

УДК 630.2.56.9: 643.0.524

РЕПРОДУКЦИЯ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В УСЛОВИЯХ ГЛОБАЛЬНОГО ИЗМЕНЕНИЯ КЛИМАТА И СТРАТЕГИЧЕСКИЕ ПУТИ СОХРАНЕНИЯ ВИДА

Н.Е. Носкова, И.Н. Третьякова

Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН
660036 Красноярск, Академгородок, 50, e-mail: noscova62@mail.ru

В условиях глобального изменения климата в России на территории Красноярского края в последние годы (2000-2008 гг.) наблюдался запуск микроспорогенеза на 6 мес. раньше, чем обычно, осенью предшествующего пылению года, а не весной в год пыления. Вследствие «осеннего запуска» мейоза в ходе процессов формирования пыльцы наблюдались многочисленные нарушения, пыльца характеризовалась большим числом аномалий и низкими показателями жизнеспособности, что привело к существенному снижению урожая шишек и семян.

Ключевые слова: климат, сосна обыкновенная, микроспорогенез, микрогаметофитогенез, пыльца, аномалии, семенная продуктивность, качество семян

In global climate change condition in Krasnoyarsk region in Russia last years (2000-2008) microsporogenesis of Scotch pine started in the autumn of the year preceding pollination, whereas at a norm this process is occurred in the spring of the year of pollination. Owing to "autumn start" of meiosis numerous disturbances of pollen formation were registered. Pollen grains had a lot of abnormalities and poor viability that resulted in sufficient reduction of cones and seed production.

Key words: climate, Scotch pine, microsporogenesis, microsporogametophytogenesis, pollen, anomalies, seed productivity, seed quality

ВВЕДЕНИЕ

Вид *Pinus sylvestris* L. (сосна обыкновенная) занимает обширный ареал в северном полушарии и является одним из основных лесообразователей умеренного климатического пояса. Этот вид прекрасно адаптирован к местным температурным условиям. Репродуктивный цикл от заложения и дифференциации генеративных почек до полного созревания шишек занимает 25-26 месяцев. Семенная продуктивность невысокая и в условиях Красноярской лесостепи составляет в среднем 19-21 % (Третьякова, 1990). Заложение мужских генеративных органов происходит в июле, а дифференциация спорогенной ткани (археспория) – в августе – сентябре предшествующего пылению года. Процессы микроспорогенеза и развития пыльцы протекают весной, в год пыления - третий тип прохождения мейоза у хвойных (Eriksson, 1968). Пыление и опыление в условиях Красноярской лесостепи проходит в конце первой – во второй декаде июня при сумме эффективных температур 224-253,6 град.-дней (Третьякова, 1990). Глобальное потепление сопровождается постепенным изменением климата в разных регионах Земли (WMO statement..., 2000; Rahmstorf et al., 2007), в том числе и в Сибири. По данным Среднесибирского УГМС (Государственный доклад... 2008) в 2007 г. на территории Красноярского края отмечено, что:

- наступление зимы (2006 г.) задержалось на 12-25 дней;
- наступление весны раньше обычных сроков на 5-25 дней;

- наступление осени задержалось на 3-13 дней – в северных районах и на 15-27 дней - на южных границах края;

- окончание осени позже средних многолетних дат от 5-15 дней (Таймыр, центральные и южные районы) до 20-25 дней (юг и, местами, северные районы Эвенкии)

Увеличение длительности весеннего и осеннего сезонов, вызвало характерный ответ в поведении адаптированных к местным сезонным температурным условиям видов животных и растений, а так же (что оказалось более стабильным и заметным), продвижение зональной растительности в северном направлении и выше в горы, увеличение массы зеленого покрова (Чебакова и др., 2002). Хвойные лесообразующие виды неоднозначно ведут себя в новых условиях. С одной стороны выявлено положительное влияние климатических изменений на ростовые характеристики сосны обыкновенной и лиственницы сибирской (Rehfeldt et al., 2003). При этом генеративная сфера лиственницы сибирской проявляет признаки угнетения: наблюдаются нарушения в процессах формирования пыльцы, снижение характеристик качества пыльцевого зерна, низкие урожаи, ухудшение посевных качеств семян (Павлов, Миронов, 2003; Романова, Третьякова, 2003, 2005; Третьякова и др., 2004). В настоящей статье рассматриваются особенности репродукции сосны обыкновенной в условиях глобального изменения климата, обсуждаются перспективы существования вида при продолжительном характере климатических изменений в Красноярском регионе и стратегические пути сохранения вида.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектом исследования послужили деревья со-

Работа поддержана РФФИ (гранты № 08-04-00107, № 09-04-98000, № 09-04-10023, № 09-04 98000 интеграционного гранта № 53)

сны обыкновенной, произрастающие в окрестностях г. Красноярска (пос. Березовка, Академгородок, Погорельский ОЭП, платформа Бадаложный). В течение 1999–2009 гг. регулярно собирались образцы мужских почек, микростробиллов и пыльцы в осенне-зимний период и весной во время формирования пыльцы и пыления. Образцы фиксировали спиртово-уксусной смесью (Паушева, 1980). Для окрашивания препаратов использовали кармин по Гренахеру (Фрайштат, 1980), ацетогематоксилин (Смирнов, 1968) или сафранин (Паушева, 1980) с разными модификациями. Полученные препараты просматривали и фотографировали на микроскопе МБИ-6 (СССР, ЛОМО). На препаратах определяли фазы микроспорогенеза, и микрогаметофитогенеза, фиксировали отклонения от нормы; определяли морфометрические показатели пыльцевого зерна, проводили анализ аномалий пыльцевых зерен и их жизнеспособность: содержание крахмала в пыльце, прорастание в 15 % растворе сахарозы (Третьякова, 1990). Семенная продуктивность макростробиллов оценивалась по Е.Г. Мининой и И.Н. Третьяковой (1983), вес 1000 семян и качество семян рентгенографическим методом (Семена..., 1988). При оценке влияния температурного фактора на процессы репродукции сосны обыкновенной учитывали значения сумм эффективных температур с пороговым значением + 5 и 0 °С, а также продолжительность вегетационного периода по среднесуточным температурам. Статистический анализ проводили с использованием пакета компьютерных программ Microsoft excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования было установлено, что в условиях изменившегося климата при наличии затяжной и сравнительно теплой осени развитие мужских репродуктивных структур у сосны обыкновенной в окрестностях г. Красноярска не завершалось образованием археспория. Во второй половине октября – начале ноября в микроспорангиях дифференцировались микроспороциты и вступали в подготовительную фазу редукционного деления – профазу I. В этом

состоянии на стадии диплотены развитие спорогенной ткани в микроспорангиях сосны прерывалось до наступления весны следующего года. Такой тип прохождения мейоза характерен для лиственниц (Eriksson, 1968). У лиственниц низкий температурный порог запуска редукционного деления, и события могут проходить при температурах близких к 0 °С (Тернин, 1982; Третьякова и др., 2004).

Поэтому, осенью до наступления холодов в микроспорангиях успевают дифференцироваться микроспороциты, и начинается мейоз. К моменту наступления диплотены (профаза I), как правило, устанавливается отрицательный температурный режим, и развитие мейоза приостанавливается. Период покоя продолжается до весны. Однако установлено, что у интродуцированных лиственниц при продолжительном периоде положительных температур осенью микроспорогенез продолжается до образования тетрад (Шкутко, 1973). В г. Красноярске в последние годы редукционные деления, а затем и деграция тетрад микроспор в микроспорангиях лиственниц наблюдались во время продолжительных зимних оттепелей (Романова, Третьякова, 2005), что и явилось причиной недостаточного количества пыльцы и низкого выхода полнозернистых семян.

Весной с наступлением положительных температур в микроспорангиях сосны обыкновенной возобновлялись процессы формирования спорогенной ткани: микроспороциты проходили оставшиеся стадии профазы I и при пороговом значении среднесуточной температуры в пределах 10-12 °С редукционное деление завершалось. Для запуска второго деления мейоза также необходимо пороговое значение температуры. При похолодании в период микроспорогенеза эквационное деление задерживалось до наступления благоприятных температур (2003, 2009). Оба деления микроспорогенеза проходили с высоким уровнем аномалий (до 40 %, табл. 1). В ходе дальнейшего развития примерно 29-32 % мейоцитов с нарушениями в ходе мейоза деградируют. Не утилизированные мейоциты в процессе дальнейшего развития формировали аномальные пыльцевые зерна (30-80 %, рис. 1).

Таблица 1 - Частота встречаемости мейоцитов с нарушениями деления

Нарушение	%
Хромосомные и хроматидные мосты	7
Отстающие хромосомы и фрагменты	1,5
Параллельное расположение веретена деления (может привести к слиянию полюсов деления)	36
Нарушение функций ахроматинового веретена	3-4
Неравное распределение генетического материала между дочерними клетками	0,5
Выброс хромосом за пределы веретена деления	1-2
Ранний цитокинез (после первого деления)	3-5

Исследование гаметофитогенеза у сосны обыкновенной показало асинхронность протекания процесса у разных деревьев и в пределах одного микростробила. Сроки и длительность этапов развития пыльцы варьировали в зависимости от метеорологических условий, главным образом от температуры. В процессе формирования пыльцы наблюдалось изменение внутриклеточного окислительно-восстановительного потенциала, развитие пыльцевых оболочек, стремительный рост размеров пыльцевых зерен (рис. 3).

Максимальных размеров гаметофиты достигли за два-три дня до начала пыления и составили 106-116 % от размеров зрелого пыльцевого зерна. В последующие дни размеры пыльцевых зерен уменьшались, что связано с подготовительными процессами, предшествующими пылению. Установлено, что перед началом пыления в пыльцевых зернах идет дегидратация, цитоплазма уплотняется, частично деструктурирует. Гаметофиты уменьшаются в размерах, впадают в состояние покоя (Козубов и др., 1970).

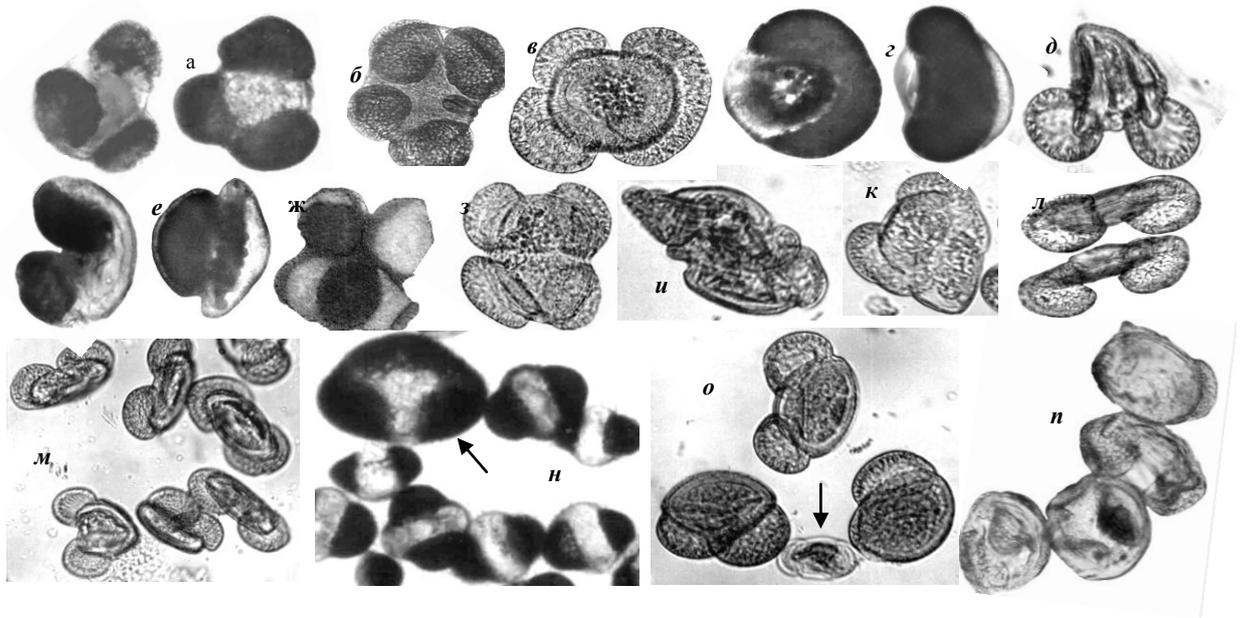


Рисунок 1 - Аномальные пыльцевые зерна у сосны обыкновенной: *а-в*– пыльцевое зерно с аномальным числом воздушных мешков: *а*– с тремя, *б*– с четырьмя и *в*– с двумя нормальными воздушными мешками и одним мешком воротничкового типа; *г*– воротничковое пыльцевое зерно; *д, е, л, м*– пыльцевые зерна с деформациями тела и мешков (*е*– линзовидное пыльцевое зерно); *ж-к*– сросшиеся пыльцевые зерна; *н*– гипертрофированное (диплоидное) пыльцевое зерно (показано стрелкой); *о*–мелкое пыльцевое зерно(показано стрелкой); *п*– деградирующая пыльца

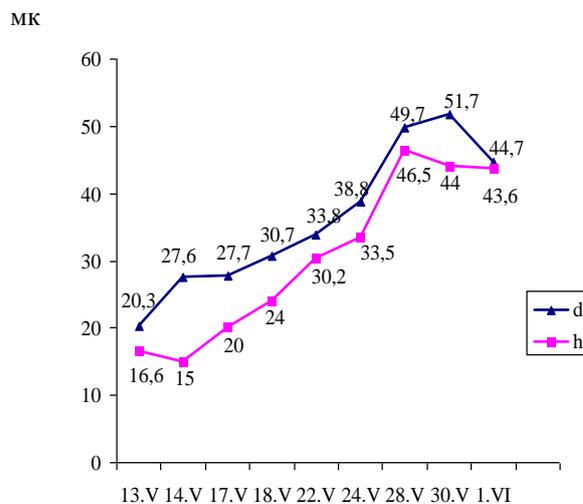


Рисунок 3 - Динамика роста микроспор сосны обыкновенной в процессе формирования мужского гаметофита: *d* - длина, *h* - высота

Первые проталиальные деления зарегистрированы за неделю до начала пыления. За три дня до начала пыления в образцах встречались пыльцевые зерна с 1-ой и 2-мя проталиальными клетками. Интересно отметить, что исключительно редко наблюдалось образование более чем двух проталиальных клеток. Образование проталиальных клеток у семенных растений считается примитивным признаком. Для сосен образование более двух проталиальных клеток в процессе формирования микрогаметофита явление редкое. Подобные случаи описаны Ругузовым и Склонной у кедра атласного

(1992).

Перед началом пыления наблюдалось истончение интины и заполнение воздухом мешков пыльцевого зерна. Влажная погода задерживала процессы подготовки и начала пыления (2008). Дожди во время пыления препятствовали растрескиванию стенок микроспорангия, и процесс пыления растягивался на долгие дни (2003, 2005, 2009). При установлении сухой и теплой погоды (2001, 2002, 2004, 2006, 2007) наступало дружное массовое пыление, которое завершалось за несколько дней.

Цитологические исследования показали, что в образцах зрелой пыльцы доля характерных для сосен двухклеточных гаметофитов составила только 24-32 %. Остальную массу составила пыльца на стадии проталиальных делений (18-20 %), одноклеточная (37-41 %) и деградирующая (10 %) пыльца. Доля тератологических форм превысила 40 %.

Таким образом, 50-60 % зрелых пыльцевых зерен на момент вылета из спорангия не завершили гаметофитогенез и, следовательно, не способны прорасти и сформировать пыльцевую трубку. В таком случае следует ожидать низкие показатели жизнеспособности пыльцы: накопление крахмала (вегетативная клетка пыльцевого зерна), прорастание (формирование пыльцевой трубки) и длина пыльцевой трубки.

Действительно, тест на крахмал показал слабое накопление крахмала в зрелых пыльцевых зернах (20-50 %), что коррелирует с низким выходом двухклеточных гаметофитов ($r=0,95$) и слабым прорастанием пыльцы на искусственных сре-

дах ($r=0,84$).

В отдельные годы (2000, 20004, 2006, 2007) пыльца была полностью стерильной и не прорастала на питательных средах (табл.2). В остальные годы получены низкие показатели прорастания пыльцевых зерен. Мужские гаметофиты формировали, в основном, короткие пыльцевые трубки. При этом пыльцевые трубки часто были «забиты» кал-

лозными пробками, что препятствовало перемещению ядра вегетативной клетки и генеративной клетки в трубку: цитоплазма вегетативной клетки располагалась у апикального конца трубки, соединяясь с содержимым пыльцевого зерна тонким цитоплазматическим тяжом. Такие пыльцевые трубки не превышали в длину 1-1,5 диаметра тела пыльцевого зерна и быстро лизировали.

Таблица 2 - Прорастание пыльцы на искусственных средах *in vitro*

Год	Показатели жизнеспособности пыльцы							
	п.Березовка		Академгородок		Погорельский ОЭП		пл.Бадаложный	
	Прорастание, %	Длина трубки, мкм	Прорастание, %	Длина трубки, мкм	Прорастание, %	Длина трубки, мкм	Прорастание, %	Длина трубки, мкм
1999	53	198,4	78,9	294,2	-	-	-	-
2000	0	0	0	0	0	0	0	0
2001	12,6	26,3	47	105	21,8	31,8	21,5	93,6
2002	56	83,7	0	0	73	120,4	0	0
2003	49,3	62,1	0	0	32	91,2	0	0
2004	0	0	0	0	0	0	0	0
2005	38	19	-	-	-	-	-	-
2006	0	0	0	0	-	-	-	-
2007	0	0	0	0	-	-	-	-
2008	32	54	64	101,3	-	-	-	-
2009	-	-	74,8	118,5	-	-	-	-

Вследствие недостаточного количества жизнеспособной пыльцы происходило опадение большого количества шишек первого года. Особенно на следующий год после формирования стерильной пыльцы (2001, 2005, 2007, 2008), из-за опадения шишек первого года, который на отдельных участках достигал 70 %, зрелых шишек на деревьях во всех районах исследования наблюдалось мало, большое количество семенных чешуй в зрелых шишках несли одни только крылатки.

Семенная продуктивность была ниже средних показателей продуктивности, установленных по данным многолетних исследований для сосны обыкновенной в условиях Красноярской лесостепи (рис. 4). Этот факт свидетельствует о слабой опыленности семяпочек или точнее, опыленности жизнеспособной пыльцой – пыльцой, способной прорасти на нуцеллусе семяпочки и формировать пыльцевые трубки.

Показатели качества семян: вес 1000 семян и полнозернистость семян оставались достаточно высокими (рис. 5).

Таким образом, в условиях глобального изменения климата у сосны обыкновенной произошло смещение сроков протекания микроспорогенеза, который начинается на 6 мес. раньше, чем обычно, что сопровождается рядом негативных последствий: формированием стерильной пыльцы, снижением урожая шишек и семян. Вступление сосны обыкновенной в мейоз осенью явилось причиной прохождения делений и формирования пыльцы в более ранние сроки.

Тот факт, что микроспорогенез по сценарию «осеннего запуска» имел место у всех представителей вида одновременно, свидетельствует о том, что эта программа запуска мейоза для сосны обыкновенной более древняя. В дальнейшем, с похолода-

нием и усилением континентальности климата на Земле, мужские структуры не успевали завершить свое развитие до наступления неблагоприятного периода. В процессе адаптации выработались необходимые приспособления, обеспечившие функционирование мужских репродуктивных органов, предусматривающие запуск и прохождение мейоза весной.

В условиях изменившегося климата Сибири в последние годы «старая» программа развития вновь задействована, и эти приспособления, вероятно, имели негативные последствия на формирование пыльцы.

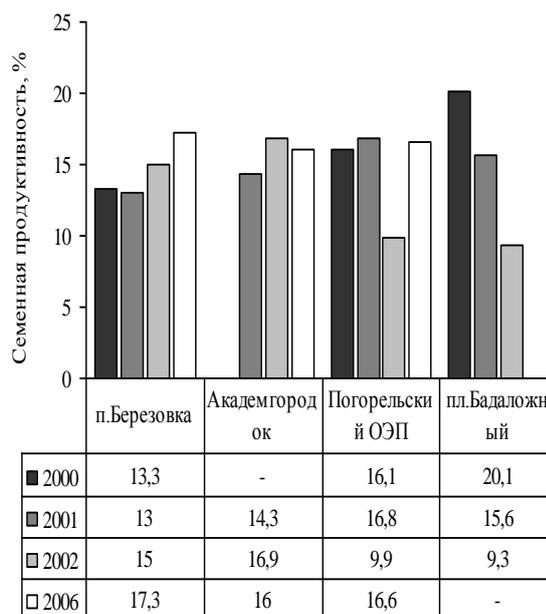


Рисунок 4 - Семенная продуктивность макростробилов сосны обыкновенной. *Норма для Красноярской лесостепи 19-21 % (Третьякова, 1990)

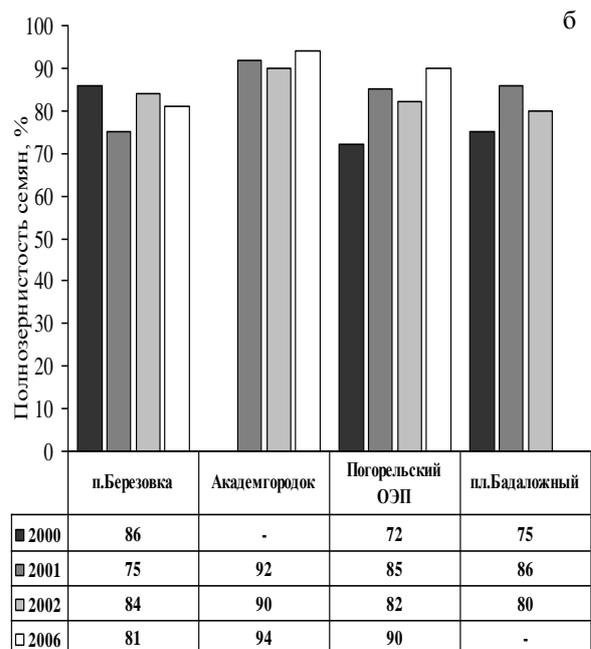
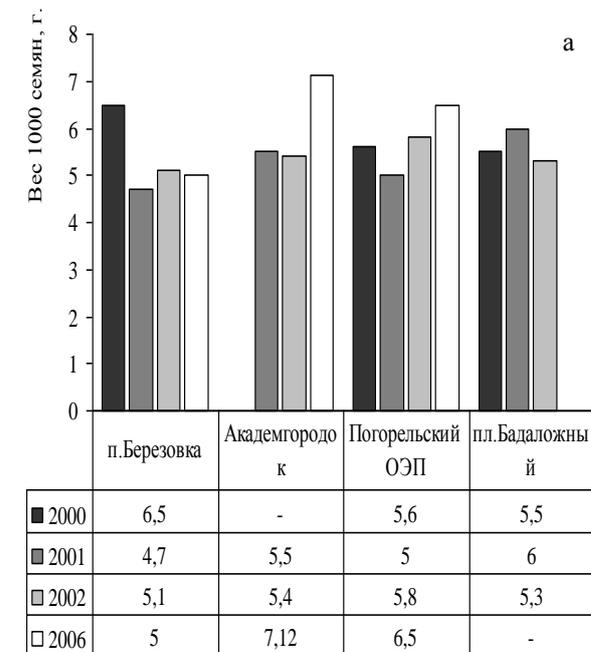


Рисунок 5 – Вес тысячи семян у сосны обыкновенной (а); полнозернистость семян сосны обыкновенной (б)

О существовании в природе двух альтернативных программ прохождения мейоза, свидетельствуют наблюдения финских ученых, впервые обнаруживших в середине 70-х гг. материнские клетки пыльцы в почках мужских побегов сосны в период осеннее – зимнего покоя (Kupila-Ahvenniemi, Piha-kaski, 1966). Проблема вероятно в том, что утрачены адаптации сосны обыкновенной к развитию мужских структур в условиях «осеннего запуска мейоза». В результате чего формируется пыльца с высоким содержанием пыльцевых зерен, не завершивших гаметофитогенез, и, следовательно, не

способных формировать пыльцевые трубки. Из-за недостаточного количества жизнеспособной пыльцы существенно снижается урожай шишек и семенная продуктивность. Если климатические изменения примут продолжительный характер, то на территории Красноярского региона можно ожидать сокращение ареала и миграции вида в северном направлении. Анализ литературных данных позволяет предположить и другие пути решения проблемы выживания вида в сложившейся ситуации. Возможно, адаптационные механизмы приведут в соответствие генеративные процессы в микроспорангиях сосны. Возможно, созревание пыльцевого зерна будет происходить на нуцеллусе семяпочки, как у *Juniperus* и *Taxus baccata*. Тем более известны случаи изменения порядка формирования мужского гаметофита при изменении условий произрастания. Например, у кедра гималайского, интродуцированного в Крым, в микроспорангии проходят только два митотических деления, а остальные три – на нуцеллусе семяпочки, тогда как в условиях естественного произрастания на нуцеллусе семяпочки проходит только одно, последнее, предшествующее оплодотворению, деление (Склонная, 1985; Ругузов, Склонная, 1992). Вопрос в том, будет ли вид располагать временем для осуществления «стратегических решений выживания».

В сложившихся условиях актуальным является применение и развитие биотехнологических методов размножения сосны обыкновенной. Особенно перспективным представляется метод соматического эмбриогенеза *in vitro*. Этот уникальный многофункциональный инструмент можно успешно использовать для сохранения лесных генетических ресурсов Сибири, в том числе, сосны обыкновенной. В институте леса им. В.Н. Сукачева СО РАН г. Красноярска успешно ведутся эксперименты по получению соматического эмбриогенеза у сосны обыкновенной и других хвойных лесообразователей Сибири.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Государственный доклад О состоянии и охране окружающей среды в Красноярском крае за 2007 год Красноярск 2008. 266 с.
- Козубов, Г.М. Цитозембриологические исследования и ультраструктура репродуктивных органов сосны обыкновенной / Козубов Г.М., Тихова М. А., Сулимова Г.М. // Лесоведение. №2. 1970. С. 85-93.
- Минина, Е.Г. Геотропизм и пол у хвойных. / Минина Е.Г., Третьякова И.Н. // Новосибирск, СО АН СССР, 1983. 199 с.
- Павлов, И.Н. Динамика посевных качеств семян *Larix sibirica* Ledeb. В насаждениях юга Сибири с 1936 по 2000 г.г. / Павлов И.Н., Миронов А.Г. // Хвойные бореальной зоны. 2003 Выпуск 1. С. 14-21.
- Паушева З.П. Практикум по цитологии растений // М.: Колос, 1980. 304 с.
- Репродуктивные структуры голосеменных (сравнительное описание) // Л.: Наука, 1982. 104 с.
- Романова, Л.И. Особенности микроспорогенеза у лиственницы сибирской, растущей в условиях техногенного стресса / Романова Л.И., Третьякова И.Н. // Онтогенез.

2005. Т. 36. № 2. С. 128–133.
- Романова, Л.И. Перспективы использования лиственницы в озеленении городов Сибири / Хвойные бореальной зоны. Лиственница / Романова Л.И., Третьякова И.Н. // Красноярск. 2003. Вып. 1. С. 40-46.
- Ругузов, И.А. Формирование мужского гаметофита у некоторых представителей сосновых, кипарисовых и тисовых / Ругузов И.А., Склонная Л.У. // *Cytology – Embryological studies of higher plants: collected scientific works*. Yalta. 1992. Vol. 113. P. 62-73.
- Семена древесных пород. Методы рентгенографического анализа. ОСТ 56-94-87 // 1988. 23 с.
- Склонная Л.У. Особенности формирования семян у можжевельника высокого и кедра гималайского в Крыму // Тез. докл. II Всесоюзного симпозиума «Половое размножение хвойных растений» 10-12 сентября 1985. Новосибирск. 1985. С. 34-35.
- Смирнов Ю.А. Ускоренный метод исследования соматических хромосом // *Цитология*. 1968. № 2.
- Тренин В.В. Микроспорогенез. Мужской гаметофит. / В кн.: Репродуктивные структуры голосеменных (Сравнительное описание) // Л.: Наука, 1982. С. 44 – 71.
- Третьякова И.Н. Эмбриология хвойных // Новосибирск: Наука, 1990. 157 с.
- Третьякова, И.Н. Структурно-функциональные изменения в генеративных органах у сибирских видов хвойных в условиях глобального потепления климата / Третьякова И.Н., Н.Е. Носкова, Л.И. Романова // Материалы Всероссийской конференции, посвященной 60 летию Института леса им. В.Н. Сукачева СО РАН и 70 летию образования Красноярского края 1-3 сентября, Красноярск, 2004, С. 369-371.
- Фрайштат Д.М. Реактивы и препараты для микроскопии. // М.: Химия, 1980. 480 с.
- Чебакова, Н.М. Прогноз изменения фитомассы лесов в широтных и высотных зонах при потеплении климата / Чебакова Н.М., Парфенова Е.И., Монсеруд Р.А. // Лесные экосистемы Енисейского меридиана. Новосибирск. Изд-во СО РАН, 2002. С. 252-264.
- Шкутко Н.В. Развитие генеративных почек у хвойных растений, интродуцированных в БССР // Материалы I-го Всесоюзного симпозиума «Половая репродукция хвойных». Наука, Новосибирск СО АН СССР. 1973. С. 103 – 106.
- Eriksson G. Temperature response of pollen mother cells in *Larix* and its importents for pollen formation // *Stud. Forest. Suec.* 1968. v 63.
- Kupila-Ahvenniemi, S. Qualitative study on the nucleic acid in the microsporangiate strobilus primordia and the spur shoot primordia of the dormant scotch pine / Kupila-Ahvenniemi S., Pihakaski S. // *Ann. Bot. fenn.*, 1966. v. 3. N 1. p. 141-147.
- Rehfeldt Gerald, E. Assessing population responses to climate in *Pinus sylvestris* and *Larix* spp. of Eurasia with climate-transfer models / Rehfeldt Gerald E., Tchebakova Nadejda M., Milyutin Leonid I., Parfenova Elena I., Wykoff William R. and Kouzmina Nina A. // *Eurasian J. For. Res.* 6-2: 83-98, 2003.
- Stefan Rahmstorf. [Recent Climate Observations Compared to Projections](#) / Stefan Rahmstorf, Anny Cazenave, John A. Church, James E. Hansen, Ralph F. Keeling, David E. Parker, Richard C. J. Somerville. // *Science*. 2007. V. 316. P. 709.
- WMO statement of the status of the global climate in 2000 // WMO. 2000. № 657. P. 12.

Поступила в редакцию 22 января 2010 г.
Принята к печати 27 апреля 2011 г.