

# ОСОБЕННОСТИ МИКРОСПОРОГЕНЕЗА У ЛИСТВЕННИЦЫ СИБИРСКОЙ, РАСТУЩЕЙ В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕННОЙ НАГРУЗКИ<sup>1</sup>

© 2005 г. Л. И. Романова, И. Н. Третьякова\*

Сибирский государственный технологический университет

660049 Красноярск, пр-т Мира, д. 82

<sup>^</sup>Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН

660036 Красноярск, Академгородок

Поступила в редакцию 12.04.04 г.

Окончательный вариант получен 13.08.04 г.

Исследование процессов микроспорогенеза у лиственницы сибирской, произрастающей в г. Красноярске и его окрестностях, показало, что мейоз у нее начинается в октябре. Микроспороциты зимуют на стадии профазы I (лептомема, дипломема). Редукционные деления в мужских генеративных почках возобновляются и завершаются весной, в марте. Однако при оттепелях в осенне-зимний период в почках лиственницы идут процессы мейотического деления - это приводит к образованию деградирующих тетрад и пыльцы. Следовательно, органический покой у лиственницы в течение зимы отсутствует. Выявлено, что мейоз у лиственницы, произрастающей в городских условиях, протекает более асинхронно, чем в фоновых древостоях. В процессе редукционного деления в условиях техногенного загрязнения отмечено увеличение хромосомных нарушений.

**Ключевые слова:** мейоз, микроспороциты, тетрады, асинхронность, аномалии, техногенное загрязнение.

Мейоз, по мнению большинства исследователей, является наиболее чувствительной стадией в жизненном цикле семенных растений. Ход редукционного деления у хвойных является объективным критерием, отражающим состояние древесного организма и способность его к половой репродукции, ответственной за размножение видов.

Мейоз изучен достаточно детально у многих представителей семейства Pinaceae, в том числе видов *Larix* (Sax, 1932; Christiansen, 1960, 1972; Chandler, Mavrodineanu, 1965; Ekberg, Eriksson, 1967; Ekberg et al., 1968; Eriksson, 1968; Eriksson et al., 1970; Круклис, 1971; Тренин, 1975; Круклис, Милютин 1977). Первое исследование мейоза в микроспороцитах у разных видов лиственницы провел Беляев (1892).

Многочисленные сообщения указывают на то, что сроки прохождения мейоза у лиственницы зависят от погодно-климатических условий и особенностей местообитания древостоя, а также от индивидуальных характеристик отдельных особей лиственницы (Nemee, 1910; Saxton, 1929; Christiansen, 1960; Козубов, Тренин, 1973; Круклис, 1973). Мейоз у лиственницы, как правило, начинается осенью и заканчивается ранней весной

(Круклис, Милютин, 1977). Эрикссон (Eriksson, 1968), исследовавший процесс редукционного деления у трех видов лиственниц (*Larix decidua*, *L. sibirica*, *L. leptolepis*) в условиях Швеции, установил, что материнские клетки пыльцы достигают стадии диплотены осенью. В течение зимы материнские клетки пыльцы находятся на стадии диплотены, которая завершается весной при температуре около 0°C (-5, +5°C). По данным Медведевой (1973), у лиственницы даурской (*L. dahurica*) на севере Якутии мейоз начинается в сентябре и октяб্রে и заканчивается после семимесячного перерыва в конце апреля-первой половине мая. В Забайкалье мейоз в материнских клетках пыльцы лиственницы также начинается осенью, а зимой эти клетки находятся на начальных стадиях профазы I (Круклис, 1971). У лиственницы европейской (*L. eugorea*) мейоз может начаться осенью и закончиться зимой (Nemee, 1910), а в отдельных случаях деления в материнских клетках пыльцы лиственницы начинаются в сентябре и заканчиваются после месячного перерыва (Saxton, 1929). Известны случаи завершения процессов редукционного деления у лиственницы сибирской и даурской в Карелии и Белоруссии осенью и зимовки микроспор на стадии тетрад в результате теплого и продолжительного осеннего периода (Тренин, 1982; Шкутко, 1973).

<sup>1</sup>Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проект № 02-04-48168).

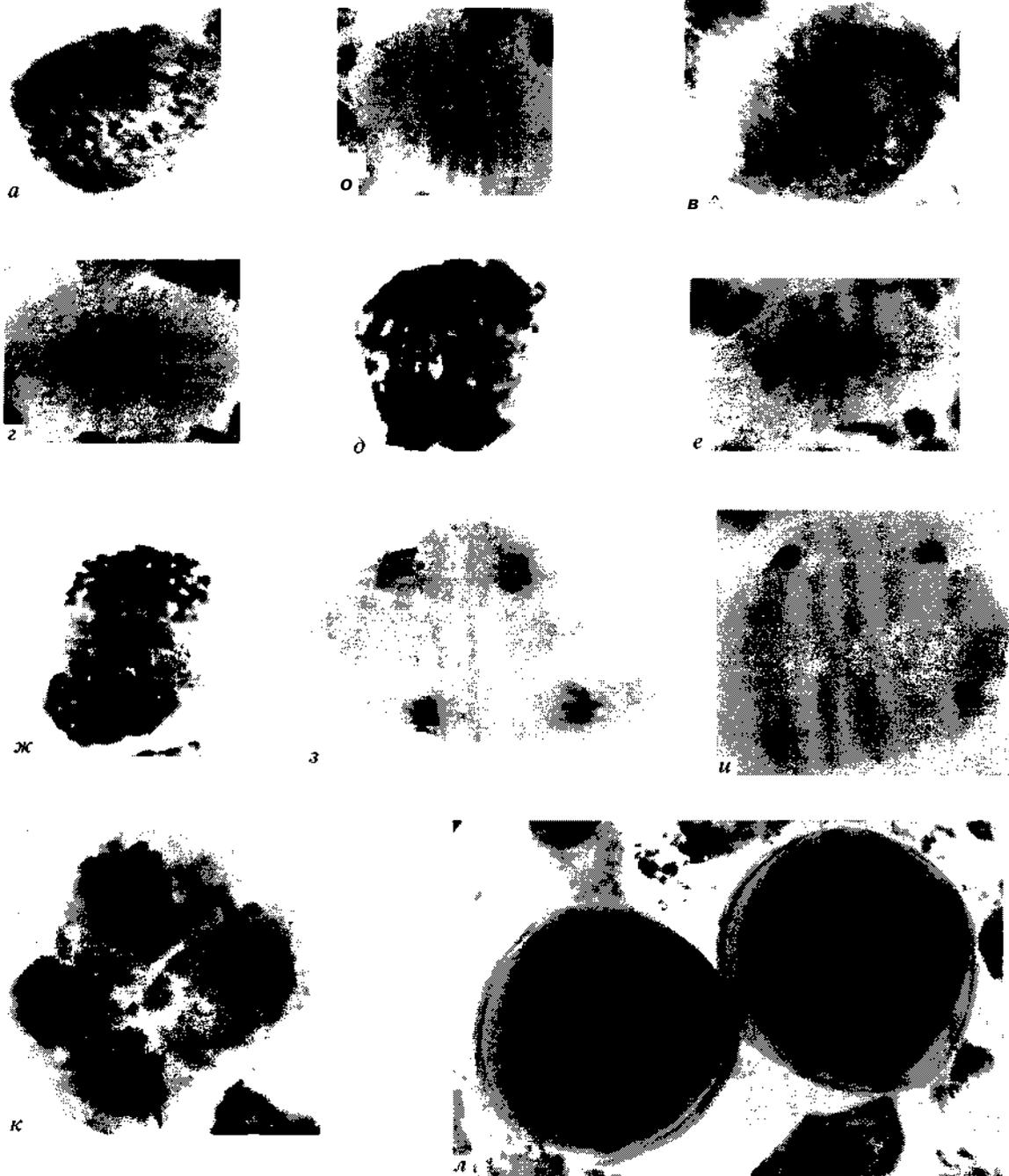


Рис. 1. Мейоз у лиственницы сибирской в г. Красноярске и его окрестностях; микростробилы на стадиях мейотического деления: *a* - ранняя профазы I (лептонема-дишгонема); *б*- профазы I (диакинез); *в*, *г* — метафазы I; *д*, *е* — анафазы I; *ж* - телофазы I; *з*, *и* - анафазы II; *к* - тетрада микроспор; *л* - зрелое пыльцевое зерно. Увел. х500.

Исследование процессов прохождения мейоза лиственницы проводилось, как правило, в естественных условиях ее произрастания. Описание в литературе хода редукционного деления у лиственницы, произрастающей в условиях техногенного загрязнения, практически не встречается. Известны лишь исследования средневозрастных естественных насаждений лиственницы Сукачева

в условиях промышленного загрязнения (Ясовица, Калашник, 2000). Между тем лиственница широко используется в озеленении больших городов, где подвергается сильному воздействию воздушных загрязнителей.

Наша цель - изучить влияние промышленного загрязнения на развитие мужских генеративных

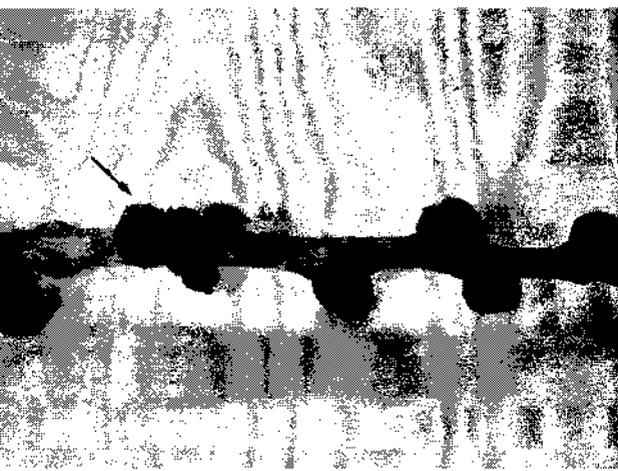


Рис. 2. Ветка лиственницы сибирской в осенне-зимний период с желтыми пыльниками (стрелка).

органов и особенно на микроспорогенез лиственницы сибирской в озеленительных посадках г. Красноярска и его окрестностей.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Объектом исследования являлись деревья лиственницы, произрастающие в сильно загрязненном районе г. Красноярска (набережная р. Енисей). В качестве контроля исследовали деревья, растущие в районе Погорельского опытно-экспериментального пункта (ОЭП) (38 км на север от г. Красноярска). Генеративные почки мужской сексуализации собирали в период с октября 2002 г. по май 2004 г. Образцы фиксировали в модифицированном растворе Карнуа (3 : 1), затем переносили в цетогематоксилин, где выдерживали 5 сут с предарительным протравливанием в железоаммонийных квасцах. На давленных препаратах исследовали ход редукционного деления. Для каждого объекта

подсчитывали число делящихся микроспороцитов на разных стадиях мейоза, отмечали типы отклонений и их частоту. Просмотр и фотографирование образцов осуществляли на микроскопе МБИ-6.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведенные исследования показали, что заложение женских и мужских генеративных почек у лиственницы сибирской, произрастающей в г. Красноярске и его окрестностях, происходит после остановки роста побегов во второй декаде июля. Мужские генеративные почки развиваются более быстрыми темпами, чем женские. До зимнего покоя в мужских генеративных почках формируются микроспорофиллы с микроспорангиями, в которых развиваются клетки археспория, в то время как в женских почках формируются только кроющие и семенные чешуи. В начале октября клетки археспория обособляются и превращаются в микроспороциты (материнские клетки пыльцы), и уже в конце октября микроспороциты вступают в профазу I мейоза. На стадии диплотены микроспороциты зимуют, и весной в марте следующего года они завершают процесс мейоза, затем идут митотические деления и формируются зрелые пыльцевые зерна (конец апреля-начало мая). Основные стадии прохождения мейоза у лиственницы показаны на рис. 1.

В период продолжительной и теплой осени, при частых оттепелях от 0 до +4°C зимой (наблюдения 2002-2004 гг.) микростробилы лиственницы сибирской увеличивались в размерах и приобретали желтый цвет (рис. 2). Цитологический анализ микростробилов показал, что в них идут редукционные деления и образуются деградирующие диады и тетрады микроспор (рис. 3), а также редуцированные пыльцевые зерна. Массовое образование деградирующих диад и тетрад в зимний период при оттепелях приводит к тому, что лиственница в г. Красноярска



Рис. 3. Деградирующие диады микроспор лиственницы сибирской в осенне-зимний период; наблюдается образование межклеточных перегородок - цитокинез. Увел. x500.

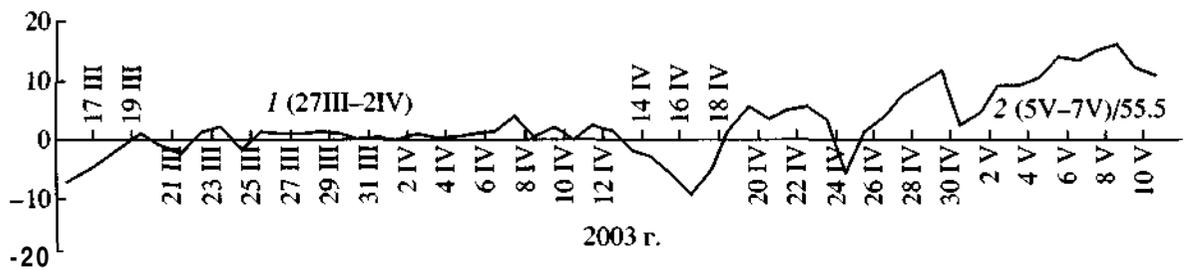


Рис. 4. Развитие мужских генеративных структур у лиственницы сибирской в зависимости от температуры воздуха (по вертикали, °С): / - мейоз; 2 - пыление/сумма эффективных температур.

ске и его окрестностях пылит очень слабо или вообще не продуцирует пыльцу.

Кроме того, при внесении веток лиственницы в тепло и погружении их в воду в течение двух недель происходило появление брахибласта длиной 0.5-0.7 см и высыпание пыльцы из микростробилов. При хранении веток лиственницы с мужскими генеративными почками в условиях холодильной камеры при температуре 0...+4°C в течение двух недель также проходили процессы редукционного деления и наблюдалось формирование пыльцевых зерен. Таким образом, в тепле происходил рост хвои, возобновлялись мейотические деления и формировались пыльцевые зерна.

Следовательно, у вегетативных и генеративных органов лиственницы сибирской отсутствует органический покой в осенне-зимний период, и при низких плюсовых температурах они способны продолжать свое развитие.

В результате исследований было выявлено, что возобновление мейотических делений *in vivo* у лиственницы происходит обычно весной в конце марта в период низких положительных температур. Мейоз у лиственницы в г. Красноярске и

его окрестностях протекает так же, как у других представителей рода *Larix* с образованием 12 бivalentов хромосом, которые в основном правильно расходятся к противоположным полюсам. В 2003 г. продолжительность непосредственно первого и второго делений мейоза (от диакинеза профазы I до стадии тетрады) составила 7 сут. Мейотиты перешли на последнюю стадию профазы I диакинез 27-28 марта. Среднесуточная температура воздуха во время прохождения мейоза колебалась от 0 до +1.5°C (рис. 4). Редукционные деления у лиственницы сибирской в г. Красноярске и его окрестностях в основном закончились 2 апреля 2003 г. образованием тетрад. Через неделю НЕ начался их распад: молодые микроспоры освобо\*дились от каллозных оболочек. Данные о динамике мейоза для исследуемых районов приведены в таблице.

В результате исследования было отмечено, что редукционные деления у лиственницы *сабурской* в городских условиях идут быстрее по сравнению с фоновым древостоем. Так, по состоянию на 30 марта 2003 г. в фазе диакинеза в городских условиях находилось 6.6% микроспороцитов, в т

Динамика мейоза лиственницы сибирской в г. Красноярске и его окрестностях в 2003 г.

Место сбора микростробилов	Дата сбора	Клетки на стадии мейоза, %										Число исследованных клеток
		диакинез	метафаза I	анафаза I	телофаза I	интерфаза	метафаза II	анафаза II	телофаза II	тетрады	микроспоры	
г. Красноярск	27.03	57.7	31.3	8	3							447
Там же	28.03	23.2	19.3	19	21.3	5.4	5.4	3.7	2.7			517
»	30.03	6.6	10.7	12.1	14.1	16.8	15	12	9.2	3.5		653
»	1.04	15.5	23	31	4.3		7.7	4.5	7.4	6.4		515
»	2.04								8.6	91.4		763
»	6.04										100	620
Погорельский опытно-экспериментальный пункт	30.03	67.9	12.5	11.6	8							560
Там же	2.04							4	31.4	64.6		573

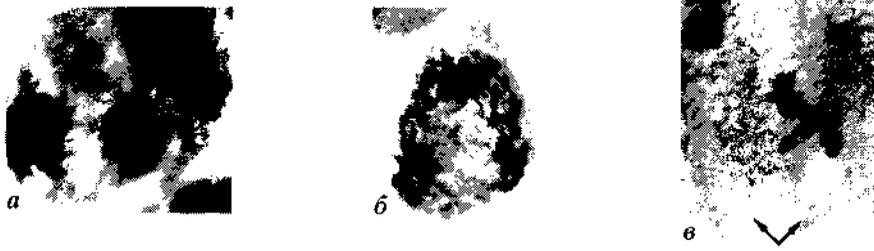


Рис. 5. Нарушения мейоза у лиственницы сибирской, произрастающей в условиях техногенного загрязнения: *а* - расщепление веретена при первом делении с образованием триады; *б* - разорванный хромосомный мост; *в* - выброс хромосомом за пределы веретена деления (стрелки). Увел.  $\times 500$ .

ремя как в районе Погорельского ОЭП - 67.9% габлица). Результаты показали, что в условиях промышленного загрязнения воздуха мейоз проходит более асинхронно, чем в фоновых насаждениях. Так, у лиственницы, произрастающей в черте города, в одной и той же почке 1 апреля наблюдали тетрады микроспор и микроспороциты, аходящиеся еще на стадии диакинеза.

В результате проведенных исследований было становлено, что наиболее широкий спектр хромосомных нарушений выявлен в клетках лиственницы сибирской, произрастающей в условиях промышленного загрязнения (рис. 5). Анализ номальных мейоцитов показал, что наибольшее отличие нарушениям наблюдается на стадии нафазы-телофазы II - расщепление веретена деления с образованием триад. Эта аномалия встречается только в условиях загрязнения. Хромосомные фрагменты в метафазах первого деления леток лиственницы с загрязненного района встречаются в два раза чаще, чем в мейоцитах с юновых насаждений. Выброс хромосомом за пределы веретена деления в клетках изучаемого бъекта в условиях загрязнения также встречается чаще по сравнению с контролем.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Совершающиеся в почках процессы морфогеза, особенно в период органического покоя, видетельствуют об относительности этого понятия. Согласно Сабину (1963) и Мининой (1971), ги процессы следует рассматривать как период крытого эмбрионального роста. Новообразования элементов структуры и изменения в новообразовании элементов структуры в почках осущегвляются в зависимости от особенностей тканей амого растения и влияния внешних факторов.

Среди хвойных наиболее быстро эмбриональные процессы идут в мужских генеративных почках лиственницы, у нее уже в октябре в микроспонагиях образуются материнские клетки пыльцы - ейоциты, которые вступают в профазу I мейоза. течение всего осенне-зимнего периода они наодятся в стадии лептономы—пахинемы и лишь

весной следующего года редукционные деления активизируются: завершается мейоз и идет формирование мужского гаметофита - пыльцевого зерна. Однако проведенные исследования показали, что покой почек у лиственницы в зимний период является только кажущимся. В условиях города генеративные и вегетативные почки лиственницы в зимний покой не впадают, и при повышении температуры воздуха до  $0 \dots +1^\circ\text{C}$  происходит возобновление мейотических делений и формируется структура пыльцевых зерен. При понижении температуры эмбриональное развитие прекращается. В делящихся микроспороцитах возникают деградиационные процессы, особенно на стадии анафазы и тетрад. Следствием деградированных микроспороцитов при оттепелях является появление стерильных пыльцевых зерен. Таким образом, вследствие теплой осени и оттепелей зимой лиственница в г. Красноярске и его окрестностях пылит очень слабо или вообще не продуцирует пыльцу. Также в условиях повышения температуры зимой усиливается активность брахибластов, в результате чего они формируют хвою. Проведенные исследования свидетельствуют о том, что органический покой у лиственницы сибирской в осенне-зимний период полностью отсутствует. При создании благоприятных условий ее вегетативные и генеративные органы обладают способностью к активному функционированию.

По мнению многих исследователей (Christiansen, 1960; Chandler, Mavrodineanu, 1965; Ekberg, Eriksson, 1967; Ekberg et al., 1968; Козубов, 1974; Тренин, 1975; Круклис, Милютин, 1977), период мейоза является наиболее уязвимым и восприимчивым к воздействию факторов внешней среды. Негативное влияние на ход редукционного деления оказывают как отрицательные, так и положительные температуры воздуха, значительно превышающие оптимум (Andersson et al., 1969; Круклис, Милютин, 1977). В литературе встречаются сообщения об асинхронности прохождения мейоза у лиственницы сибирской в естественных условиях как в пределах кроны дерева, так и в пределах микростробила (Козубов, 1973; Тренин, 1975;

Круклис, Милютин, 1977). Есть мнение, что время прохождения и асинхронность мейоза зависят от генотипа растения (Муратова, 1995). Также указывается, что загрязнение атмосферы влияет на прохождение мейоза у лиственницы, например, в условиях промышленного загрязнения со стороны металлургического завода г. Златоуста (Челябинск, обл.) число клеток с нарушениями в загрязненном районе в 1.3-18 раз выше, чем на контрольных пробных площадях (Ясовиева, Калашник, 2000).

Установлено, что основные фазы мейотического деления у лиственницы сибирской в г. Красноярске и его окрестностях идут весной, в марте. Мейоз в основном протекает нормально с образованием 12 бивалентов и правильным расхождением хромосом к противоположным полюсам. В черте города мейоз проходит более асинхронно, чем на контрольном участке. В загрязненном районе на отдельных стадиях редукционного деления были выявлены хромосомные нарушения, значительную долю которых составляют триады. Кроме того, анализ аномальных мейоцитов показал, что такие нарушения, как асинхронность в пределах одного мейоцита и образование трех полюсов деления, на контрольном участке не обнаружены.

В результате проведенных исследований выявлено увеличение хромосомных нарушений в ходе микроспорогенеза у лиственницы сибирской, произрастающей в условиях техногенного загрязнения г. Красноярск. Данные нарушения могут быть причиной снижения общего показателя фертильности пыльцы, что отражается на качестве семян и влияет на урожай лиственницы в целом.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Беляев В. И. Сообщение о пыльцевой трубке голосеменных // Тр. СПб. о-ва естествоиспытателей. 1892. 22 с.

Козубов Г.М. Биология плодоношения хвойных на Севере. Л.: Наука, 1974. 136 с.

Козубов Г.М., Тренин В.В. Аномалии в микроспорогенезе у лиственницы Сукачева на Крайнем Севере // Половая репродукция хвойных. Новосибирск: Наука, 1973. Т. 1. С. 107-109.

Круклис М.В. Мейоз у лиственницы Чекановского (*Larix czekanowskii* Sz.) // Матер. V Всесоюз. совещания по эмбриологии растений. Кишинев, 1971. С. 91-93.

Круклис М.В. Развитие репродуктивных структур *Larix* Mill. Половая репродукция хвойных. Новосибирск: Наука, 1973. С. 70-81.

Круклис М.В., Милютин Л.И. Лиственница Чекановского. М.: Наука, 1977. 212 с.

Медведева Н.С. Морфогенез генеративных органов лиственницы даурской в Северной Якутии // Половая

репродукция хвойных. Новосибирск: Наука, 1973. Т. 1. С. 122-123.

Минина Е.Г. О морфогенезе кедра сибирского // Лесоведение. 1971. № 4. С. 27-36.

Муратова Е.Н. Особенности мейоза сосны обыкновенной около северной границы ее ареала // Онтогенез. 1995. Т. 26. № 2. С. 158-169.

Сабинин Д.А. Физиология развития растений. М.: Наука, 1963. 195 с.

Тренин В.В. Микроспорогенез и развитие пыльцы лиственницы сибирской, интродуцированной в Мурманской области и Карельской АССР (световая и электронная микроскопия): Автореф. ... канд. биол. наук // Ин-т леса Карел, филиала АН СССР, 1975. 27 с.

Тренин В.В. Микроспорогенез. Мужской гаметофит Репродуктивные структуры голосеменных (сравнительное описание). Л.: Наука, 1982. С. 44-71.

Шкутко Н.В. Развитие генеративных почек у хвойных растений, интродуцированных в БССР // Половая репродукция хвойных. Новосибирск: Наука, 1973. Т. 1. С. 132-134.

Ясовиева С.М., Калашник Н.А. Микроспорогенез лиственницы Сукачева в условиях промышленного загрязнения. Леса Евразии в третьем тысячелетии // Митер. Междунар. конференции молодых ученых. М.: МГУЛ, 2000. Т. 1. С. 117-118.

Andersson C.J., Ekberg G., Eriksson G. A summary of meiotic investigation in conifers // Stud. for snee Skogshogs! Stockholm, 1969. 70 p.

Chandler C I., Mavrodineanu S. Meiosis in *Larix laricina* Koch. // Contrrib. Boyce Thompson Inst. 1965. V. 23. № 1. P. 67-75.

Christiansen H. On the effect of temperature on meiosis and pollen fertility in *Larix decidua* Mill. // Silvae Genetic 1960. V. 9. P. 72-73.

Christiansen H. On the development of pollen and the fertilization mechanism of *Picea abies* (L.) Karst. // Ibid. 1971. V. 21. P. 51-61.

Ekberg I., Eriksson G. Development and fertility of pollen in the species of *Larix*://Hereditas. 1967. V. 57. № 3. P. 303-311.

Ekberg I., Eriksson G., Sulikova Z. Meiosis and pollen formation in *Larix* // Ibid. 1968. V. 59. № 2/3. P. 427-438.

Eriksson G. Temperature response of pollen mother cells *Larix*, and its importance for pollen formation // Studia Forest. Suecica. 1968. V. 63. P. 171.

Eriksson G., Ekberg I., Jonsson A. Meiosis investigation pollen mother cell of Norwayspruce cultivated in a plastic greenhouse // Hereditas. 1970. V. 66. № 1. P. 1-20.

Nemeš B. Über den Einfluss des Chloroformierens auf die Pollenbildung. Das Problem der Befruchtungsvorgänge und andere zytologische Fragen. Berlin: Verl. Gebr. Borntraege 1910. S. 192-223.

Sax H.J. Chromosome pairing in *Larix* species // Arnold Arboretum. 1932. V. 13. P. 368-374.

Saxton W.T. Notes on conifers. II. Some points in the morphology of *Larix europaea* // Ann. Bot. 1929. V. 43. P. 609.

# Specific Features of Microsporogenesis in the Siberian Larch Growing under the Conditions of Technogenic Load

L. I. Romanova\* and I. N. Tret'yakova\*\*

\**Siberian State Technological University, pr. Mira 82, Krasnoyarsk, 660049 Russia*

\*\**Sukachev Institute of Forest, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Akademgorodok, Krasnoyarsk, 660036 Russia*

**Abstract**—Studies of microsporogenesis in the Siberian larch growing in Krasnoyarsk and its suburbs have shown that meiosis starts in October. Microsporocytes winter at prophase I (leptoneme, diplomeme). Reduction divisions in male generative buds are resumed and terminated in spring, in March. However, in the case of thaws during the autumn-winter period, meiotic division proceeds in the larch buds and this leads to the formation of degrading tetrads and pollen. Hence, the organic quiescence is absent in the larch in winter. It was shown that in the larch growing in the city, meiosis proceed more asynchronously than in the background tree stands. An increase of chromosomal aberrations during the reduction division was noted under the conditions of technogenic pollution.

*Key words:* meiosis, microsporocytes, tetrads, asynchrony, aberrations, technogenic pollution.