

уровня активности фермента в течение всего периода наблюдений в хвое из загущенного насаждения сосны может рассматриваться как индикатор стрессового состояния. Но даже высокая активность глутатионредуктазы не гарантирует достаточного уровня восстановленного глутатиона в ткани (рис. 4Г).

В ряде работ отмечена вариабельность проявления окислительного стресса у древесных растений, развивающегося как следствие действия другого стресса биотического или абиотического происхождения: различные стрессоры или различная интенсивность стресса могут активировать разные элементы антиоксидантной защиты [3–5, 7–8]. В нашем исследовании достаточно жесткое влияние конкуренции из-за повышенной густоты насаждения сильнее отразилось на светолюбивой сосне обыкновенной по сравнению с теневыносливым кедром сибирским.

Большая густота насаждения светолюбивой сосны значительно сильнее изменяет содержание и соотношение хлорофиллов в хвое по сравнению с теневыносливым кедром, повышая как общую концентрацию зеленых пигментов, так и долю хлорофилла *b*. Повышение содержания хлорофиллов, и в большей степени хлорофилла *b*, может являться общей адаптивной реакцией на изменение интенсивности светового потока, поскольку сходный эффект наблюдался и при прореживании насаждений ели, причем, чем большей густоты было исходное насаждение, тем отчетливее была ответная реакция [6].

Более существенные изменения в содержании и соотношении хлорофиллов, повышение активности пероксидазы и глутатионредуктазы в хвое светолюбивой сосны обыкновенной в сравнении с теневыносливой сосной сибирской в ответ на жесткую внутривидовую конкуренцию свидетельствуют о большей чувствительности этого вида к действию фитоценотического стресса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бузыкин А.И., Пиеничникова Л.С. Влияние густоты на морфоструктуру и продуктивность культур сосны // Лесоведение. 1999. № 3. С. 38–43.
2. Плаксина И.В., Судацкова Н.Е., Бузыкин А.И. Влияние густоты посадки на ксилогенез и метаболизм сосны обыкновенной и лиственницы сибирской // Лесоведение. 2003. № 4. С. 47–53
3. Miszalski Z., Libik M., Surówka E., Niewiadomska E. Cu/Zn superoxide dismutase and catalase activities in *Pinus mugo* needles growing at elevated stands in the mountains, and their photochemical efficiency of PSII // J. Plant. Physiol. 2005, Vol. 162. № 8. P. 895–902.
4. Munné-Bosch S., Peñuelas J. Drought-induced oxidative stress in strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) growing in Mediterranean field conditions // Plant Sci. 2004. Vol. 166. P. 1105–1111.
5. Richardson C.J., Di Giulio R.T., Tandy N. E. Free-radical mediated processes as markers of air pollution stress in trees. In: Biologic markers of air-pollution stress and damage in forests. National Academy Press, Washington, D.C., 1989. P. 251–260.
6. Skuodienė L. Quantitative changes in amino acid proline and chlorophyll in the needles of *Picea abies* Karst. (L.) during stress and adaptation // Biologija. 2001. № 2. P. 54–56.
7. Wingsle G., Karpinski S. Differential redox regulation by glutathione of glutathione reductase and Cu/Zn-superoxide dismutase gene expression in *Pinus sylvestris* L. needles. // Planta. 1996. Vol. 198. P. 151–157.
8. Yang Y., Han Ch., Liu Q., Lin B., Wang J. Effect of drought and low light on growth and enzymatic antioxidant system of *Picea asperata* seedlings // Acta Physiol Plant. 2008. Vol. 30. P.433–440.

POSITIVE EFFECT OF THE LOWERED AUTUMNAL-WINTER TEMPERATURES ON MICROSPOROGENESIS IN PLANTS

Miroslavov E.A., Mirgorodskaya O.E., Koteeva N.K., Barmicheva E.M.

Komarov Botanical Institute RAS, Saint-Petersburg, Russia, E-mail: mirgolga@yandex.ru

Abstract. For many years we studied adaptive structural mechanisms of plants grown in cold climate in electron-microscopic level. It was shown that the lowered temperatures are essential for complete cycle of the anther development. Our study was based mainly on evaluating of dual role of low temperatures in seasonal climate as a stress-factor or as a trigger of normal development depending on growth conditions. Ultrastructural comparative investigation of anthers of early-spring ephemeroïd *Scilla sibirica*, alien *Rhododendron luteum* and local species *Ribes nigrum* plants grown in the park and those that were transferred to the greenhouse to avoid the cold time was conducted. Temporal pattern of microsporogenesis

stage sequence and tapetum functional activity differ in three species indicating different strategies of low temperature tolerance with different temperature-sensitive stages. *S. sibirica* forms bicellular pollen grains with generative and vegetative cells before the first frosts in early autumn. Microsporocytes of *R. luteum* spend period of low temperatures at stage of late vacuolization. *R. nigrum* microspores spend cold season as undifferentiated microsporocytes at premeiotic stage of development.

ПОЛОЖИТЕЛЬНОЕ ВЛИЯНИЕ ПОНИЖЕННЫХ ОСЕННЕ-ЗИМНИХ ТЕМПЕРАТУР НА МИКРОСПОРОГЕНЕЗ РАСТЕНИЙ

Мирославов Е.А., Миргородская О.Е., Котеева Н.К., Бармичева Е.М.

Ботанический институт им. В.Л.Комарова РАН, С-Петербург, Россия, E-mail: mirgolga@yandex.ru

Изучению сезонных изменений растений, т. е. изменений, происходящих в процессе адаптации растений к осенне-зимним условиям среды, всегда уделялось и уделяется большое внимание в нашей стране и за рубежом. В рамках данной проблемы выполнено большое число исследований. Во всех этих работах пониженные температуры осенне-зимнего времени рассматривались лишь как стрессор. Вместе с тем хорошо известно, что для прохождения полного цикла развития многим растениям холодных областей необходимы пониженные температуры. К ним, в частности, относятся озимые злаки. В.Л. Витковский [1,2] исследовал черную смородину. Интересные данные в этом отношении получены Т.К. Горышиной [3] и В.В. Скрепчинским [5,6]. Они изучали ранневесенние эфемероиды и на холодное время года луковицы и клубни растений переносили в оранжерею. Фаза цветения у таких особей практически полностью выпадала. Пониженные температуры нужны и некоторым видам грибов. Как говорят микологи, им необходим «холодовой шок» [7]. Потребность в холоде испытывают и насекомые [4]. Таким образом, это явление общебиологическое. Однако до настоящего времени в этих случаях практически ничего неизвестно о структурной реакции растений на субклеточном уровне в ответ на пониженную температуру. В известной нам литературе имеется лишь одна работа, выполненная на хлоропластах мезофилла листа тополя [8].

При разработке названной проблемы нами предложен новый подход. Пониженные температуры осенне-зимнего времени рассматриваются не только и не столько как стрессор, но, прежде всего как фактор, необходимый для нормального развития растений.

Нами проведены сравнительные изучения ультраструктуры клеток растений, растущих в открытом грунте и на холодное время года перенесенных в оранжерею. В частности, в рамках проекта были изучены пыльники ранневесеннего эфемероида *Scilla sibirica* (грант № 06-04-49028), интродуцента *Rhododendron luteum* и местного вида *Ribes nigrum* (грант № 09-04-01636а).

Все выбранные виды произрастают на территории Ботанического сада Санкт-Петербурга. Формирование репродуктивных структур у них начинается в июне-июле, а заканчивается весной, таким образом, затрагивает два вегетативных сезона. Особое значение уделяется строению клеток тапетума, как секреторной ткани, способствующей нормальному развитию микроспорцитов. Генеративные почки фиксировали 2 раза в месяц в течение двух вегетационных периодов, захватывая полный цикл их развития «от цветения до цветения» методами рутинной просвечивающей электронной микроскопии. Ультратонкие срезы просматривали и фотографировали на электронном микроскопе Hitachi-H600. Для сравнительного анализа растения *S. sibirica*, *R. luteum* и *R. nigrum* переносили с сентября в оранжерею с постоянной температурой воздуха +20°C.

В начале августа пыльники *S. sibirica*, растущей в парке, содержат одноядерные клетки тапетума с хорошо развитыми органеллами и редкими липидными каплями. Строение микроспорцитов не отличается от строения клеток апикальной меристемы. В конце августа клетки тапетума двуядерные с амилопластами, содержащими, как правило, одно крупное крахмальное зерно. К этому времени образовались тетрады микроспор, окруженные каллозной оболочкой. В сентябре в клетках тапетума крахмал не обнаружен. Микроспоры одноклеточные, одноядерные. В цитоплазме микроспор находятся довольно мелкие амилопласты, заполненные небольшими крахмальными зёрнами, и вакуоль неправильной формы. К концу сентября оболочки клеток тапетума полностью разрушены. К середине октября пыльцевые зёрна двуклеточные. Генеративная клетка мелкая. Вегетативная клетка значительно крупнее. Ее ядро по размеру сопоставимо с ядром генеративной клетки. Амилопласты вегетативной

клетки содержат округлые крахмальные зерна. Митохондрии многочисленны. Они нередко образуют скопления. Около оболочки, разделяющей вегетативную и генеративную клетки, со стороны первой, находятся отдельные липидные капли, резко различающиеся по размерам. К ноябрю содержимое клеток тапетума находится в локуле. Оно представлено, главным образом, массивными электронно-плотными образованиями, между которыми находятся фрагменты цитоплазмы. Обращает на себя внимание то, что цистерны ретикулума находятся главным образом около пластид. С конца декабря до февраля включительно крахмальные зерна вегетативной клетки на срезах имеют вид шестигранника. Это обусловлено тем, что амилопласты буквально забиты крахмальными зёрнами, которые очень плотно упакованы в пластиде. Почти каждая пластида имеет обкладку ГЭР. Мембрана, прилегающая к пластиде, практически лишена рибосом. Значительно крупнее стали липидные капли. Увеличилась их численность. Они почти вплотную прилегают друг к другу.

Растения переносили в оранжерею непосредственно перед наступлением холодов на стадии двуклеточных пыльцевых зёрен. Уже через десять дней после перенесения луковиц в оранжерею около оболочки ядра генеративной клетки сформировались скопления конденсированного хроматина. Все митохондрии в той или иной мере деградированы. У некоторых кристы практически полностью разрушены, матрикс сильно просветлен, в нем выявляются пузыревидные образования. Встречаются митохондрии с оболочкой, имеющей разрывы. В вегетативной клетке митохондрии плотно группируются вокруг ядра. Выявляются и автофаговые вакуоли. Вакуоли формируются и в генеративной клетке, прежде всего, в ее тончайшем слое цитоплазмы, окружающем ядро и в самом ядре. Все эти признаки указывают на то, что в пыльцевых зёрнах происходят процессы апоптоза – запрограммированной смерти клетки. В январе протопласт всех пыльцевых зёрен полностью разрушен.

Таким образом, в парке формирование пыльцевых зёрен у ранневесеннего эфемероида *S. sibirica* начинается с лета и заканчивается весной. У растений, перенесенных в оранжерею, в январе в отсутствие пониженных температур происходит апоптозоподобная деградация пыльцевых зёрен, приводящая к их гибели.

У *Rhododendron luteum*, растущего в парке, репродуктивные структуры начинают дифференцироваться с середины июля. В начале августа отчетливо выявляются микроспороциты, окруженные клетками будущего тапетума. В сентябре проходят этапы мейоза, в результате которого образуются тетрады микроспор, окруженные каллозной оболочкой. В начале октября микроспоры формируют более плотную оболочку, состоящую из эктэкины и эндэкины, за исключением интины. Ядра расположены в центре микроспор. В цитоплазме идет образование небольших вакуолей. С ноября по апрель, включительно, в цитоплазме формируется крупная вакуоль, смещающая ядро и цитоплазму на периферию клетки. В таком состоянии *R. luteum* переносит пониженные температуры зимы и ранневесенние заморозки. В середине мая (за неделю до цветения) образуется генеративная и вегетативная клетки, формируется интина стенки пыльцевого зёрна. В цитоплазме вегетативной клетки выявляются пластиды, содержащие крупные крахмальные зёрна. У рододендрона тетрады не распадаются и связаны друг с другом висциновыми нитями. В таком виде они попадают на рыльце пестика.

Функциональная сезонная активность клеток тапетума неоднородна. Во время мейоза микроспороцитов (сентябрь) клетки тапетума находятся в гиперактивном состоянии. Профили срезов его цистерн ГЭР имеют своеобразную топографию. Нередко выявляются картины, на которых цистерны одним концом примыкают к липидной капле, расходясь от нее в разных направлениях наподобие лучей, а другим концом они нередко примыкают к вакуолям. Цитоплазма клеток тапетума выглядит электронноплотной из-за обилия рибосом. Далее в осенние месяцы в цитоплазме клеток тапетума повсюду наблюдаются параллельно расположенные цистерны шероховатой эндоплазматической сети. В январе цистерны ГЭР собраны в стопки. Цитоплазма клеток сильно везикулирована. В апреле клетки тапетума приобретают вид меристематической клетки. Между плазмалеммой и клеточной стенкой накапливается электронно-плотный секрет – тельца Убиша. В мае наблюдается сильная вакуолизация цитоплазмы с участками клетки с эргастоплазмой. Остатки тел Убиша непосредственно контактируют с экзиной пыльцевых зёрен. В конце мая, когда пыльца полностью созрела, тапетум разрушается. Таким образом, процесс созревания пыльцевого зёрна у *R. luteum* в открытом грунте занимает около 10–11 месяцев и проходит все указанные стадии: стадию микроспороцитов, тетрад микроспор, стадии ранней и поздней вакуолизации, стадию двуклеточных пыльцевых зёрен.

В условиях тропической оранжереи (+20°C) все этапы микроспорогенеза протекают через те же стадии, что и у растений открытого грунта, но в более сжатые сроки и зацветает в январе. У растений этой группы заметно снижается число распутившихся цветков: так из 15 цветков соцветия зацветают только 2–3. Пыльцевые зерна таких распутившихся цветков морфологически полноценны, как и у растений контрольной группы (парк). У остальных нераспутившихся цветков этого соцветия, заложившихся еще с лета, протопласт всех клеток тканей пыльника полностью разрушен.

Таким образом, отсутствие пониженных температур в осенне-зимний период приводит к полной деструкции большинства цветочных почек, расположенных по периферии соцветия. Изменение условий среды феноритмотипа растений, т. е. в условиях нашего эксперимента лишение их пониженных температур в осенне-зимний период, является длительным стрессом для растений и ведет к снижению генеративной функции растений.

Также было проведено сравнительное изучение микроспорогенеза и дифференциации клеток тапетума пыльников *Ribes nigrum*, произрастающих в открытом и закрытом грунте. У растений открытого грунта репродуктивные структуры начинают дифференцироваться с середины августа. Во второй половине августа в заложившихся цветочных почках различимы тычинки с хорошо развитым пучком проводящих тканей. Зачатки пыльников на этой стадии содержат недифференцированные микроспороциты на премейотической стадии. Тапетум представляет собой слой недифференцированных клеток. На субклеточном уровне клетки тапетума и микроспороциты имеют структуру меристематических клеток. Показано, что сезон пониженных температур микроспоры проводят в виде недифференцированных микроспороцитов.

Первые признаки восстановления метаболической активности как недифференцированных клеток тапетума, так и микроспороцитов наблюдаются в марте. На стадии начала дифференциации тапетума и спороцитов происходит пролиферация ядер клеток тапетума, на срезе встречается до двух ядер, содержащих ядрышки с преобладанием гранулярного компонента. Появляются достаточно крупные вакуоли, ГЭР сильно развит и представлен цистернальной формой, рибосомы многочисленны, собраны в полисомы. Пластиды, неправильной амебоидной формы, часто с чашевидными инвагинациями, имеют плотную строу, содержат одиночные тилакоиды и развитый периферический ретикулум. Все эти признаки свидетельствуют о подготовке или начале синтетической функции тапетума. На стадии вакуолизации микроспор тапетум имеет признаки высокой активности. Непосредственно перед раскрытием пыльника, тапетум сохраняет свою структурную целостность, однако ультраструктурные данные свидетельствуют о деградации цитоплазмы, ядер и клеточной стенки со стороны полости пыльника. Таким образом, формирование полностью зрелого пыльцевого зерна происходит у *Ribes nigrum* за 10 месяцев.

Изучение микроспорогенеза в условиях отсутствия низких температур было проведено на растениях, перенесенных в оранжерею с уже заложившимися цветочными почкам. Зачатки пыльников содержат недифференцированные микроспороциты на премейотической стадии. Цветения в условиях оранжереи не наблюдалось. Однако вплоть до апреля встречались цветочные почки, у которых одновременно с отмершими зачатками на оси оставались зачатки без видимых на уровне световой микроскопии структурных повреждений. Судя по ультраструктурным признакам, клетки тапетума и микроспороциты в таких зачатках оставались метаболически неактивны, начиная с момента переноса в оранжерею вплоть до абортирования почек в апреле.

На основании полученных результатов, можно сделать вывод о существовании у растений умеренной зоны как минимум **трех разных стратегий** прохождения стадий микроспорогенеза в течение зимнего периода: на стадии двуклеточного пыльцевого зерна (пролеска сибирская), либо на стадии вакуолизации микроспор (у рододендрона желтого), либо на стадии недифференцированных микроспороцитов (смородина черная).

Таким образом, пониженные температуры осенне-зимнего времени являются жизненно важным фактором, необходимым для нормального развития исследованных растений холодных областей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Витковский В.Л. Влияние пониженной и повышенной температуры в осенне-зимнее время на состояние почек черной смородины // Докл. АН СССР. 1959. Т. 126. № 4. С. 890–893.

2. *Витковский В.Л.* Стадийное развитие почек древесных растений // Физиол. раст. 1963. Т. 10. № 2. С. 148–157.
3. *Горышина Т.К.* Регулирование ритма сезонного развития ранневесенних дубравных эфемероидов в экспериментальных условиях // Физиол. раст. 1965. Т. 12. № 3–4. С. 549–550.
4. *Горышина Т.К.* Экология растений. М.: Высшая школа. 1979. 368 с.
5. *Скрипчинский В.В., Скрипчинский Вл. В.* Влияние пониженной температуры на рост и развитие весеннецветущих растений Северного Кавказа и вопрос об их происхождении // Бот. журн. 1961. Т. 46. № 7. С. 949–958.
6. *Скрипчинский В.В., Скрипчинский Вл. В., Шевченко Г.Г.* Роль температуры в годичном цикле развития весенних геофитов Северного Кавказа // Бот. журн. 1968. Т. 53. № 9. С. 1233–1245.
7. *Яковлев А.Ю., Боровский Г.Б., Пензина Т.А., Петров А.Н., Войников В.К.* Влияние отрицательных температур на рост мицелия и жизнеспособность плодовых тел некоторых высших ксилотрофных базидиомицетов // Микология и фитопатология. 2000. Т. 34. № 6. С. 56–62.
8. *Sagisaka S.* A cold environment is prerequisite for formation of «plastid initials» in winter buds of poplar // Plant Physiol. 1992. №. 4. Vol. 99. P. 1657–1663.

INTENSIVITY PHOTOSYNTHESIS OF EARLY AND LATE LEAFAGE FORM OF OAK COMMON IN CONDITIONS UNSUFFICIENT MOISTENING

Molchanov A.G.

Forest Science Institute RAS, Uspenskoe, Moscow obl. E-mail: root@ilan.ras.ru; a.georgievich@gmail.com

Abstract. The researches conducted in the Voronezh province in Tellerman Experimental Forest District RAS. The experimental sites were in 250-year's field-maple oak forest III- bonitet on a slope of a southern exposition with a level of ground waters about 8–9 m., where the late leafage form (LF) of trees of an oak predominated. The radicals of an oak of this form achieve capillary fringe ground. In one and too time in parallel researches also were conducted in solonchak oak forest, where the early leafage form (EF) of an oak predominated. Solonchak oak forest Vб of a class bonitet, the rooted systems master in a main superficial surface stratum of soil (10–40 cm). Researches conducted in conditions insufficient water usage, when predawn water potential of pages was –1,5 MPa. Because of day time during of intensity of a photosynthesis and light curves of a photosynthesis obtained in cloudy and sunny days came to a conclusion, that the early form of an oak common (*Quercus robur*), on a comparison with the late form oak, transfers defect much better water usage and it explains that the oak of the early form is dated for dry and very dry conditions habitat area. In more favorable conditions, it is the form of an oak can not compete to the late form, since more frequently is subjected in vernal early forest and vernal leaf beetle of insects.

ИНТЕНСИВНОСТЬ ФОТОСИНТЕЗА РАНО- И ПОЗДНОРАСПУСКАЮЩИХСЯ ФОРМ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО В УСЛОВИЯХ НЕДОСТАТОЧНОГО УВЛАЖНЕНИЯ

Молчанов А.Г.

Институт лесоведения РАН, с. Успенское, Московская обл., Одинцовский р-н.
E-mail: root@ilan.ras.ru; a.georgievich@gmail.com

Исследования проводили в Воронежской обл. в Теллермановском опытном лесничестве. Опытные площадки находились в 250-летней полево-кленовой дубраве III- бонитета на склоне южной экспозиции с уровнем грунтовых вод около 8–9 м, где преобладала поздняя форма (ПФ) деревьев дуба. Корни дуба этой формы достигают капиллярной каймы грунтовых вод. В одно и тоже время параллельные исследования проводили в солонцевой дубраве, где преобладала ранняя форма (РФ) дуба. Солонцевая дубрава Vб класса бонитета. Корневые системы дуба осваивают в основном неглубокий поверхностный слой почвы (10–40 см). Исследования проводили в условиях недостаточной водообеспеченности, когда предрассветный водный потенциал листьев был –1,5 МПа. На основе дневного хода интенсивности фотосинтеза и световых кривых фотосинтеза, полученных в пасмурные и малооблачные дни, пришли к выводу, что ранняя форма дуба черешчатого, по сравнению с поздней, значительно лучше переносит недостаток влагообеспечения, и этим объясняется