

ИЗУЧЕНИЕ СТАДИЙ РАЗВИТИЯ ЗАРОДЫША МОЖЖЕВЕЛЬНИКА СИБИРСКОГО И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ПРОРАСТАНИЕ СЕМЯН

В статье рассматриваются проблема низкой всхожести семян можжевельника сибирского, причины и возможная альтернатива традиционной стратификации. Описаны стадии развития зиготических зародышей, изучена их цитология на постоянных препаратах, показана зависимость стадий развития зиготических зародышей от сроков сбора шишкояд (шишек) в естественных и искусственных популяциях.

Ключевые слова: можжевельник сибирский, семена, всхожесть, стратификация, зиготические зародыши, стадии развития, постоянные препараты.

Ju.V. Zyryanova, E.N. Aeshina

THE STUDY OF JUNIPERUS SIBIRICA GERM DEVELOPMENT STAGES AND THEIR INFLUENCE ON SEED GERMINATION

The problem of *Juniperus sibirica* seed low germination, the reasons and possible alternative to traditional stratification are considered in the article. The zygotic germ development stages are described, their cytology on constant preparations is studied, the dependence of zygotic germ development stages on galberries (cones) harvesting terms in natural and artificial populations is shown.

Key words: *Juniperus sibirica*, seeds, germination, stratification, zygotic germs, development stages, constant preparations.

Введение. *Juniperus sibirica* Burgsd. – вечнозеленый низкорослый, стелющийся хвойный кустарник семейства кипарисовых. В диком виде растет в горных районах Средней Азии, Крыму, Алтае-Саянской горной области, на Кавказе, Дальнем Востоке и в Сибири [1].

Можжевельник сибирский – вид, который нуждается в защите и изучении [1–3], имеет высокие декоративные качества, отличается медленным ростом.

Актуальность исследований. Можжевельник сибирский – уникальный биологический вид. Природная форма очень привлекательна благодаря темно-зеленой игольчатой хвои с яркими белыми устьичными полосками. Очень декоративен. Морозостоек и неприхотлив, растет медленно. Можжевельники приобретают все большую популярность в ландшафтном дизайне и могут смело конкурировать с другими хвойными растениями. Однако для большинства видов характерна одна проблема – низкая всхожесть семян.

Цель исследования. В связи с вышеизложенным целью исследования является поиск причин низкой всхожести семян можжевельника сибирского и путей решения этой проблемы.

Задачи исследования. В задачи исследования входило изучение литературных источников по данной проблеме, наблюдение стадий развития зиготических зародышей можжевельника сибирского в разные периоды цикла развития в естественных и искусственных популяциях, цитологический анализ собранных образцов, установление причин долгого непрорастания семян можжевельника сибирского, изучение эффективности традиционной стратификации в решении данной проблемы и предложение альтернативного метода.

Объекты и методы исследований. Объектом исследования является можжевельник сибирский, произрастающий в разных районах Красноярского края.

Для изучения стадий развития зиготических зародышей были собраны образцы шишкояд можжевельника сибирского, произрастающего в нескольких районах Красноярского края в разные периоды цикла развития. Для цитологических исследований семена, извлеченные из шишкояд с удаленной кожурой, фиксировали в смеси Навашина [4]. Дальнейшую обработку материала проводили по общезвестной методике [5]. Парафинированные образцырезали на ротационном микротоме. Толщина срезов 7–12 мкм.

Срезы окрашивали проционовыми красителями [6, 7]. Окрашивание проводили на депарафинированных срезах. Комбинированная окраска белков и углеводов осуществлялась проционом ярко-синим RS и проционом ярко-красным 2 RS [6]. Промытые водой срезы помещали в 0,1 % раствор проционового ярко-синего в фосфатном буфере с pH 5,6–6,0 в течение 1 ч при температуре 56–60°C. Срезы промывали и окрашивали 0,1% содовым (Na_2CO_3) раствором проционового красного в течение 25 мин при комнатной температуре. Далее их промывали дистиллированной водой, обезвоживали и бальзамировали. Приготовление постоян-

ных препаратов проводили в Институте леса имени В.Н. Сукачева Сибирского отделения Российской академии наук в лаборатории лесной генетики и селекции.

Просмотр микроскопических образцов осуществляли на микроскопе «Olympus», Япония. Морфологические изменения фиксировали цифровой видеокамерой «Nikon», Япония.

Результаты исследований и их обсуждение. Основным препятствием для естественного и искусственного возобновления можжевельников является низкая всхожесть семян. Согласно данным разныхученных, всхожесть семян можжевельника варьируется от 0 до 5,2% [8–11]. Одной из основных причин долгого непрорастания семян можжевельника многие авторы называют глубокий физиологический покой [8, 11–14]. Покой семян можно отнести к комбинированному типу, при котором задержка прорастания вызывается и свойствами покровов, и состоянием внутренних частей семени (низкое содержание физиологически активных веществ и слабая активность ферментов). На прорастание семян оказывают влияние и семенные покровы (семенная кожура, эндосперм).

Некоторые авторы склоняются к другой точке зрения и основной причиной низкой всхожести семян можжевельника называют недоразвитие зародыша [14, 15].

Для нарушения состояния покоя семян, полученных из зрелых шишкояд, чаще всего используют стратификацию. Однако, по данным многих исследователей, всхожесть семян можжевельника увеличивается незначительно. Так, после холодной стратификации в течение трех месяцев этот показатель достиг максимума в 9,3% [16, 17]. Холодная стратификация и стратификация переменными температурами в течение 9 месяцев увеличила всхожесть семян можжевельника до 35% [8, 9].

В связи с вышенназванными проблемами (глубокий физиологический покой и недоразвитие зародыша) целесообразно рассмотреть стадии развития зиготического зародыша можжевельника.

Зиготические зародыши в семенах можжевельника, как и других голосеменных растений, проходят несколько последовательных стадий развития: глобулярную, сердечковидную, торпедовидную («торпедо»), стадию инициации семядолей и стадию зрелого зародыша (рис. 1).



Рис. 1. Стадии развития зиготического зародыша можжевельника сибирского

Весь цикл развития (от закладки мегастробилов до созревания семян) протекает за 3–4 года [8, 13]. В первый вегетационный период закладываются мегастробили, во второй происходит их опыление. Весной третьего вегетационного периода мегастробили, опыленные в предыдущем году, с наступлением положительных температур начинают быстро развиваться. Семенные чешуи разрастаются и образуют шишкояды, созревающие на следующий год.

В данной работе мы наблюдали стадии развития зародышей можжевельника сибирского, произрастающего в разных районах Красноярского края (естественные и искусственные ареалы произрастания) в разные периоды. Следует отметить, что один и тот же период сбора шишкояд показал разное состояние зародышей в семенах в зависимости от района произрастания. Например, в семенах можжевельника сибирского, ягоды которого собраны в третьей декаде июля 2012 года в Якутии (пойма р. Витим), зародыши находились в сердечковидной стадии и стадии раннего «торпедо», а в семенах можжевельника сибирского, ягоды которого собраны в этот же период в пригороде г. Красноярска (дендрарий СибГТУ), зародыши находились уже в стадии позднего «торпедо» и даже в стадии инициации семядолей. Сравнение состояния зародышей семян можжевельника сибирского, ягоды которого собраны в пригороде Красноярска – дендрарий

СибГТУ (третья декада июля 2012) и в питомнике Института леса им. В.Н. Сукачева «Погорельский бор» – 38-й км от г. Красноярска (третья декада сентября) показало, что все зародыши находились в стадии позднего «торпедо» и стадии инициации семядолей, несмотря на разницу в два месяца. Стадию зрелого зародыша зафиксировали во второй декаде октября 2011 и 2012 годов в питомнике «Погорельский бор».

Из вышеизложенного можно сделать вывод о том, что зиготические зародыши семян можжевельника сибирского находятся на разных стадиях развития в зависимости от места произрастания. В более суровых условиях развитие зародышей замедляется значительно. Это является одной из причин долгого непрорастания семян. Однако наблюдения за стадиями развития зародышей в конце первой – начале второй декады октября 2011–2012 гг. в питомнике «Погорельский бор» и дендрарии СибГТУ показали, что в это время зародыши уже сформированы полностью. Проблема недоразвития зародыша имеет место до тех пор, пока зародыши развиваются (примерно до конца первой декады октября). А далее, когда зародыши сформировались, наступает глубокий физиологический покой, являющийся серьезным препятствием для прорастания семян можжевельника.

Для цитологического анализа образцы фиксировали, резали на микротоме, окрашивали проционовыми красителями [7], приготовление постоянных препаратов вели по общезвестной методике [4]. Просмотр микроскопических образцов осуществляли на микроскопе «Olympus», Япония. Морфологические изменения фиксировали цифровой видеокамерой «Nikon», Япония. Цитологические исследования проводили в лаборатории лесной генетики и селекции Института леса им. В.Н. Сукачева.

На рисунке 2 представлен срез зрелого семени можжевельника сибирского.



Рис. 2. Срез зрелого семени можжевельника сибирского (вторая декада октября 2011 г.)

На срезе представлен зрелый зиготический зародыш, окруженный эндоспермом. Четко видны сформированные семядоли, точка роста побега, гипокотиль, корешок. Зародыш полностью занимает коррозийную полость (зародышевый канал). На данном этапе наблюдается состояние глубокого физиологического покоя, процент прорастания стремится к нулю.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что главной причиной долгого непрорастания семян можжевельника сибирского является состояние глубокого физиологического покоя. Формирование зароды-

ша заканчивается к концу первой – началу второй декады октября. Зародыши из зеленых шишкоягод или частично черно-синих (третья декада сентября) еще недоразвиты (стадия позднего «торпедо», реже стадия инициации семядолей), вследствие чего прорастание семян растягивается на 2–3 года. Следовательно, целесообразнее использовать шишкоягоды, достигшие полной морфологической зрелости (черно-синие шишкоягоды). А для выведения зародыша из состояния покоя применять технологию стратификации *in vitro*.

Выводы

Проведенные исследования показали, что одной из основных причин долгого непрорастания семян можжевельника сибирского является состояние глубокого физиологического покоя комбинированного типа. Недоразвитие зародыша характерно для семян примерно до конца первой декады октября, хотя эти сроки могут меняться в зависимости от места произрастания можжевельника. По нашим наблюдениям, зародыши в семенах из зеленых (недозрелых) или частично черно-синих шишкоягод недоразвиты (стадия позднего «торпедо», реже стадия инициации семядолей) (конец третьей декады сентября). Зародыши в синих шишкоягодах (конец первой – начало второй декады октября) на этапе полной морфологической зрелости полностью сформированы. Однако в этот период процент прорастания семян очень незначителен. Поскольку традиционная стратификация недостаточно эффективна, в качестве альтернативы может выступать более современный и прогрессивный метод – стратификация *in vitro*.

Литература

1. Воробьев Д.П. Дикорастущие деревья и кустарники Дальнего Востока. – Л., 1987. – 277 с.
2. Носов А.М. Лекарственные растения. – М.: ЭКСМО-Пресс, 2001. – 350 с.
3. Мухамедшин К.Д., Таланцев Н.К. Можжевеловые леса. – М.: Лесн. пром-сть, 1982. – 184 с.
4. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Колос, 1980. – 304 с.
5. Прозина М.Н. Ботаническая микротехника. – М.: Высш. шк., 1960. – 206 с.
6. Иванов В.Б., Литинская Т.К. Одновременная окраска белков и углеводов проционовыми красителями // Цитология. – 1967. – Т.9. – №9. – С. 1163–1165.
7. Иванов В.Б. Активные красители в биологии. – М.: Наука, 1982. – 214 с.
8. Рубаник В.Г., Жеронкина Т.А. Развитие шишечек *J. virginiana L.* и *J. communis L.* в Алма-Ате // Бот. журн. – 1969. – Вып. 54. – №3. – С. 464–470.
9. Бакланова Е.Г. Можжевельник обыкновенный на Среднем Урале // Ботанические исследования на Урале: информ. мат-лы. – Свердловск: Изд-во УрО АН СССР, 1988. – С. 10–11.
10. Барзут О.С. Эколо-географическая изменчивость можжевельника обыкновенного (*Juniperus communis L.*) в лесах Архангельской области: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. – Архангельск, 2007. – 18 с.
11. Харламова С. В. Размножение можжевельника обыкновенного в Республике Марий Эл: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. – Йошкар-Ола: Изд-во МарГТУ, 1997. – 23 с.
12. Истратова О.Т. Размножение можжевельников // Тр. Сочинской научно-исследовательской опытной станции субтропического лесного и лесопаркового хозяйства. – М.: Лесн. пром-сть, 1968. – Вып. 5. – С. 90–114.
13. Мухамедшин К.Д. Арча. – М.: Лесная пром-ть, 1980. – 96 с.
14. Николаева М.Г. Физиология глубокого покоя семян. – Л.: Наука, 1967.
15. Иванова З.Я. Декоративные кустарники для Новосибирской области и способы их размножения. – Новосибирск: Западно-Сибирское кн. изд-во, 1974.
16. Germination of *Juniperus procera* seeds in response to stratification and smoke treatments, and detection of insect-damaged seeds with VIS + NIR spectroscopy / M. Tigabu [et al.] // New Forest. – 2007. – Vol. 33. – P. 155–169.
17. Ezz AL-Dein Al-Ramamneh, Susan Dura, Nidal Daradkeh. Propagation physiology of *Juniperus phoenicea* L. from Jordan using seeds and *in vitro* culture techniques: Baseline information for a conservation perspective // African Journal of Biotechnology. – 2012. – Vol. 11(30). – P. 7684–7692.