

**МОРФОЛОГИЯ И КАЧЕСТВО ПЫЛЬЦЫ У ВИДОВ РОДА *PICEA* (*PINACEAE*)
ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ДЕНДРАРИЯ ИНСТИТУТА ЛЕСА ИМ. В.Н. СУКАЧЕВА СО РАН**

О.В. Горячкина, М.И. Седаева

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН,
660036, Красноярск, Академгородок, 50/28, e-mail: kvitko@ksc.krasn.ru, msedaeva@ksc.krasn.ru

Установлены особенности формирования и морфологические параметры пыльцы четырех видов *Picea* A. Dietr. из коллекции дендрария Института леса им. В.Н. Сукачева СО РАН. Выявлено высокое качество пыльцы у декоративной формы местного вида *P. obovata* и интродуцированных видов *P. ajanensis* и *P. mariana*. Пыльца *P. pungens* имеет более низкую жизнеспособность (71.6 %) и повышенное число аномалий (14.1 %).

Ключевые слова: *Picea*, микрогаметогенез, пыльца, жизнеспособность, интродукция.

**POLLEN MORPHOLOGY AND QUALITY IN *PICEA* (*PINACEAE*)
SPECIES FROM COLLECTION OF V.N. SUKACHEV INSTITUTE OF FOREST SB RAS**

O.V. Goryachkina, M.I. Sedaeva

V.N. Sukachev Institute of Forest, SB RAS,
660036, Krasnoyarsk, Academgorodok, 50/28, e-mail: kvitko@ksc.krasn.ru, msedaeva@ksc.krasn.ru

Peculiarities of pollen formation and morphological parameters of pollen grains in 4 *Picea* A. Dietr. species from collection of Institute of Forest SB RAS Arboretum (Krasnoyarsk) were determined. High pollen quality of ornamental form of local species *P. obovata* and introduced species *P. ajanensis* and *P. mariana* has been shown. Decreased viability (71.6 %) and high frequency of abnormal grains (14.1 %) were character for *P. pungens* pollen.

Key words: *Picea*, microgametogenesis, pollen, viability, introduction.

ВВЕДЕНИЕ

Представители рода *Picea* A. Dietr. широко используются в садово-парковом строительстве и ландшафтном озеленении благодаря своей высокой декоративности и неприхотливости к почвенным условиям. Процессы половой репродукции елей изучены довольно подробно, однако данные об особенностях развития мужских генеративных структур у разных видов при искусственном разведении и интродукции немногочисленны (Размологов, 1964; Смирнов, 1977; Кищенко, Тихова, 1994). При выращивании древесных растений в ботанических садах и дендрариях новые природно-климатические условия могут спровоцировать у них экологический стресс, аномалии роста и развития, а также привести к повышению внутривидовой дифференциации и снижению продуктивности (Некрасов, 1991; Мамаев, Андреев, 1996). Осо-

бенная чувствительность к новым условиям характерна для ювенильной стадии онтогенеза и начала репродуктивной фазы, когда процессы споро- и гаметогенеза входят в соответствие с новым температурным и световым режимом (Шкутко, 1973). Изучение генеративной сферы растений в условиях интродукции особенно актуально для выявления их репродуктивной способности. Определение качества пыльцы растений, вступивших в фазу семеношения, позволяет судить об их репродуктивной способности и степени адаптации к условиям интродукции.

Настоящая работа посвящена сравнительному изучению морфологии и качества пыльцы, а также особенностей формирования мужского гаметофита у видов рода *Picea* при интродукции в условиях Центральной Сибири.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Объектами исследования служили интродуцированные виды *Picea*: два североамериканских (*Picea mariana* B.S.P. и *P. pungens* Engelm.) и один дальневосточный (*P. ajanensis* Fisch. ex Carr.), а также декоративная форма местного вида *P. obovata* Ledeb. f. *semin-*

skiensis Lucznik. Деревья произрастают в дендрарии Института леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, который расположен в 38 км к северу от Красноярска в пределах Красноярской лесостепи (Черепнин, 1957). В настоящее время возраст деревьев составляет 45 лет.

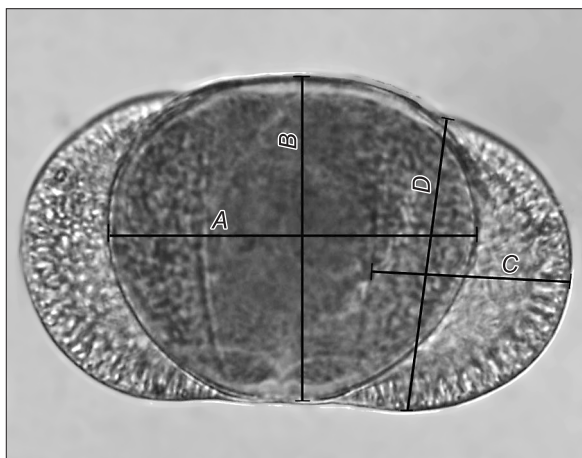


Рис. 1. Морфометрические параметры пыльцевых зерен *Picea*:

A – длина, *B* – высота тела; *C* – длина, *D* – высота воздушного мешка.

В районе исследований преобладают дерновые сильно- и среднеподзолистые легкосуглинистые почвы, тип леса – сосняк вейниково-разнотравно-зеленомошный и бруснично-разнотравно-зеленомошный с примесью березы (*Betula pendula* Roth) и подлеском из шиповника (*Rosa acicularis* Lindl.). Климат резко континентальный. По многолетним данным средняя годовая температура воздуха составляет 1,6 °С, средняя многолетняя норма зимних осадков – 80 мм, сумма осадков теплого периода – 350 мм, безморозный период длится 85 дней, а вегетационный – 140 дней (Бугаева, Назимова, 2009).

В качестве материала исследовались мужские генеративные почки, собранные в период их весеннего развития в конце апреля–начале мая. Микростробилы фиксировали уксусным алкоголем (три части 96-градусного этилового спирта и одна часть ледяной уксусной кислоты) и окрашивали ацетогематоксилином для изучения стадий развития мужского гаметофита. Цитологический анализ проводился на времен-

ных давленных препаратах с помощью микроскопов МБИ-6, Микмед-6 и цифровой камеры-окуляра DCM 130.

Пыльцу собирали в период массового пыления: у *Picea ajanensis* и *P. obovata* – во второй декаде мая, у *P. pungens* – в третьей декаде мая и у *P. mariana* – в первой декаде июня 2008 г. Для исследования морфологии сухую пыльцу окрашивали ацетокармином. В каждом образце просматривали 500–1000 пыльцевых зерен, подсчитывали количество нормальной и аномальной пыльцы, определяли частоту встречаемости и спектр аномалий. Морфометрические параметры определяли у 30 нормально развитых и лежащих в одной плоскости пыльцевых зерен в каждом образце. В полярном положении у пыльцевого зерна измеряли следующие параметры: длину (*A*) и высоту (*B*) тела, ширину (*C*) и высоту (*D*) воздушных мешков (рис. 1). Помимо определения абсолютных величин, производилось вычисление отношений между этими параметрами (Монозон-Смолина, 1949). Рассчитывался индекс B/A , характеризующий форму тела пыльцевого зерна, которая у изучаемых видов варьирует от округлой до эллиптической. Сравнение полученных данных проводили при помощи *t*-критерия Стьюдента по стандартной методике.

Жизнеспособность пыльцы определяли стандартным методом проращивания на 15%-м растворе сахарозы (Паушева, 1980). Пыльцу проращивали в термостате при 26 °С в течение 3–7 суток. Для определения динамики прорастания каждые сутки подсчитывалось количество проросших пыльцевых зерен. После этого определяли суммарное количество жизнеспособных пыльцевых зерен и измеряли длину пыльцевых трубок. Жизнеспособными считались пыльцевые зерна, образующие трубки длиной, превышающей диаметр зерна. Кроме того, учитывали количество пыльцевых трубок с необычной морфологией (с ветвлениями, вздутиями и т. п.) и определяли частоту их встречаемости.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Микрогаметогенез. Весеннее развитие микростробилов у представителей рода *Picea* начинается в апреле. Мейоз в материнских клетках пыльцы у *P. ajanensis* и местного вида *P. obovata* проходит в третьей декаде апреля, у *P. pungens* и *P. mariana* – несколько позднее, в первой декаде мая. Тетрады гаплоидных микроспор в микроспорангиях наблюдаются в течение 3–5 дней (рис. 2, а), затем микроспоры начинают увеличиваться в размерах, формируются воздушные мешки (см. рис. 2, б). Развитие мужского гаметофита начинается после кратковременного периода покоя. В результате первых двух митотических делений в пыльцевом зерне образуются две проталлиальные клетки. После прохождения еще двух делений с образованием сифоногенной, сперматогенной и

стерильной клеток, зрелый мужской гаметофит имеет пятиклеточное строение (см. рис. 2, в). Прохождение четвертого митотического деления до вылета пыльцы свидетельствует о благоприятных погодных-климатических условиях региона для развития мужского гаметофита исследуемых видов ели (Некрасова, 1983). Раскрытие микроспорангиев и вылет пыльцы у *P. obovata*, *P. ajanensis* и *P. pungens* происходит во второй–третьей декаде мая, у *P. mariana* – несколько позднее, в первой декаде июня.

У *P. mariana* были обнаружены как пяти-, так и шестиклеточные пыльцевые зерна, содержащие три проталлиальные клетки (см. рис. 2, г). Эта находка представляет определенный интерес, поскольку ранее было установлено, что у всех представителей семей-

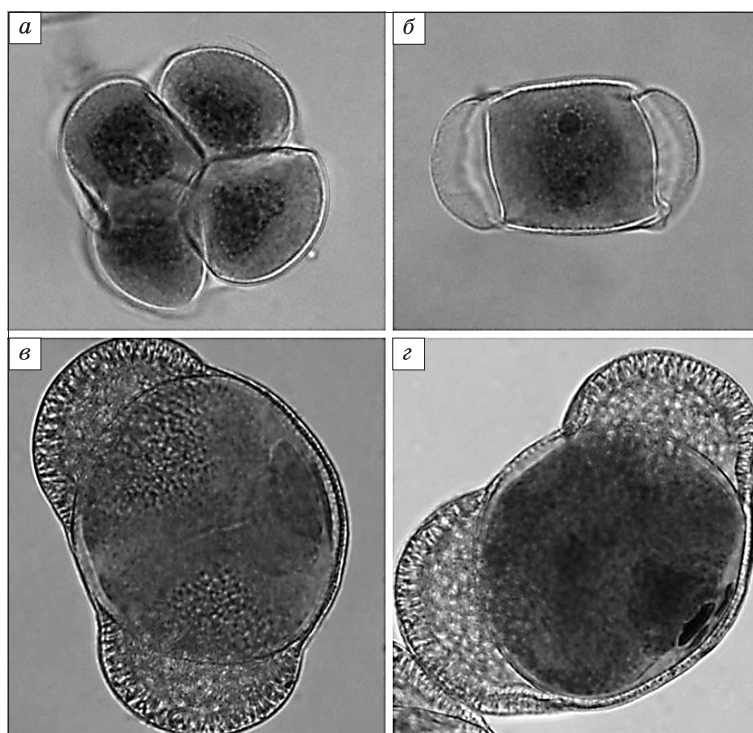


Рис. 2. Развитие мужского гаметофита *Picea* (на примере *P. mariana*):

a – тетрада гаплоидных микроспор после формирования; *б* – молодая микроспора с возникающими воздушными мешками; *в* – пятиклеточное пыльцевое зерно; *г* – пыльцевое зерно с тремя проталлиальными клетками.

ства *Pinaceae* в мужском гаметофите содержится две проталлиальные клетки (Цингер, Размологов, 1972; Fernando et al., 2010). Недавно пыльцевые зерна с тремя проталлиальными клетками были найдены и у других представителей рассматриваемого семейства – *Abies sibirica* Ledeb. (Bazhina et al., 2009) и *Larix leptolepis* Gord. (Zhang et al., 2008). На примере последнего показано, что в некоторых случаях проталлиальные клетки мужского гаметофита не только не дегенерируют, но и сохраняют способность к делению, а возможно, и функциональность.

Морфология пыльцы. Морфометрические показатели пыльцевых зерен изученных видов *Picea* приведены в табл. 1. Наиболее мелкая пыльца образуется у *P. mariana*. Тело пыльцевого зерна округлое либо несколько вытянутой формы – отношение высоты к длине (индекс B/A) варьирует от 0.90 до 0.99. Полученные данные в целом соответствуют результатам исследования пыльцы *P. mariana* в пределах ее естественного распространения (Lindbladh et al., 2002; Major et al., 2005). Однако форма тела пыльцевых зерен в различных участках ареала ближе к эллиптической –

Таблица 1

Морфометрические параметры пыльцы изученных видов рода *Picea*

Вид	Номер дерева	Размер тела пыльцевого зерна				Размер воздушного мешка			
		A		B		C		D	
		$X \pm S_x$, мкм	CV, %	$X \pm S_x$, мкм	CV, %	$X \pm S_x$, мкм	CV, %	$X \pm S_x$, мкм	CV, %
<i>P. obovata</i>	1	74.7 ± 1.26	9.2	64.6 ± 1.26	10.6	43.6 ± 1.00	12.6	50.7 ± 1.30	14.0
<i>P. pungens</i>	1	85.6 ± 1.83	11.7	85.1 ± 1.70	10.9	47.3 ± 1.45	16.8	65.7 ± 1.51	12.6
<i>P. ajanensis</i>	1	82.3 ± 1.42	9.4	80.5 ± 1.82	8.3	47.7 ± 0.90	10.3	62.3 ± 1.30	11.7
	1	56.1 ± 1.12	10.9	54.9 ± 0.74	7.3	33.4 ± 1.00	16.4	40.1 ± 1.34	18.3
<i>P. mariana</i>	2	61.6 ± 1.46	13.0	61.4 ± 0.98	8.7	34.6 ± 1.05	16.6	46.6 ± 1.19	14.0
	3	59.3 ± 1.13	10.5	58.1 ± 0.97	9.2	33.9 ± 0.84	13.5	46.8 ± 1.27	14.9
	4	57.7 ± 1.21	11.5	54.0 ± 0.96	9.7	35.7 ± 0.94	14.5	43.1 ± 0.98	12.4
	5	54.0 ± 1.57	15.9	48.7 ± 1.12	12.6	35.3 ± 0.96	14.9	42.4 ± 0.98	12.7

Примечание. $X \pm S_x$ – среднее значение и его ошибка; CV – коэффициент вариации.

индекс V/A составляет 0.76 и 0.89. Можно предположить, что высота тела пыльцевого зерна у данного вида характеризуется довольно высокой внутривидовой изменчивостью.

Пыльца *P. pungens* и *P. ajanensis* крупнее, чем у *P. mariana*. Тело пыльцевого зерна округлое, индекс V/A составляет 0.99 и 0.98 соответственно. Воздушные мешки крупные, симметричные, но у *P. pungens* наблюдается значительное варьирование по их размеру. Пыльца декоративной формы местного вида *P. obovata* занимает промежуточное положение по морфометрическим параметрам – она крупнее, чем у *P. mariana*, но мельче, чем у *P. pungens* и *P. ajanensis* (различия статистически значимы при $P < 0.05$). По форме тела пыльцевые зерна более вытянутые, индекс V/A составляет 0.86. Полученные данные в целом соответствуют результатам исследования пыльцы ели сибирской из природных популяций Сибири (Некрасова, 1983; Владимирова и др., 2008).

У всех видов отмечались аномально мелкие пыльцевые зерна с 1–2 воздушными мешками. Размер тела у таких зерен был в 1.9–2.1 раза меньше средних показателей для вида, воздушных мешков – в 1.4–1.6 раза. Они могли быть как цитологически выполненными, так и проявлять признаки некробиоза. Их появление, возможно, связано с нарушениями мейоза, при которых происходит потеря части генетического материала в результате повреждения веретена деления или хромосомных мутаций (Бессонова, 1992; Махнева и др., 2003). У *P. obovata* мелкие пыльцевые зерна наблюдались с очень низкой частотой (0.2 %) и являлись единственным типом аномалий. У *P. mariana* и *P. ajanensis* доля мелких зерен несколько выше (1.5 и 1.8 % соответственно). У *P. pungens* наблюдался более широкий спектр аномалий: мелкие пыльцевые зерна (13.9 %), зерна нормального размера с 3–4 воздушными мешками (0.2 %), а также линзовидные (0.1 %).

Жизнеспособность пыльцы. Максимальная интенсивность прорастания пыльцы у всех видов наблюдалась в первые сутки эксперимента (рис. 3). В на-

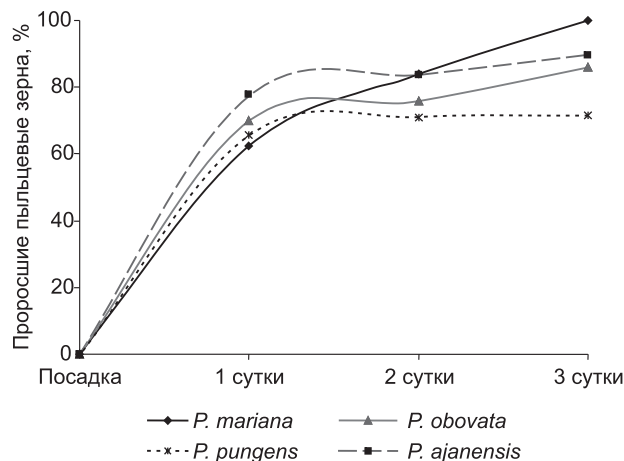


Рис. 3. Динамика прорастания пыльцы видов рода *Picea*.

чале прорастания пыльцевое зерно набухает, из пор выпячивается интина. Одновременно с набуханием начинается синтез крахмала, который продолжается до окончания роста пыльцевых трубок. Пыльцевые трубки появляются уже через 14–18 часов после посева. Наблюдения проводились в течение 7 дней, однако уже на 3 сутки количество проросшей пыльцы у всех видов ели достигало максимального значения и впоследствии практически не изменялось.

Согласно литературным источникам, для большинства видов *Picea* характерна высокая жизнеспособность пыльцы – 85–90 % (Владимирова и др., 2008; Owens, Molder, 1980; Cram, Lindquist, 1984; Major et al., 2005). Исследуемые нами виды различались по жизнеспособности пыльцы и длине формирующихся пыльцевых трубок (табл. 2). Наилучшие показатели были установлены для *P. mariana* (длина трубок 81.8–557.6 мкм, жизнеспособность пыльцы 84.5–97.0 % у разных деревьев). Близкие значения показаны у *P. ajanensis* и местного вида *P. obovata*. Пыльца *P. pungens* имеет более низкую жизнеспособность и формирует более короткие пыльцевые трубки. Проведенный регрессионный анализ показал наличие высокой отрицательной связи между количеством аномальных пыльцевых зерен (x) и жизнеспособностью пыльцы (y) ($y = -1.7155x + 91.587$; $R^2 = 0.9735$), а также положительной связи между жизнеспособностью пыльцы (x) и длиной пыльцевых трубок (y) ($y = 0.0563x^2 - 4.7131x + 211.01$; $R^2 = 0.8507$).

В процессе формирования пыльцевые трубки елей могут ветвиться, образовывать изгибы и вздутия (рис. 4). Причины появления таких трубок и их влияние на фертильность пыльцы неясны. Некоторые исследователи связывают ветвление пыльцевых трубок елей с избыточной влажностью среды при лабораторном проращивании (Смирнов, 1977). По мнению Н.В. Цингер и В.П. Размологова (1972), ветвление пыльцевых трубок у голосеменных является приспособительным признаком, поскольку увеличение поверхности трубок компенсирует более низкую, чем у покрытосеменных, ферментную активность цитоплазмы и стенок пыльцевых трубок.

Таблица 2

Жизнеспособность пыльцы и длина пыльцевой трубки изученных видов рода *Picea*

Вид	Номер дерева	Кол-во проросших пыльцевых зерен, %	Длина пыльцевой трубки		
			$\bar{X} \pm S_x$, мкм	lim, мкм	CV, %
<i>P. obovata</i>	1	85.0	227.4 ± 14.76	79.4–397.9	35.5
<i>P. pungens</i>	1	71.6	181.5 ± 6.78	96.9–242.2	20.5
<i>P. ajanensis</i>	1	89.7	213.1 ± 12.83	96.9–346.0	32.9
<i>P. mariana</i>	2	84.5	184.9 ± 14.22	81.8–451.5	42.1
	3	92.4	295.1 ± 20.47	109.1–557.6	38.0
	4	97.0	280.8 ± 16.72	121.2–448.5	32.6
	5	92.7	262.9 ± 20.31	81.8–509.1	42.3

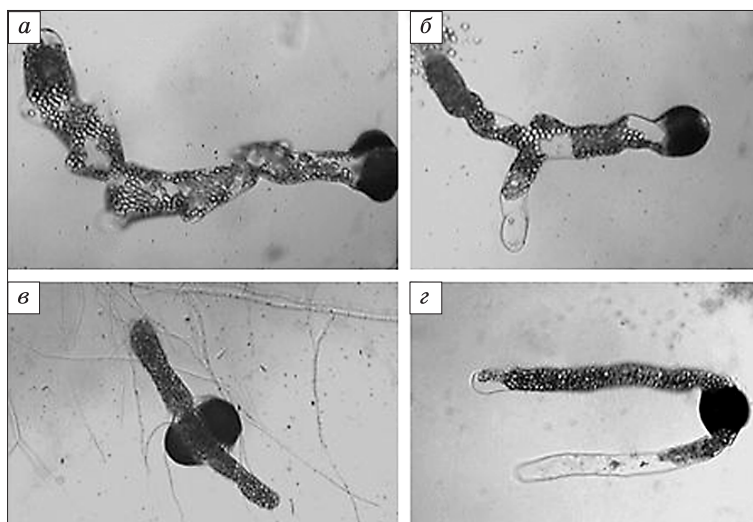


Рис. 4. Двойные (а, б) и разветвленные (в, з) пыльцевые трубки *Picea* (на примере *P. mariana*).

Наши исследования показали, что у 4.5 % проросших пыльцевых зерен *P. mariana* формировались двойные трубки, а 13.6 % трубок имели различные вздутия и изгибы. У *P. ajanensis* и *P. pungens* ветвление трубок наблюдалось в единичных случаях, а частота

встречаемости двойных трубок составила 18.7 и 29.8 % соответственно. У местного вида *P. obovata* количество трубок с необычной морфологией не превышало 1.5 %, что значительно меньше по сравнению с интродуцентами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования выявили высокое качество пыльцы *P. ajanensis* и *P. mariana* в условиях интродукции в Центральной Сибири. По жизнеспособности пыльцы эти виды сходны или даже превосходят местный вид *P. obovata* (84.5–97.0 %). В то же время у этих видов обнаружена высокая частота формирования аномальных пыльцевых трубок (до 29.8 %). Пыльца *P. pungens* содержит значительное количество аномальных зерен (14.1 %) и имеет более низкую жизнеспособность (71.6 %). Неоднородная по размеру и слабо прорастающая на питательной среде пыльца может свидетельствовать о том, что экологические условия района интродукции менее благо-

приятны для развития мужской генеративной сферы у этого вида.

Авторы выражают искреннюю благодарность заведующей лабораторией лесной генетики и селекции Института леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, д-ру биол. наук Е.Н. Муратовой, а также научному сотруднику Канадской лесной службы Дж. Майору за ценные советы и замечания при обсуждении результатов работы и при подготовке статьи.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и Красноярского краевого фонда поддержки научной и научно-технической деятельности, проект № 11-04-98081.

ЛИТЕРАТУРА

- Бессонова В.П.** Состояние пыльцы как показатель загрязнения среды тяжелыми металлами // Экология. 1992. № 4. С. 45–50.
- Бугаева К.С., Назимова Д.И.** Сосновые боры на северной границе Красноярской лесостепи: динамика фитоценотической структуры за последние 40 лет // Вестн. экологии, лесоведения и ландшафтоведения. 2009. С. 109–118.
- Владимирова О.С., Муратова Е.Н., Седаева М.И.** Пыльца ели сибирской, произрастающей в различных экологических условиях // Хвойные бореальной зоны. 2008. Т. 25, № 1–2. С. 98–102.
- Кищенко И.Т., Тихова М.А.** Характеристики пыльцевых зерен некоторых видов ели в условиях интродукции // Лесоведение. 1994. № 2. С. 36–41.
- Мамаев С.А., Андреев Л.Н.** Роль ботанических садов России в сохранении флористического разнообразия // Экология. 1996. № 6. С. 453–458.
- Махнева С.Г., Бабушкина Л.Г., Зуева Г.В.** Состояние мужской генеративной сферы сосны обыкновенной при техногенном загрязнении среды. Екатеринбург, 2003. 154 с.
- Моносзон-Смолина М.Х.** К вопросу о морфологии пыльцы некоторых видов рода *Pinus* // Бот. журн. 1949. Т. 34, № 4. С. 352–480.
- Некрасов В.И.** Интродукция древесных растений и проблемы лесоведения // Лесоведение. 1991. № 6. С. 74–82.
- Некрасова Т.П.** Пыльца и пыльцевой режим хвойных Сибири. Новосибирск, 1983. 169 с.

- Паушева З.П.** Практикум по цитологии растений. М., 1980. 304 с.
- Размологов В.П.** О проращивании и хранении пыльцы некоторых голосеменных растений // Бюл. ГБС АН СССР. 1964. Вып. 52. С. 63–69.
- Смирнов И.А.** Жизнеспособность пыльцы некоторых видов хвойных интродуцентов // Бюл. ГБС АН СССР. 1977. Вып. 106. С. 32–37.
- Цингер Н.В., Размологов В.П.** Эволюция мужского гаметофита голосеменных // Биохимия и филогения растений. М., 1972. С. 163–198.
- Черепнин Л.М.** Особенности флоры юга Красноярского края // Уч. зап. Краснояр. пед. ин-та. Т. 10. Красноярск, 1957. С. 3–11.
- Шкутко Н.В.** Развитие генеративных почек у хвойных растений, интродуцированных в БССР // Половая репродукция хвойных: Материалы I Всесоюз. симпозиум. Новосибирск, 1973. Т. 2. С. 132–134.
- Bazhina E.V., Kvitko O.V., Muratova E.N.** Peculiarities of *Abies sibirica* Ledeb. pollen development in the West Sayan Mountains // Phytomorphology. 2009. V. 59, No. 1, 2. P. 41–46.
- Cram W.H., Lindquist C.H.** Pollen viability studies for *Picea pungens* // The Forestry Chronicle. 1984. V. 60, No. 2. P. 93–95.
- Fernando D.D., Quinn C.R., Brenner E.D., Owens J.N.** Male gametophyte development and evolution in extant gymnosperms // Int. J. Dev. Biol. 2010. No. 4 (Special Issue 1). P. 47–63.
- Lindbladh M., O'Connor R., Jacobson G.** Morphometric analysis of pollen grains for paleoecological studies: classification of *Picea* from Eastern North America // Amer. J. Bot. 2002. V. 89, No. 9. P. 1459–1467.
- Major J.E., Mosseler A., Johnsen K.H., Rajora O.P., Barasi D.C., Kim K.-H., Park J.-M., Campbell M.** Reproductive barriers and hybridity in two spruces, *Picea rubens* and *Picea mariana*, sympatric in eastern North America // Can. J. Bot. 2005. V. 83. P. 163–175.
- Owens J.N., Molder M.** Sexual reproduction of Sitka spruce (*Picea sitchensis*) // Can. J. Bot. 1980. V. 58. P. 886–901.
- Zhang S.G., Yang W.H., Qi Y.C., Li M.X., Wang J.H., Sun X.M., Wang X.S., Qi L.W.** Development of male gametophyte of *Larix leptolepis* Gord. with emphasis on diffuse stage of meiosis // Plant Cell Reports. 2008. V. 27, No. 11. P. 1687–1696.