

**РЕПРОДУКТИВНАЯ БИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ**

УДК 582.471:581.321.1(477.75)

**ФОРМИРОВАНИЕ ЖЕНСКИХ РЕПРОДУКТИВНЫХ СТРУКТУР  
*TORREYA GRANDIS* FORTUNE EX LINDL. В УСЛОВИЯХ  
ЮЖНОГО БЕРЕГА КРЫМА****Анна Игоревна Ругузова**

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр  
298648, Республика Крым, г.Ялта, пгт. Никита  
annaruguzova@ukr.net

В статье приводятся данные о календарных сроках прохождения процессов формирования женских репродуктивных структур *Torreya grandis* Fortune ex Lindl. в условиях интродукции. Показано, что у данного вида к моменту поллинии формируется достаточное количество нормально развитых семязачатков, в которых женская сфера находится на стадии мегаспороцита. Дальнейшее развитие женской генеративной сферы проходит только в опыленных семязачатках. От опыления до оплодотворения проходит 16-17 месяцев, а от оплодотворения до созревания семян -11. В зрелых семенах зародыш недоразвит.

**Ключевые слова:** *Torreya grandis*; женские репродуктивные структуры; семязачатки; женский гаметофит, семена

**Введение**

Расширение видового и формового ассортимента растений, используемых в декоративном садоводстве, является одной из задач ботанических садов. В последние десятилетия особое внимание уделяется растениям, которые, помимо декоративного эффекта, имеют пищевую или лекарственную ценность.

Хвойные растения широко используются в декоративном садоводстве благодаря своей вечнозеленой хвое, сохраняющей декоративность круглый год, большой продолжительности жизни, разнообразию форм и наличию фитонцидов обладающих целебными свойствами. Кроме того, семена некоторых видов хвойных имеют высокую пищевую ценность. К таким растениям, помимо хорошо известных сосен (*Pinus sibirica* Du Tour, *Pinus koraiensis* Siebold & Zucc., *Pinus pumila* Regel, *Pinus mugo* Turra, *Pinus pinea* L., *Pinus coulteri* D.Don и др.), относится *Torreya grandis* Fortune ex Lindl. (семейство Taxaceae). Данный вид естественно произрастает в восточных районах Китая, а также выращивается в Европе и Северной Америке как декоративное растение. В Китае торрея является важной промышленной культурой благодаря тому, что ее семена обладают не только высокой питательной ценностью и необычным вкусом, но также содержат витамины, минеральные элементы, белки и незаменимые жирные кислоты. Более того, разные части *T. grandis* обладают противоглистным, противовоспалительным, противогрибковым и антибактериальным действием, а также противоопухолевой активностью [6]. Биохимический анализ масла из семян торреи показал, что оно содержит 18 компонентов, основными являются линолевая (42,02%) и олеиновая кислоты (32,14%). Проведенные исследования показали, что масло обладает высокой антиоксидантной активностью и способностью выводить свободные радикалы [7].

В Арборетуме Никитского ботанического сада *T. grandis* представлена несколькими растениями. По данным многолетних визуальных наблюдений растения не обмерзают даже в самые холодные зимы, устойчивы к воздушной засухе, но требовательны к почвенной влажности и нуждаются в поливе в засушливый период [2].

Таким образом, данный вид может выращиваться на ЮБК как декоративное растение. Однако для его распространения необходим посадочный материал, полученный из семян, сформировавшихся в условиях интродукции. В то же время формирование семян у голосеменных растений является сложным и растянутым во времени процессом, состоящим из целого ряда этапов. Исследования многих видов голосеменных и покрытосеменных растений показали, что сроки прохождения эмбриологических процессов обусловлено не только внутренними свойствами организма, а и в значительной степени находится под контролем факторов внешней среды. Таким образом, изучение полового процесса растений в условиях интродукции с одной стороны, позволяет решить практическую задачу получения полноценных жизнеспособных семян, а с другой - расширяет наши знания об адаптивных возможностях видов.

Цель данной работы – выявить особенности формирования женских репродуктивных структур *Torreya grandis* Fortune ex Lindl. (семейство Taxaceae) в условиях выращивания на Южном берегу Крыма.

#### Объекты и методы исследования

*Torreya grandis* Fortune ex Lindl. в условиях природного ареала - двудомное дерево до 25 м высотой с диаметром ствола 0,5 (до 2) м с желто-серой, серой или серо-коричневой корой. Листья линейно-ланцетовидные, как правило, прямые 1,1 – 2,5 (до 4,5) см длиной и 2 – 3,5 мм шириной. Произрастает в горах, в открытых долинах, часто вдоль берегов рек, на желтых, коричневых и темных почвах на высоте 200 – 1400 м в ряде районов Восточного Китая.

В коллекции НБС *T. grandis* представлена одним женским и 4 мужскими экземплярами. Женское растение – дерево 4 м высотой, диаметр ствола 14 см, мужские деревья – высота 2,5 – 4 м, диаметры стволов – 3,5 – 6 см. Листья (0,6) 0,8 – 1,6 (до 2,2) см длиной и 1 – 3,8 мм шириной.

#### *Климатическая характеристика районов естественного произрастания.*

Природный ареал *T. grandis* находится в зоне муссонного субтропического климата, который характеризуется жарким и влажным летом (средняя температура июля +27°C или выше) и относительно прохладной и сухой зимой (средняя температура января +1 - 3°C). Годовое количество осадков – около 1000 мм, выпадают преимущественно с мая по октябрь.

*Климатическая характеристика района интродукции.* Климат Южного берега Крыма характеризуется среднегодовой температурой +12,4°C, с колебаниями в отдельные годы от +10,8°C до +14,0°C. Средняя температура самых холодных месяцев (январь, февраль) +3,1°C, самых теплых (июль, август) - +23,2-23,0°C. Продолжительность безморозного периода 178 – 309 дней. Средняя годовая сумма осадков – 621 мм, основное количество осадков выпадает в холодный период (сентябрь – март), с максимумом в декабре, январе [4].

#### *Методики исследований*

Фенологические наблюдения и сбор материала для цитозембриологических исследований проводили с интервалом 7 - 10 суток. Материал фиксировали в растворе Карнуа (6:3:1), постоянные препараты готовили по общепринятой в цитозембриологии методике [3] и окрашивали метиловым зеленым и пиронином с подкраской алциановым синим [5].

### Результаты и обсуждение

Женские репродуктивные структуры *T. grandis* представлены одиночными семязчатками, формирующимися в вегетативно-генеративных почках, в пазухах хвоинок базальной и центральной частей зачаточных побегов. Как правило, в пазухе одной хвоинки располагается пара семязчатков (иногда в базальной части побегов формируются одиночные семязчатки, а на верхушках побегов их может быть три). Визуально почки с генеративными структурами отличаются от вегетативных на поздних этапах развития – в условиях ЮБК – в конце февраля – начале марта.

У *T. grandis* во второй декаде марта в пазухах примордиальных хвоинок в базальной части побега отмечали зачатки брактей, между которыми формируется меристематический бугорок, в дальнейшем дающий начало паре семязчатков, располагающихся на общем постаменте.

Бугорки состоят из меристематических клеток, имеют дифференцированный эпидермис – клетки правильной квадратной формы с более толстыми оболочками, чем остальные.

В условиях ЮБК в первой декаде апреля собрания семязчатков уже полностью сформированы. Сформированное собрание семязчатков расположено в пазухе видоизмененного листа (они значительно короче, чем листья на вегетативных побегах). Оно представлено парой семязчатков, расположенных в пазухах брактей. Последние имеют зеленую окраску и тонкие пленчатые края, расположены латерально относительно оси побега. Семязчатки имеют общий постамент, при этом каждый окружен 2 парами супротивных зеленых чешуй (рис. 1).

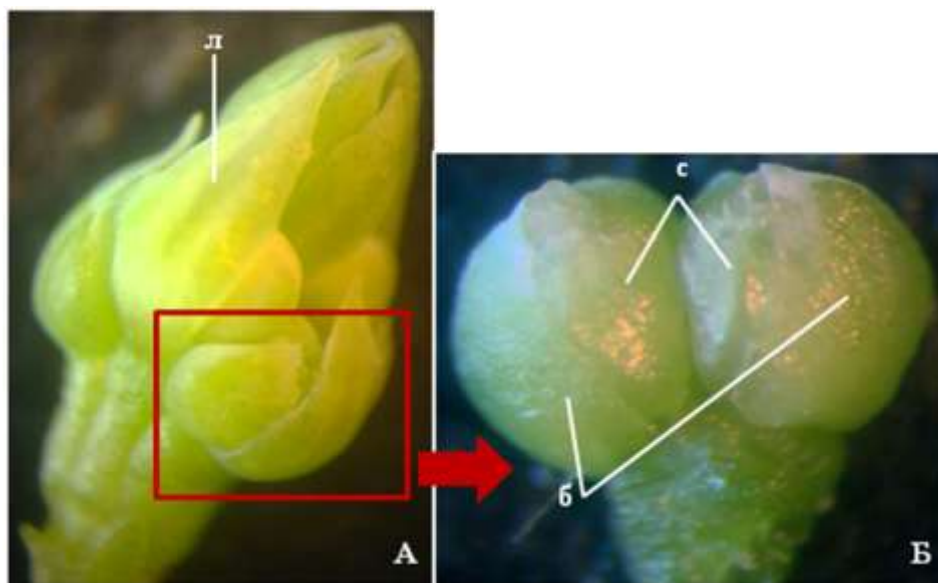


Рис. 1 Собрания мегастробилы *Torreya grandis*

А – собрания мегастробилы на вегетативно-генеративном побеге, Б – пара мегастробилы в пазухах брактей  
б – брактя, л – лист, с - семязчаток

Семязчатки полностью закрыты чешуями, состоят из небольшого нуцеллуса, который в этот момент активно разрастается, и хорошо развитого интегумента. Верхняя часть интегумента формирует микропиллярный канал, на верхушке которого выделяются две небольших лопасти. Во второй декаде апреля побеги, несущие собрания семязчатков, начинают удлиняться, но семязчатки еще полностью закрыты прилегающими чешуями. В эксперименте через 7 суток на ветке, стоявшей в комнате при  $t +20-22^{\circ}\text{C}$ , семязчатки открылись, и на микропиле появилась опылительная капля. В условиях ЮБК у *T. grandis* поллинизация может проходить со второй декады апреля до

второй декады мая, в зависимости от погодных условий. В условиях природного ареала вылет пыльцевых зерен происходит немного раньше – в апреле [9]. К моменту опыления микропиле семязачатков удлиняется и возвышается над чешуями. Верхушка микропиле становится ровной и появляется опылительная капля (рис. 2).

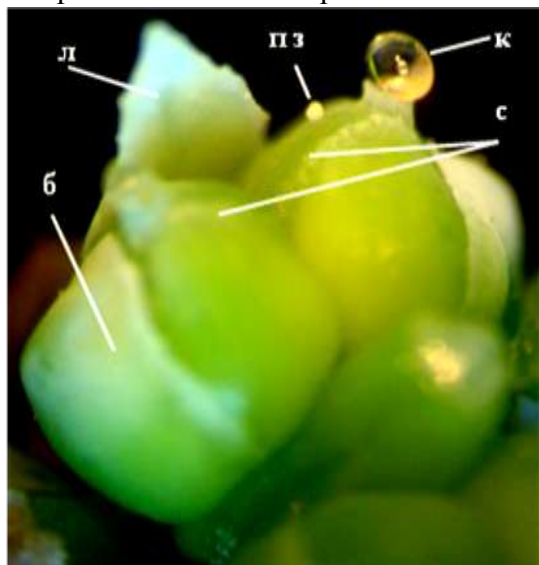


Рис. 2 Семязачаток *Torreya grandis* в период опыления

б – брактя, к – опылительная капля, л – лист, п з – пыльцевое зерно, с - семязачаток

вауолями. Интегумент возвышается над нуцеллусом, в нижней части состоит из 5-7 рядов клеток. Клетки наружного и внутреннего эпидермиса интегумента удлиненные, с более плотной цитоплазмой, чем у остальных, вакуоли среднего размера, ядра небольшие без ядрышек. В клетках центральной части интегумента остатки дегенерировавшей цитоплазмы и ядра расположены вдоль клеточных стенок. Клетки на верхушке микропиле похожи на секреторные – удлиненные с толстыми клеточными стенками, очень плотной цитоплазмой; ядро крупное с маленьким ядрышком и плотным хроматином (рис. 3).

Женская генеративная сфера к моменту опыления у *T. grandis* находится на стадии материнской клетки мегаспор, которая дифференцируется в базальной части нуцеллуса. Материнская клетка мегаспор значительно крупнее окружающих клеток, имеет почти правильную прямоугольную форму, плотную цитоплазму и крупное ядро с несколькими ядрышками, расположенное в центре. Материнская клетка мегаспор содержит крахмальные зерна. Клетки, прилегающие непосредственно к мегаспороциту, видоизменяются – приобретают правильную четырехугольную форму, а ядра увеличиваются в размерах (рис. 4). В литературе имеются данные, что у североамериканского вида *Torreya nucifera* (L.) Siebold and Zucc. дифференциация мегаспороцита проходит асинхронно в семязачатках на одном растении. Ультраструктурные исследования также показали, что цитоплазма зрелого мегаспороцита содержит мелкие и средние вакуоли, митохондрии, рибосомы, гладкий и складчатый эндоплазматический ретикулум, диктиосомы и запасные вещества в виде крахмальных зерен и капель, которые, по меньшей мере, частично состоят из кислотных липидов [8]. Наши наблюдения для *T. grandis* согласуются с этими данными – из 5 образцов собранных в одну дату фиксации, только в 3 отмечали дифференцированную клетку мегаспороцита. В мегаспороцитах *T. grandis* также присутствуют крахмальные зерна и другие запасные вещества в виде капель.

Клетки нуцеллуса содержат много мелких крахмальных зерен и активно делятся. Нуцеллус хорошо развит, в центре апикальной зоны клетки имеют утолщенную округлую форму, между ними формируются межклетники. В клетках 2-3 самых верхних рядов содержимое полностью дегенерирует, остатки ядра и цитоплазмы располагаются возле клеточной стенки – формируется пыльцевая камера. Под этими клетками расположены клетки округлой формы с довольно плотной цитоплазмой и ядрами, содержащими глыбки хроматина и несколько мелких ядрышек. В базальной части нуцеллуса клетки более крупные с тонкими оболочками. Они тоже округляются и между ними формируются межклетники, цитоплазма рыхлая с несколькими

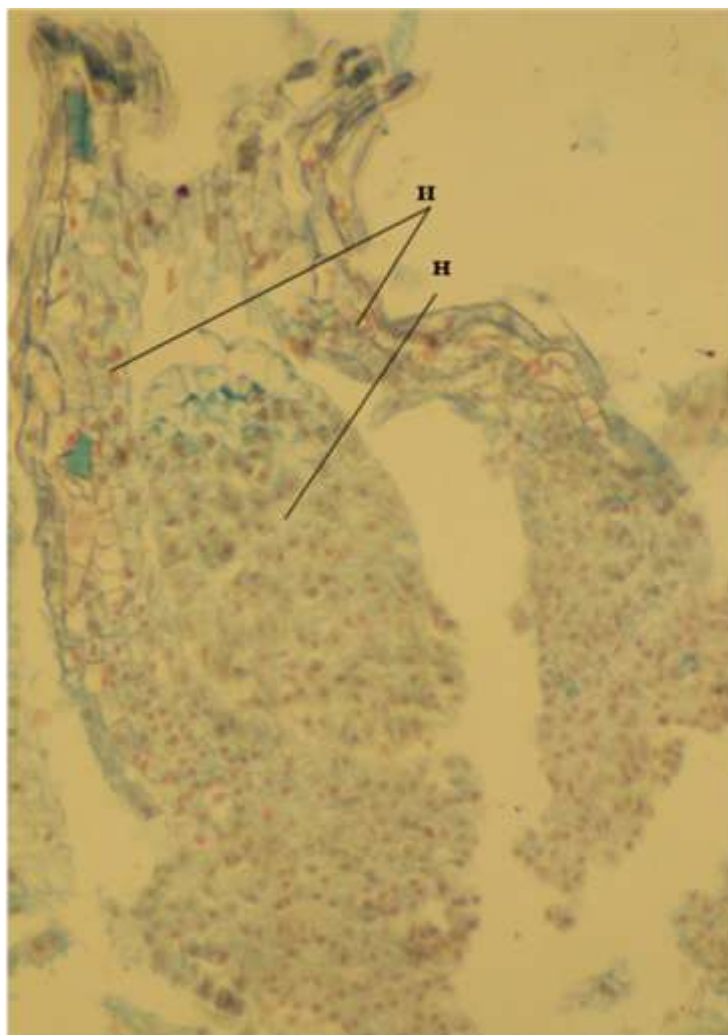


Рис. 3 Продольный срез семязачатка *Torreyia grandis* в период опыления  
и – интегумент, н - нуцеллус

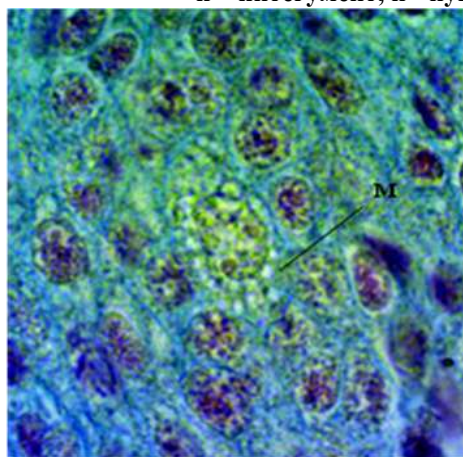


Рис. 4 Материнская клетка мегаспор

После опыления семязачатки приостанавливают свое развитие. Только в следующем вегетационном сезоне (начиная с конца февраля – начала марта) в опыленных семязачатках мегаспороцит мейотически делится и формирует 4 мегаспоры, из которых только одна – халазальная, является функциональной, а оставшиеся три дегенерируют. Мы наблюдали мейоз только в семязачатках, на нуцеллусе которых находились пыльцевые зерна, формирующие пыльцевую трубку. В нормально развивающихся семязачатках функциональная мегаспора путем серии последовательных митотических делений формирует свободноядерный гаметофит. Женский гаметофит проходит альвеолярную стадию, и в конце мая – начале июня в апикальной части дифференцируются несколько архегониальных инициалей.

С этого момента до второй половины сентября мы не

отмечали видимых изменений семязачатков и женского гаметофита. С одной стороны, это может быть обусловлено повышением среднесуточных температур воздуха, а с другой стороны можно предположить, что в семязачатках происходят изменения на биохимическом уровне.

Следует отметить, что во второй половине сентября из нескольких (2-4) дифференцированных архегониальных инициалей только 1 или 2 формируют архегонии. В конце сентября – начале октября проходит оплодотворение. В неопыленных семязачатках женский гаметофит не развивается, семязачатки дегенерируют (рис. 5), но не опадают до

следующей весны. К началу декабря в большинстве собраний мегастробилы различаются своими размерами – один из них становится значительно крупнее другого. Основной причиной дегенерации семязачатков у хвойных является отсутствие опыления. Механизм самонесовместимости у них менее выраженный, чем у покрытосеменных, и срабатывает в результате секреторной деятельности клеток

интегумента и/или нуцеллуса, мегагаметофита или яйцеклетки. Выделяемые секреты могут только снижать способность к оплодотворению при самоопылении или близкородственной пылью при перекрестном опылении, но не блокировать его. Таким образом, механизм самонесовместимости у хвойных может снижать семенную продуктивность при высокой степени самоопыления [10, 11].

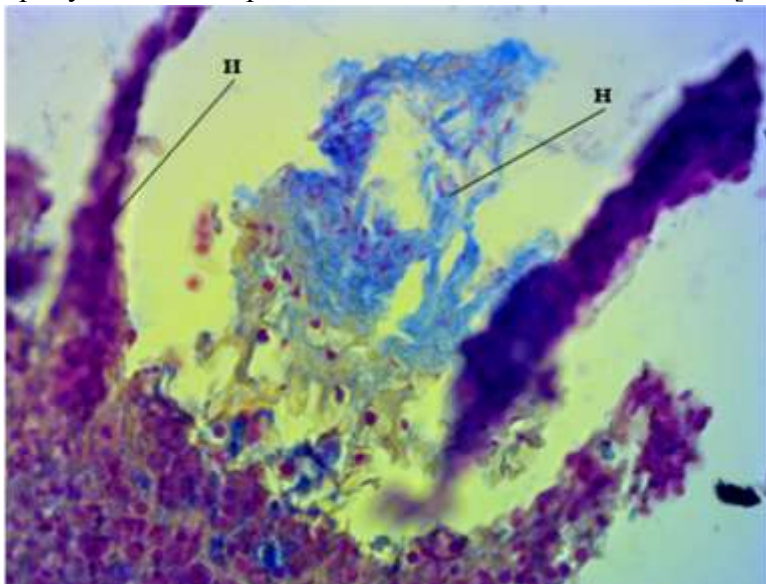


Рис. 5 Дегенерирующий семязачаток *Torreya grandis*  
и – интегумент, н - нуцеллус

нижней его части (до середины) видна высохшая ткань, которая при нормальном развитии формирует мясистый покров семени. По мнению А.В. Боброва [1], этот покров является вторым интегументом, формирующим тесту дифференцированную на экзо-, мезо- и эндотесту. У видов *Torreya* паренхимная мезотеста содержит множество лизигенных вместилищ.

Семена полностью сформированы в конце августа – начале сентября. Сформированные семена крупные (26,7 x 23 мм в оболочке, 21 x 14,7 – без оболочки), покрыты мясистой зеленой тестой и тегменом, представленным одревесневшими клетками (рис. 6). Весь объем семени заполнен руминированным эндоспермом. Зародыш очень мелкий с двумя слабо развитыми семядолями. Для созревания семенам данного вида необходима продолжительная стратификация.

### Выводы

Таким образом, в результате исследований установлено, что у *T. grandis* до момента поллинии женские репродуктивные структуры развиваются без отклонений и семязачатки готовы к приему пыльцевых зерен. В Арборетуме НБС к моменту опыления у *T. grandis* количество нормально развитых семязачатков, готовых к приему пыльцевых зерен, составляет 8-16 шт (чаще всего 12 шт) на генеративном побеге, а в пересчете на одно дерево более 10000 шт. Успешность опыления зависит от погодных условий в этот период. К моменту опыления в базальной части нуцеллуса дифференцируется материнская клетка мегаспор. Дальнейшее развитие женской генеративной сферы проходит только в опыленных

Дальнейшее развитие семязачатков проходит в следующем вегетационном сезоне. В начале апреля нормально развитые семязачатки окружены 2 парами мясистых зеленых чешуй и мясистым зеленым покровом. Между покровом и семязачатком довольно обширное пространство, микропиллярная часть удлиненная и смыкается с покровом. У недоразвитых семязачатков чешуи не такие плотные, они полностью его закрывают. Сам семязачаток коричневый, сухой, в

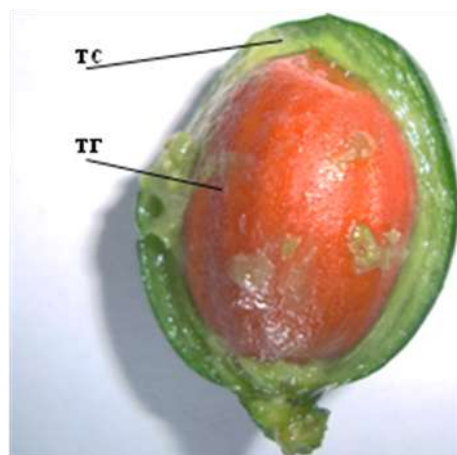


Рис. 6 Сформированные семена *Torreya grandis*  
тг – тегмен, тс - теста

семязачатках. От опыления до оплодотворения проходит 16-17 месяцев, а от оплодотворения до созревания семян -11.

Семена созревают в октябре-ноябре, однако содержат недоразвитый зародыш, для окончательного формирования которого требуется время и стратификация.

### Список литературы

1. Бобров А.В. Филогения хвойных (анализ современных представлений) – М., 2002. – 193 с.
2. Каталог дендрологических коллекций Арборетума Государственного Никитского ботанического сада / Сост: Галушко Р.В., Захаренко Г.С., Кузнецова В.М., Максимов А.П., Михайленко Д.М., Подгорный Ю.К., Сильвестрова М.В., Шкарлет О.Д. – Ялта: Печатный цех ГНБС, 1993. – 101 с.
3. Паушева, З.П. Практикум по цитологии растений. – М.: Колос, 1980. – 304 с.
4. Фурса Д.И., Корсакова С.П., Амирджанов А.Г., Фурса В.П. Радиационный и гидротермический режим Южного берега Крыма по данным Агрометеостанции «Никитский сад» за 1930-2004 гг. и его учет в практике виноградарства. – Ялта, 2006. – 54 с.
5. Шевченко С.В., Чеботарь А.А. Особенности эмбриологии маслины европейской (*Olea europaea*) // Труды Никит. ботан. сада – 1992. – Т.113. – С. 52-64
6. Belarbi M., Bendimerad S., Sour S., Soualem Z., Baghdad C., Hmimed S., Chemat F., Visioli F. Oleaster oil positively modulates plasma lipids in humans // Journal of Agricultural Food Chemistry. – 2011. – Vol. 59. P. 8667–8669.
7. Dong D., Wang H., Xu F., Xu C., Shao X., Li H. Supercritical Carbon Dioxide Extraction, Fatty Acid Composition, Oxidative Stability, and Antioxidant Effect of *Torreya grandis* Seed Oil // Journal of American Oil Chemistry Society. – 2014. – Vol. 91. – P. 817–825.
8. Fiordi A.C., Lippi M.M., Marini S., Tani G. Ultrastructural features of megasporogenesis in *Torreya nucifera* (Taxaceae) // Plant Systematic and Evolution. – 1996. – Vol. 202. – P. 13-25.
9. Flora of China. 2014. World-wide electronic publication, eFloras.org. - [http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora\\_id=2&taxon\\_id=200005500](http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=2&taxon_id=200005500) – Searched on 12 October 2015.
10. Owens J.N. Constraints to seed production: temperate and tropical forest trees // Tree Physiology. - 1995. – Vol. 15. – P. 477–484.
11. Takaso T., Owens J.N. Effects of ovular secretions on pollen in *Pseudotsuga menziesii* (Pinaceae) // American Journal of Botany. - 1994. – Vol. 81. – P. 504 -513.

Статья поступила в редакцию 21.10.2015 г.

**Ruguzova A.I. Female reproductive structures formation in *Torreya grandis* Fortune ex Lindl. under the conditions of the Southern coast of Crimea** // Bull. of the State Nikit. Botan. Gard. – 2015. – № 117. – P. 53 – 59.

Data about calendar terms of *Torreya grandis* female reproductive structures formation in the conditions of the introduction have been presented in the article. It is demonstrated that in this species normally developed ovules are formed to the time of pollination. They carry megasporocyte. Further development of female generative sphere was noticed only in successfully pollinated ovules. It takes 16 – 17 months between pollination and fertilization and 11 months from fertilization to mature seeds. Mature seeds carry undeveloped embryo and they need the period of stratification.

**Key words:** *Torreya grandis*; female reproductive structures; ovules; female gametophyte; seeds.