые зерна со столбчатой структурой и сетчатой поверхностью спородермы; и – пыльцевые зерна, покрытые трифиной (к – кутикула; мс – микроспора; мсц – микроспороциты; пз – пыльцевые зерна; пс – париетальный слой; спт – спорогенная ткань; сс – средний слой; т – тапетум; тм – тетрада микроспор; ф эн – фиброзный эндотеций; эн – эндотеций; э – эпидермис).

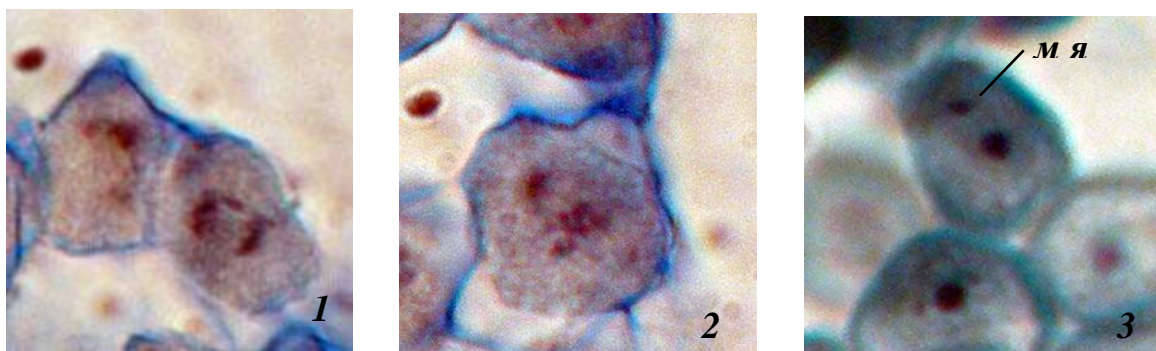


Рис. 2. Аномалии развития мужского гаметофита у *Brassica taurica*:
 1 – неравномерное расхождение хромосом;
 2 – выбрасывание хромосом за пределы веретена деления;
 3 – образование дополнительных микроядер (м я).

Примордии плодолистиков формируются несколько позднее тычинок. Семязачатки закладываются на плаценте в виде небольших бугорков однородных клеток в период, когда в пыльниках уже сформирована стенка микроспорангия. В последующем в субэпидермальном слое примордия семязачатка образуются три более крупные клетки с четко выраженным крупным ядром. Центральная субэпидермальная клетка преобразуется в археспориальную клетку, а клетки, расположенные рядом с ней дают начало латеральной области нуцеллуса (рис. 3, 1 - 3, 2).

Формирование нуцеллуса начинается с деления субэпидермальных клеток в примордии семязачатка. Центральная субэпидермальная клетка делится периклинально с образованием париетальной и спорогенной клеток. Париетальная клетка, как правило, редуцируется на стадии апоптозиса трех мегаспор, а иногда и на более поздних стадиях развития семязачатка, вплоть до образования 2-ядерного зародышевого мешка. В некоторых случаях центральная археспориальная клетка не делится, а непосредственно дает начало мегаспороциту. По мнению Г.Б. Родионовой [17], наличие кроющей (париетальной) клетки для видов сем. Brassicaceae является непостоянным признаком, поскольку она возникает не в результате дифференциального деления первичной археспориальной клетки, а является париетальной по своему положению. Наклонные деления латеральных субэпидермальных клеток приводят к образованию латеральной области нуцеллуса, которая в сформированном состоянии представлена двумя рядами клеток. Лизис клеток латеральной области происходит, начиная со стадии двуядерного зародышевого мешка. Эпидермальный слой разрушается в ходе развития зародышевого мешка.

Халазальная область нуцеллуса преобразуется на начальных стадиях развития зародышевого мешка. Клетки базальной и латеральной областей

нуцеллуса в халазальной части делятся периклинально, а их производные приобретают вытянутую в продольном направлении форму, за счет антиклинальных делений происходит увеличение их слоев. В зрелом семязачатке вся халазальная область образует единую структуру, образованную 4-6 рядами клеток, которую И.И. Шамров [20-22] охарактеризовал как постаменто-подиум.

Таким образом, учитывая наличие в нуцеллусе у *B. taurica* латеральной части, сохраняющейся до стадии 2-ядерного зародышевого мешка и базальной части, которая преобразуется в постаменто-подиум, семязачаток, согласно классификации И.И. Шамрова [20], можно охарактеризовать как медионуцеллятный. Поскольку медионуцеллятный тип является переходным между тенуинуцеллятным и крассинуцеллятным и совмещает их признаки, то неоднозначная характеристика семязачатков представителей рода *Brassica* по типу нуцеллуса (семязачатки у *B. napus* и *B. juncea* определены как тенуинуцеллятные [5; 6]), а *B. campestris* var. *Yellow Sarson* – крассинуцеллятные [36]) можно объяснить использованием в исследованиях более ранних и простых классификаций.

Образование кольцевых валиков наружного и внутреннего интегументов происходит на стадии сформированного мегаспороцита. Первым формируется внутренний интегумент, при этом в эпидермальном слое закладываются инициальные клетки, первое деление которых периклинальное, за ним следуют наклонные деления терминальных производных. Рост интегумента происходит за счет сохранения меристематической активности терминальной клетки, которая делится наклонно или периклинально, а также периклинальных делений ее производных. В результате периклинальных делений клеток средних слоев внутреннего интегумента происходит разрастание ткани, и на стадии мегаспоры или двуядерного зародышевого мешка внутренний интегумент состоит из 3-5 слоев клеток. При образовании двуядерного зародышевого мешка клетки внутренней эпидермы внутреннего интегумента проходят дифференцирующее деление в периклинальном направлении, в результате которого формируется интегументальный тапетум. В халазальной части наблюдается разрастание ткани внутреннего интегумента, в результате чего образуется до 10 слоев мелких клеток таблитчатой формы с густой цитоплазмой. Дермальное происхождение внутреннего интегумента является типичным признаком для представителей рода *Brassica* [26; 38]. Согласно Г.Б. Родионовой [17], для рода *Brassica* характерно разрастание внутреннего интегумента до 4-6 слоев. Внутренний интегумент у *B. juncea* образован 4-мя слоями клеток [5]. Согласно нашим данным, у *B. taurica* в зрелом семязачатке внутренний интегумент образован 6 слоями клеток.

Наружный интегумент у *B. taurica* имеет дермально-субдермальное происхождение. Его образование осуществляется благодаря периклинальным делениям субдермальной инициальной клетки и ее производных, а также антиклинальных делений клеток эпидермы, расположенных над инициальной (рис. 3. 1 – 3. 3). Деление производных

субэпидермальной клетки образует два слоя клеток. Наружный интегумент зрелого семязачатка состоит из четырех слоев уплощенных клеток (рис. 3, б). Аналогичное количество слоев отмечено и у *B. juncea* [5]. В области микропиле наружный интегумент сохраняет свою двухслойную структуру, поскольку образован только производными эпидермальных инициалей. На стадии формирования мегаспоры наблюдается разрастание ткани наружного интегумента на абаксиальной стороне семязачатка. Следует отметить, что субдермальное происхождение наружного интегумента у *B. taurica* является типичным признаком представителей трибы Brassiceae, к которой относится данный таксон [20; 26; 38]. Микропиле у *B. taurica* образовано обоими интегументами. Таким образом, семязачаток у *B. taurica* битегмальный, происхождение и строение интегументов у *B. taurica* не имеют существенных отличий от данных структур у других представителей рода.

Незначительную часть семязачатка *B. taurica* занимает халаза. Согласно классификации, предложенной И.И. Шамровым [20], халаза подобного типа может быть определена как мезохалаза (рис. 3, 4 – 3, б). Проводящий пучок проходит по изгибающемуся фуникулюсу и подходит непосредственно к халазе, заканчиваясь в ней.

Гипостаза как самостоятельная структура, дифференцируется на стадии мегаспороцита, при закладке структур наружного интегумента. Первоначально она является двухслойной, а в зрелом семязачатке состоит из 3-5 слоев мелких уплощенных клеток с густой цитоплазмой.

В ходе развития, начиная со стадии археспориальной клетки, семязачаток изгибается, и на стадии мегаспоры приобретает основные признаки, свойственные ана-кампилотропным семязачаткам [10]: наблюдается одностороннее разрастание интегументов, нуцеллус приобретает слабый изгиб, а микропиле оказывается расположено практически на одном уровне с халазой и приближается к плаценте (рис. 3, 4 – 3, 5). В результате дальнейшего разрастания ткани наружного интегумента на абаксиальной стороне семязачатка и усиления изгиба фуникулюса, семязачаток, содержащий сформированный зародышевый мешок, также увеличивает изгиб. При этом нуцеллус приобретает подковообразную форму, изгибаясь над выступом паренхимной ткани, образованной в результате разрастания интегументов. Таким образом, микропиле и халаза оказываются на одном уровне, а проводящий пучок, снабжающий семяпочку, искривляется и подходит к халазе. Морфологическая ось (микропиле, нуцеллус, халаза), образующаяся в результате формирования семязачатка, у *B. taurica* оказывается изогнутой, что позволяет охарактеризовать зрелый семязачаток у данного таксона как ана-амфитропный (рис. 3, б). У *B. napus* и *B. campestris* var. *Yellow Sarson* семязачаток ко времени окончательной дифференцировки кампилотропный, и лишь после оплодотворения преобразуется в ана-амфитропные [6; 36].

Первичная археспориальная клетка, расположенная в субэпидермальном слое, как правило, делится с образованием париетальной и спорогенной клеток. Однако в некоторых семязачатках деление первичной археспориальной клетки не происходит, в таких случаях археспориальная клетка становится мегаспороцитом. Следует отметить, что для рода *Brassica* положение мегаспороцита и наличие париетальной (кроющей) клетки характеризуется как непостоянный признак [16; 17], таким образом, мегаспороцит может располагаться как субэпидермально [6; 39], так и под одной или несколькими париетальными клетками [16; 35; 36; 37; 38]. Для некоторых представителей рода *Brassica* характерно образование не только одноклеточного археспория, как это наблюдается у *B.napus* [6] и *B.campestris* var. *Yellow Sarson* [36], но и двухклеточного (*B.oleracea* [6; 39], и многоклеточного археспория (*B.campestris* [38]). У *B. taurica* также в отдельных случаях образуется два мегаспороцита, но при этом в зрелом семязачатке всегда один зародышевый мешок.

Мегаспорогенез происходит с образованием линейной тетрады мегаспор. Три мегаспоры дегенерируют, а крупная халазальная мегаспора, как правило, дает начало зародышевому мешку, который развивается по Polygonum-типу. Кроме того, у *B. taurica* отмечены случаи развития зародышевого мешка из эпихалазальной мегаспоры. Аналогичное явление отмечалось и для *B.campestris* [38]. В центре зародышевого мешка на 2-х и 4-ядерной стадии формируется крупная вакуоль. Зрелый зародышевый мешок представляет собой 8 ядерную, 7-клеточную структуру, в которой выражен яйцевой аппарат, два полярных ядра и 3 клетки антиподы. Яйцевой аппарат, образованный двумя синергидами и яйцеклеткой, обладает хорошо выраженным нитчатым аппаратом. Яйцеклетка крупнее синергид, с крупной вакуолью, смещающей цитоплазму и ядро к апикальному полюсу. Полярные ядра приближены к яйцевому аппарату. Их слияние происходит при оплодотворении. Антиподы дегенерируют вскоре после оплодотворения.

В целом, зрелый семязачаток у *B. taurica* можно охарактеризовать, как медионуцеллярный, битегмальный, ана-амфитропный, фуникулярный, что в целом, учитывая современные классификации [10; 20], соответствует эмбриологическим данным для представителей рода *Brassica*. Характерными чертами в строении семязачатков у *B. taurica* являются увеличение слоев во внутреннем интегументе.

В одной завязи формируется около 25 семязачатков, из которых 60-80% образуют семена, что свидетельствует о высоком жизненном потенциале женской генеративной сфере у *B. taurica* [12].

Следует отметить, что мужская и женская генеративные сферы *B. taurica* развиваются асинхронно. В начале формируется микроспорангий и микроспоры, и лишь после их образования начинается развитие структур семязачатков. Мегаспорогенез у *B. taurica* протекает в период, когда в пыльниках уже сформированы микроспоры. Развитие зародышевого

мешка сопряжено с интенсивными преобразованиями нуцеллуса и интегументов, что отражается в изменении морфологического типа семязачатка. Формирование зародышевого мешка совпадает с дифференцирующим митозом микроспор и сопряженными с ним изменениями стенки пыльника. К началу цветения и открытия околоцветника гинецей содержит зрелые семязачатки с дифференцированными зародышевыми мешками, а в интрорзно вскрывающихся пыльниках находятся 3-клеточные пыльцевые зерна.

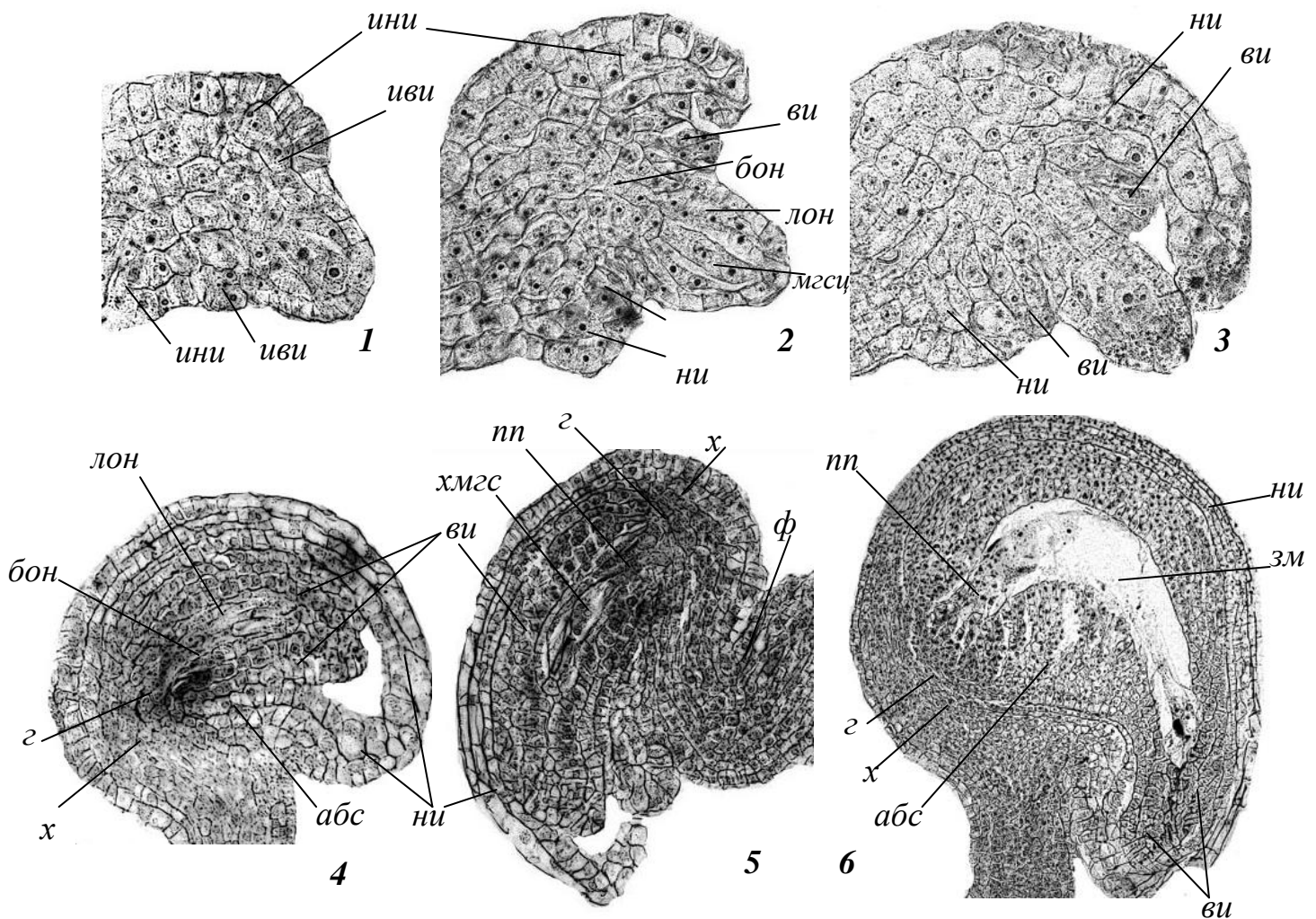


Рис. 3. Формирование семязачатка у *V. taurica*: 1 - 3 – семязачаток на стадии мегаспороцита; 4 – семязачаток в период мегаспорогенеза; 5 – семязачаток на стадии апоптозиса мегаспор; 6 – зрелый семязачаток с дифференцированным зародышевым мешком (1-3 – увеличение 1250х; 4-6 – увеличение 500х); абс – абаксиальная сторона семязачатка; бон – базальная область нуцеллуса; ви – внутренний интегумент; г – гипостаза; зм – зародышевый мешок; иви – инициаль внутреннего интегумента; ини – инициаль наружного интегумента; лон – латеральная область нуцеллуса; мгсц – мегаспороцит; ни – наружный интегумент; пп – постаментоподиум; ф – фуникулос; х – халаза; хмгс – халазальная мегаспора; яа – яйцевой аппарат.

То есть, к началу цветения мужской и женский гаметофиты у *B. taurica* полностью сформированы и потенциально готовы к оплодотворению. Учитывая свойственную виду гетеростилию, когда наравне с короткостолбчатыми и длинностолбчатыми цветками, образуются цветки, в которых завязь и тычинки одинаковы по высоте и в момент открытия околоцветника сближены и могут соприкасаться, можно предположить, что пространственное расположение генеративных элементов создает предпосылки для самоопыления.

Аналогичный механизм взаимодействия генеративных структур, характеризующийся как контактная автогамия, отмечен у другого представителя семейства Brassicaceae – *Cardamine graeca* [13]. Однако проявление самонесовместимости, одним из факторов которого является наличие на экзине пыльцевых зерен гликолипидной оболочки – трифины – предотвращает возможность самоопыления у *B. taurica* и является гарантией реализации ксеногамии у данного вида.

Таким образом, учитывая свойственную виду гетеростилию и спорофитную самонесовместимость, сочетающихся с гомоантезисом, а также ряд морфологических особенностей цветка, способствующих привлечению насекомых [11], можно предположить, что основным типом опыления *B. taurica* является аллогения, которая осуществляется в результате энтомофилии.

Выводы

1. Стенка микроспорангия развивается в центробежном направлении. В сформированном состоянии она образована эпидермисом, эндотецием, 2-мя средними слоями и нерегулярно 2-слойным тапетумом секреторного типа. В зрелом состоянии стенка микроспорангия 2-слойная: состоит из уплощенных клеток эпидермиса, покрытыми кутикулой и простыми волосками, и эндотеция с фиброзными утолщениями, которые формируются также и со стороны связника.

2. Микроспорогенез протекает по симультанному типу с образованием тетрад с тетраэдрическим или изобилатеральным расположением микроспор. Зрелые пыльцевые зерна трехклеточные, меридиально трехбороздные, имеющие экзину с сетчатой структурой и столбчатой поверхностью.

3. Семязачаток в зрелом состоянии характеризуется как анаамфитропный, медионуцеллятный, битегмальный, фуникулярный. Внутренний интегумент образован 6 слоями клеток и имеет дермальное происхождение. Инициали наружного интегумента располагаются в эпидермальном и субэпидермальном слоях. В зрелом семязачатке наружный интегумент состоит из 4 слоев уплощенных клеток. В халазальной части нуцеллуса формируется постаменто-подиум.

4. Зародышевый мешок развивается по Polygonum-типу из халазальной или эпихалазальной мегаспоры.

5. Основные признаки организации микроспорангия и семязачатка, а также мужского и женского гаметофитов данного таксона соответствуют цитоэмбриологическим характеристикам других представителей рода *Brassica*. Однако из-за отсутствия детальных описаний генеративных структур других таксонов представленных в литературных источниках выявление таксоноспецифических признаков затруднено.

6. Характерными признаками генеративной сферы *B. taurica*, отражающими направление репродуктивной стратегии вида, являются: проявление геркогамии при одновременном созревании генеративных структур и реализация факторов самонесовместимости.

7. В результате элиминации в ходе развития археспориальных, спорогенных и гаметофитных структур в пыльниках формируется около 90% морфологически нормальных пыльцевых зерен, что создает предпосылки для полноценного опыления. Однако непродолжительный срок жизнеспособности пыльцевых зерен, вероятно, является фактором, ограничивающим период опыления, которое осуществляется преимущественно аллогенной пылью в результате энтомофилии. Высокий процент семяобразования (более 60-80% семян в завязи преобразуется в семена) свидетельствует о высокой жизнеспособности женской генеративной сферы данного вида. Следовательно, генеративная сфера *B. taurica* обладает высоким потенциалом возобновления, необходимым для реализации успешного опыления и оплодотворения.

8. Установленный комплекс признаков можно рассматривать как одно из направлений репродуктивной стратегии представителей семейства Brassicaceae, ориентированный на увеличение гетерозиготности особей.

Список литературы

1. Вишнякова М.А. Структурно-функциональные основы самонесовместимости у цветковых растений // Ботан. журн. – 1989. – Т. 74, № 2. – С. 137–152.
2. Вишнякова М.А. Эволюционная преемственность структурных механизмов гаметофитного и спорофитного типов реакции самонесовместимости // Ботан. журн. – 1997. – Т. 82, № 8. – С.1–17.
3. Ена Ан.В. Ботанико-географические комментарии к списку эндемиков флоры Крыма // Укр. ботан. журн. – 2003. – Т. 60, № 3. – С. 255–263.
4. Жинкина Н.А., Воронова О.Н. О методике окраски эмбриологических препаратов // Ботан. журн. – 2000. – Т. 85, № 6. – С. 168–171.
5. Ильина Г.М. Эмбриологическое исследование *Brassica juncea* // Вестник Московского университета. – 1962. – № 1. – С. 34–45.
6. Кавецкая А.А. Цитоэмбриологические исследования рапса: Автореф. кандидата биол. наук. – К., 1960. – 16 с.

7. Каталог редких, исчезающих и уничтожаемых растений флоры Крыма, рекомендуемых для заповедной охраны / Сост.: Лукс Ю.А., Привалова Л.А., Крюкова И.В. – Ялта, 1976. – 24 с.

8. Каталог видів флори і фауни України, занесених до Бернської Конвенції про охорону дикої флори і фауни та природних середовищ існування в Європі. – Вип. перший. Флора. – Київ: Фітосоціоцентр, 1999. – 52 с.

9. Кордюм Є.Л. Перспективи розвитку цитоембріології покритонасінних рослин // Укр. ботан. журн. – 1983. – Т. XL, № 2. – С. 24–29.

10. Корчагина И.А. Семязачаток. // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Т. 1. – СПб. – 1994. – С. 122–131.

11. Кузьмина Т.Н. Некоторые особенности морфологии репродуктивных органов *Brassica taurica* (Tzvel.) Tzvel. (сем. Brassicaceae Burnett) // Вісті біосферного заповідника «Асканія-Нова». – 2006. – Т. 8. – С. 93–96.

12. Кузьмина Т.Н. Некоторые особенности семенного размножения *Brassica taurica* (Tzvel.) Tzvel. (Brassicaceae) // Ученые ботаники Таврического университета: вклад в науку, идеи и их развитие. Материалы Международной научной конференции (Симферополь, 20 мая 2008 года). – Симферополь, 2008 – С. 80–83.

13. Кузьмина Т.Н., Шевченко С.В. Особенности естественного возобновления *Cardamine graeca* L. (Brassicaceae) в Крыму // «Вісник Київського національного університету ім. Тараса Шевченка «Інтродукція та збереження рослинного різноманіття». – 2007. – Вип. 12-14. – С. 137–143.

14. Определитель высших растений Украины / Доброчаева Д.Н., Котов М.И., Прокудин Ю.Н. и др. – Киев: Наукова думка, 1987. – 548 с.

15. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. – М.: Колос, 1970. – 255 с.

16. Родионова Г. Б. Сравнительно-эмбриологическое исследование семейства крестоцветных (Cruciferae Juss.): Автореф. дис. ... канд. биол. наук / МГУ. – 1967. – 19 с.

17. Родионова Г.Б. Сравнительная эмбриология семейств порядка *Carragales* Hutch в связи с их систематическим положением: Автореф. дис. ... доктора биол. наук: 03.00.05) / Ботанический институт им. В.Л. Комарова. – СПб, 1993. – 55 с.

18. Цвелев Н.Н. О некоторых более редких растениях Европейской части СССР // Новости систематики высших растений. – Т. 6. – Л.: Наука, 1970. – С. 294–301.

19. Червона книга України. Рослинний світ / Під ред. Ю.Р. Шеляг-Сосонка. – Київ: Українська енциклопедія, 1996. – 608 с.

20. Шамров И.И. Семязачаток как основа семенного воспроизведения цветковых растений: классификация структур // Ботан. журн. – 1999. – Т. 84, № 10. – С. 1–34.

21. Шамров И.И. Морфогенез семязачатка и семени у *Capsella bursa-pastoris* (Brassicaceae) // Ботан. журн. – 2002а. – Т. 87, № 2. – С. 1–18.
22. Шамров И.И. Нуцеллус семязачатка: происхождение, дифференциация, структура и функции // Ботан. журн. – 2002б. – Т. 87, № 10. – С. 1–30.
23. Шевченко С.В., Ругузов И.А., Ефремова Л.М. Методика окраски постоянных препаратов метиловым зеленым и пиронином // Бюлл. Никит. ботан. сада. – 1986. – Вып. 60. – С. 99–101.
24. Ahuja Y. P., Bhaduri P. N. The embryology of *Brassica campestris* var. *toria* Duth. Full. // Phytomorphology. – 1956. – V. 6, № 1. – P. 63–67.
25. Bijok K. Badania cyto-embryologiczne nad gatunkiem *Brassica juncea* (L.) // Zesr. nauk. Wyzszej szkol. roln. Olsztynie. – 1966. – V. 22, № 1. – P. 108–122.
26. Bouman F. Integument initiation and testa development in some Cruciferae // Bot. J. Soc. – 1975. – Vol. 70, № 3. – P. 213–229.
27. Dickinson H.G. Self-incompatibility in flowering plants // Bioassays. – 1990. – Vol. 12, № 4. – P. 155–161.
28. Dickinson H.G., Lewis D. Cytochemical and ultrastructural differences between intraspecific compatible and incompatible pollinations in *Raphanus* // Proc. Royal. Soc. Lond. – 1973. – Ser. B, Vol. 183. – P. 21–38.
29. Echlin P. The role of tapetum during microsporogenesis in anther // Pollen: development and physiology. – 1971. – P. 41–61.
30. Heslop-Harrison J. Tapetal origin of pollen-coat substances in *Lilium* // New Phytol. – 1968. – Vol. 67. – P. 779–786.
31. Heywood V. H. Gen. *Brassica* L. // Flora Europaea, 1 – 1964.
32. Mackiewicz T. Gametogenesis, embryo sac development and pollen grain morphology in *Brassica oleracea* var. *capitata* L. x *B. oleracea* var. *acephala* Dc. Hybrid as compared with the parental forms // Genet. pol. – 1973. – V. 14, № 1. – P. 1–10.
33. Norton G., Harris J.F. Compositional changes in developing rape (*Brassica napus* L.) // Planta. – 1975. – 123. – P. 163–174.
34. Onno M. Die Wildformemen aus dem Verwandtschaftskreis “*Brassica oleracea* L.” // Oesterr. Bot. Zeitschr., 1933. – 82.
35. Pearson C.H. Study of the life history of *Brassica oleracea* // Bot. Gaz. – 1933. – V. 94, № 3-4. – P. 534–550.
36. Rathore B. K., Singh R. P. Embryological studies in *Brassica campestris* L. var. *jelow* Sarson Prain. // J. Indian Bot. Soc. – 1968. – V. 47, № 3-4. – P. 341–349.
37. Sulbcha K. Embryology of *Brassica juncea* // J. Indian. Bot. Soc. – 1957. – V. 36, № 3. – P. 292–301.
38. Summer M. J., Van Caeseela L. Ovule development in *Brassica campestris*: a light microscope study // Can. J. Bot. – 1988. – V. 66, № 12. – P. 2459–2469.
39. Thomson R. C. A morphological study of flower and seed development of cabbage // J. Agr. Res. – 1933. – V. 27, № 47. – P. 215–232.

40. Vijok K. Badania cyto-embryologiczne nad gatunkiem *Brassica rape* L. var. *oleifera* // Zesr. nauk. Wyzszej szkol. roln. Olsztynie. – 1964. – V. 17, № 1. – P. 125–137.

41. Vijok K. Studia taksonomiczno-cyto-embryologiczne nad europejskimi odmianami *Brassica nigra* L. // Zesr. nauk. Wyzszej szkol. roln. Olsztynie. – 1967. – V. 23, № 2. – P. 325–357.

The forming of male and female generative sphere of *Brassica taurica* (Tzvel.) Tzvel. (fam. Brassicaceae)

Kuzmina T.N., Shevchenko S.V.

The characteristics of microsporangium wall, pollen grains, the ovule, the embryo sac formation of the Crimean rare species *Brassica taurica* have been presented. The signs of generative structures adaptation to allogamy have been determined.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки Автономной Республики Крым