

## Литература

1. Основы биотехнологии высших грибов: учеб. пособие./ Н.А. Заикина, А.Е. Коваленко, В.А. Галынкин [и др.]. – СПб.: Проспект науки, 2007. – 336 с.
2. Жизнь растений: в 6 т. Т.2. Грибы / под. ред. проф. М.В. Горленко. – М.: Просвещение, 1976. – 479 с.
3. Кутафьева Н.П. Морфология грибов: учеб. пособие. – 2-е изд., испр. и доп. – Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2003. – 215 с.
4. Практикум по микробиологии: учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / А.И. Нетрусов, М.А. Егорова, Л.М. Захарчук [и др.]. – М.: Академия, 2005. – 608 с.
5. Высшие съедобные базидиомицеты в поверхностной и глубоководной культуре/ Н.А. Бисько, А.С. Бухало, С.П. Вассер [и др.]; под общ. ред. И.А. Дудки. – Киев: Наук. думка, 1983. – 312 с.
6. Билай В.И. Методы экспериментальной микологии. – Киев: Наук. думка, 1973. – 545 с.
7. Экспертиза грибов: учеб.-справ. пособие / И.Э. Цапалова, В.И. Бакайтис, Н.П. Кутафьева [и др.]. – Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2002. – 256 с.
8. Методы экспериментальной микологии: справ. / отв. ред. В.И. Билай; Академия наук Украинской ССР, Ин-т микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного. – Киев: Наук. думка, 1982. – 550 с.



УДК 581.34:582.475.2

Н.Е. Носкова, Л.И. Романова

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА МУЖСКИХ ГЕНЕРАТИВНЫХ ОРГАНОВ  
У ЛИСТВЕННИЦЫ СИБИРСКОЙ И СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В УСЛОВИЯХ ИЗМЕНЕНИЯ  
КЛИМАТА В СИБИРИ**

*В статье рассмотрено влияние температуры воздуха на состояние мужских генеративных органов лиственницы сибирской и сосны обыкновенной в осенне-зимний период. В ходе исследований установлено смещение сроков развития мужских генеративных органов у данных видов хвойных в аномальные годы с продолжительной и теплой осенью в г. Красноярске и его окрестностях, что ведет к формированию стерильной пыльцы и снижению продуктивности шишек и семян.*

**Ключевые слова:** лиственница сибирская, сосна обыкновенная, климатические изменения, микро-спорогенез, микро-спороциты, мейотические деления, генеративные органы.

N.E. Noskova, L.I. Romanova

**STRUCTURAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF THE MALE GENERATIVE ORGANS OF SIBERIAN  
LARCH AND SCOTCH PINE IN THE CONDITIONS OF CLIMATE CHANGE IN SIBERIA**

*The influence of air temperature on the male generative organ state of Siberian larch and Scotch pine in the autumn-winter period is considered in the article. In the course of these studies the time offset of the male generative organ development of these conifer types in abnormal years with long and warm autumn in Krasnoyarsk city and its surroundings that leads to the sterile pollen formation and cone and seed productivity decrease is determined.*

**Key words:** Siberian larch, Scotch pine, climate change, micro-sporogenesis, micro-sporocytes, meiotic division, generative organs.

**Введение.** Глобальное потепление сопровождается постепенным изменением климата в разных регионах Земли [6]. Установлено, что климат территории России наиболее чувствителен к глобальному потеплению, чем климат других регионов земного шара [3]. При этом в Сибири часто наблюдается раннее наступление весны, на протяжении ряда лет стабильно прослеживается задержка наступления зимы на 1–2 недели, а в отдельные годы и на более продолжительный период [2].

Увеличение длительности весеннего и осеннего сезонов вызвало характерный ответ в поведении адаптированных к местным сезонным температурным условиям видов животных и растений, а также продвижение зональной растительности в северном направлении и выше в горы; увеличение массы зеленого покрова [7]. Хвойные неоднозначно ведут себя в новых условиях. Было выявлено положительное влияние климатических изменений на ростовые характеристики сосны обыкновенной и лиственницы сибирской [5], показана экспансия лесных сообществ лиственницы в тундровую зону за последние десятилетия [1]. В то же время отмечено ухудшение посевных качеств семян у лиственницы и сокращение доли лиственницы в лесах на границе южной тайги и лесостепи [4].

**Цель исследования.** Выявление возможных структурно-функциональных изменений, происходящих в мужских генеративных органах лиственницы сибирской и сосны обыкновенной, произрастающих в г. Красноярске и его окрестностях, в условиях изменившегося климата Сибири.

**Объекты и методы исследования.** Объектом исследования послужили деревья сосны обыкновенной и лиственницы сибирской, произрастающие в различных районах г. Красноярска и его окрестностях: сосна обыкновенная (пгт. Березовка, Академгородок, Погорельский ОЭП, платформа Бадаложный); лиственница сибирская (р-н Набережной р. Енисей, р-н Нефтебазы, Академгородок, Погорельский ОЭП).

В течение 1999–2010 гг. регулярно отбирались образцы мужских почек, микростробилов и пыльцы в осеннее-зимний период и весной во время формирования пыльцы и пыления. Образцы фиксировали спиртово-уксусной смесью [8]. Для окрашивания препаратов использовали кармин по Гренахеру [9], ацетогематоксилин [10] или сафранин [11] 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 жизнеспособности: содержание крахмала в пыльце, прорастание в 15 %-м растворе сахарозы [12]. Семенная продуктивность макростробилов оценивалась по Е.Г. Мининой и И.Н. Третьяковой [13], вес 1000 семян и качество семян определяли рентгенографическим методом [14]. 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 исследования и их обсуждение.** Развитие генеративных органов у сибирских хвойных связано с видовыми свойствами. В июле, после остановки роста побегов, закладываются вегетативные и генеративные почки, в них идут активные процессы морфогенеза. Лиственница сибирская и сосна обыкновенная – основные лесобразующие виды бореальной зоны, прекрасно адаптированы к местным температурным условиям. Развитие микроспорифиллов в мужских генеративных почках у лиственницы происходит наиболее быстрыми темпами. Осенью в мужских генеративных почках лиственницы сибирской формируются микроспорифиллы с микроспорангиями, в которых развиваются клетки археспория. В начале октября клетки археспория дифференцируются в микроспорциты, вступают в профазу 1 мейоза и на стадии диплотены зимуют. Весной, в марте следующего года мейоз завершается, формируются зрелые пыльцевые зерна (конец апреля – начало мая).

У сосны обыкновенной формирование мужских генеративных почек идет медленнее. Осенью в мужских почках закладываются клетки археспория, а процессы микроспорогенеза, развитие мужского гаметофита и пыление проходят следующей весной, обычно в мае – начале июня. Развитие мужских генеративных органов у обоих видов тесно связано с температурой воздуха.

Исследования мужских генеративных побегов у лиственницы сибирской показали, что в окрестностях г. Красноярска в аномальные годы с продолжительной и теплой осенью микроспорциты уходили в зиму на стадии диакинеза, более продвинутой стадии профазы I (рис. 1). Зимой, при частых оттепелях от 0 до +4 °С, микростробилы лиственницы сибирской увеличивались в размерах и приобретали желтый цвет. Цитологический анализ показал наличие в них деградирующих диад и тетрад микроспор, а также редуцированных пыльцевых зерен, что свидетельствует о прошедших редуцированных делениях. Массовое образование деградирующих диад и тетрад в зимний период при оттепелях приводило к слабому пылению лиственницы весной.

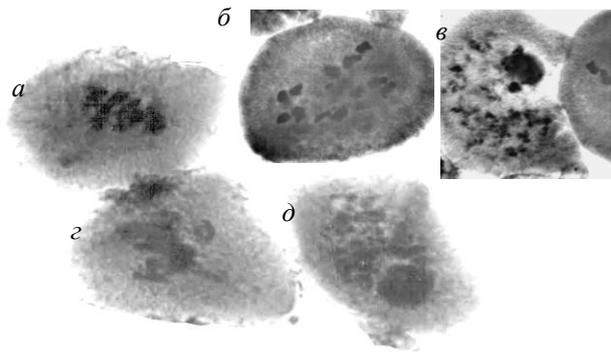


Рис. 1. Мейоз в микроспорах лиственницы сибирской: а – метафаза I; б – диакинез; в – диффузная стадия; з – поздняя профаза I; д – ранняя профаза I

При внесении веток лиственницы зимой в тепло и погружении их в воду в течение двух недель происходило появление брахибластов, достигающих длины в среднем 0,5–0,7 см. Далее происходило высыпание одноклеточной пыльцы из микростробилов. При хранении веток лиственницы с мужскими генеративными почками на стадии профазы I в условиях холодильной камеры при температуре 0 +4 °С в течение двух недель мейоз завершался, наблюдалось формирование пыльцевых зерен. Таким образом, у лиственницы при низких положительных температурах *in vivo* и *in situ* возобновлялись мейотические деления и формировались одноклеточные пыльцевые зерна. Следовательно, в генеративных органах 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 – начале апреля, в период низких положительных температур. Мейоз у лиственницы в г. Красноярске и его окрестностях проходил в конце марта – начале апреля при среднесуточных температурах воздуха, часто около нуля. Интересно отметить, что во всех условиях произрастания у лиственницы сибирской при прохождении редукционного деления наблюдалось большое число нарушений (рис. 2). При этом было установлено, что наиболее широкий спектр хромосомных нарушений был выявлен в микроспорах лиственницы сибирской, произрастающей в условиях промышленного загрязнения. Анализ аномальных мейоцитов показал, что наибольшее количество нарушений наблюдалось на стадии анафазы – телофазы II. Значительную долю нарушений составляло расщепление веретена деления с образованием триад, эта аномалия встречалась только в условиях загрязнения. Фрагменты в метафазах первого деления клеток лиственницы из загрязненного района встречались в два раза чаще, чем в мейоцитах из фоновых насаждений. Также выявлен выброс хромосом за пределы веретена в клетках изучаемого объекта в условиях загрязнения больший по сравнению с контролем. Все наблюдаемые нарушения в мейозе сказывались на качестве пыльцевых зерен у лиственницы. В начале мая у лиственницы в микроспорах проходили три-четыре деления с образованием зрелой пыльцы, состоящей из 2–3 клеток.

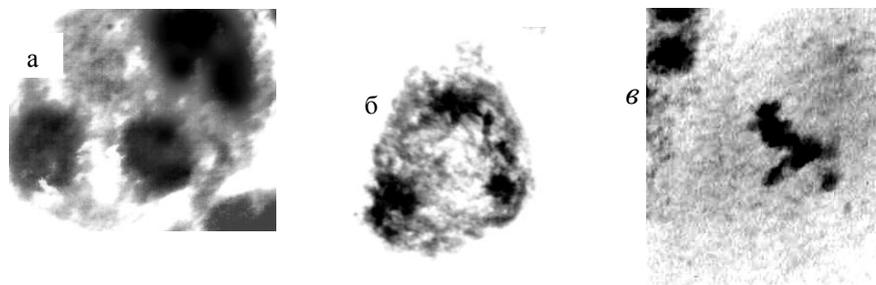


Рис. 2. Нарушения в мейозе у лиственницы сибирской: а – расщепление веретена при первом делении, с образованием триады; б – расщепление веретена при первом делении с образованием триады, разорванный хромосомный мост; в – выброс хромосом за пределы веретена деления, х500

Известно, что зрелые пыльцевые зерна лиственниц окружены очень толстой экзиной, которая предотвращает их от неблагоприятных воздействий природных факторов в период формирования и препятствует прорастанию пыльцы. Даже в условиях *in vitro* зрелые пыльцевые зерна лиственницы не прорастают на питательных средах. Однако в период редукционного деления и формирования микроспор мужские генеративные структуры лиственницы не имеют толстой оболочки и очень сильно подвержены негативному воздействию факторов внешней среды. Отсутствие у лиственницы органического покоя и нормальных покровов в осенне-зимний период привело к тому, что при низких отрицательных температурах происходила массовая гибель микроспор и, как следствие, гаметогенез выпадал из цикла развития, что в свою очередь оказывает негативное влияние на процесс опыления семян и формирование урожая у лиственниц.

На основании проведенных исследований можно заключить, что редкие семенные годы у лиственниц обусловлены погодными условиями в период формирования пыльцы. При отрицательной температуре воздуха зимой микростробилы лиственницы находятся в вынужденном покое и при теплой продолжительной осени и мягкой зиме могут продолжать свое развитие, что имеет негативные последствия при наступлении морозного периода. Более того, заморозки, наблюдаемые в отдельные годы в период формирования мужского гаметофита, нарушают нормальный ход формирования спородермы. В результате экзина формировалась тонкой и при легком нажиме на пыльцевое зерно разрывалась (рис. 3). Вследствие этого феномена пыльцевые зерна лиственницы прорастали на искусственных средах без всякой химической предобработки. Завершение мейоза у микроспороцитов ранней весной при положительных температурах воздуха (даже около 0 °C) приводит к формированию полноценных пыльцевых зерен, окруженных толстой оболочкой, которая защищает содержимое пыльцевого зерна от внешних воздействий.

У сосны обыкновенной в условиях Сибири процессы микроспорогенеза в почках идут весной следующего после заложения почек года. Однако в годы с продолжительной и теплой осенью развитие мужских генеративных органов у сосны оказалось более продвинутым. В условиях достаточно высоких осенних температур в течение продолжительного периода клетки археспория сосны успевали пройти митотические деления, дифференцировались микроспороциты, которые вступали в первую фазу мейотического деления, и относительно короткий покой в диплоте у сосны растягивался на долгие зимние месяцы. Микроспороциты у сосны обыкновенной, как и у видов *Larix*, зимовали в состоянии профазы I, однако при оттепелях зимой мейоз не завершали.

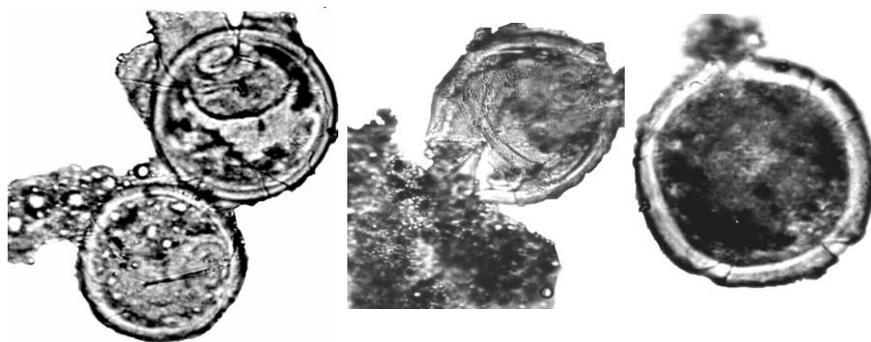


Рис. 3. Слабая, чувствительная к механическому воздействию экзина у пыльцы лиственницы сибирской

Редукционное деление в микроспороцитах сосны обыкновенной, при смещении сроков запуска микроспорогенеза, возобновлялось в начале мая следующего года развития, с минимальным накоплением эффективных температур (49–55 градусо-дней) и при пороговом значении среднесуточной температуры в пределах 10–12 °C завершалось. Для запуска второго деления мейоза также необходимо пороговое значение температуры. При похолодании в период микроспорогенеза эквационное деление задерживалось до наступления благоприятных температур. Оба деления микроспорогенеза проходили с высоким уровнем аномалий (до 40 %, табл.). В ходе дальнейшего развития примерно 29–32 % мейоцитов с нарушениями в ходе мейоза деградировали. Неутилизированные мейоциты в процессе дальнейшего развития формировали аномальные пыльцевые зерна (30–80 %).

## Частота встречаемости мейоцитов с нарушениями деления

Нарушение	Процент
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

Формирование пыльцы у сосны обыкновенной шло асинхронно у разных деревьев и в пределах одного микростробила. Сроки и длительность этапов развития пыльцы варьировали в зависимости от температуры. В ходе гаметофитогенеза шло развитие пыльцевых оболочек, стремительный рост размеров пыльцевых зерен, которые достигли максимальных размеров за два-три дня до начала пыления и составили 106–116 % от размеров зрелого пыльцевого зерна. В последующие дни размеры пыльцевых зерен уменьшались в связи с подготовительными процессами, предшествующими пылению. Первые проталлиальные деления при формировании пыльцы у сосны обыкновенной зарегистрированы за неделю до начала пыления. За три дня до начала пыления в образцах встречались пыльцевые зерна с 1 и 2 проталлиальными клетками. Перед началом пыления наблюдалось истончение интины и заполнение воздухом мешков пыльцевого зерна. Влажная погода задерживала процессы подготовки и начала пыления. При установлении же сухой и теплой погоды 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 проталлиальных 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. Тест на крахмал показал слабое накопление углевода в зрелых пыльцевых зернах (20–50 %). Такая пыльца слабо прорастала на питательных средах, а в отдельные годы была полностью стерильной. У прораставших гаметофитов пыльцевые трубки часто были «забиты» каллозными пробками, что препятствовало перемещению ядра вегетативной клетки и генеративной клетки в трубку. Такие пыльцевые трубки не превышали в длину 1–1,5 диаметра тела пыльцевого зерна и быстро лизировали. Низкое качество пыльцы обусловило низкую семенную продуктивность у сосны обыкновенной в исследуемые годы.

Техногенное загрязнение оказало еще более негативное влияние на формирование мужского гаметофита у сосны обыкновенной. В техногенных районах переход к осеннему запуску процессов мейоза произошел, как и у лиственницы сибирской, несколько раньше, чем в районах, менее загрязненных. Наблюдалось усиление нарушений под воздействием поллютантов в период мейоза и значительное снижение качества пыльцы.

Таким образом, формирование пыльцы у лиственницы сибирской и сосны обыкновенной в условиях изменившегося в последние годы климата имело свои особенности: мейоз в микроспороцитах начинался осенью и заканчивался весной следующего года (у лиственницы в начале апреля, у сосны в начале мая). Мейотические деления проходили с многочисленными нарушениями, во многих случаях в микроспорах отсутствовали проталлиальные деления. В результате наблюдалось большое количество аномальной пыльцы, в том числе одноядерной, не способной формировать пыльцевые трубки. Ранний мейоз, большое количество нарушений в процессе мейотических делений и формирования гаметофитов привели к образованию стерильной пыльцы, слабому пылению и, как следствие, к слабому (или полному отсутствию) урожаю шишек и семян. Стерильность пыльцы возрастала в районах с высокой техногенной нагрузкой.

## Литература

1. Абаимов А.П., Бондарев А.П. Эколого-географические особенности притундровых лесов Средней Сибири и организация хозяйства в них // Проблемы притундрового лесоводства. – Архангельск, 1995. – С. 42–55.

2. Государственный доклад «О состоянии и охране окружающей среды в Красноярском крае за 2010 год». – Красноярск, 2011. – 280 с.
3. Оценочный доклад об изменениях климата и их последствиях на территории Российской Федерации (общее резюме) / под ред. Т.В. Лешкевич. – М., 2008. – 28 с.
4. Павлов И.Н., Миронов А.Г. Динамика посевных качеств семян *Larix sibirica Ledeb.* в насаждениях юга Сибири с 1936 по 2000 г. // Хвойные бореальной зоны. – 2003. – Вып. 1. – С. 14–21.
5. Gerald Assessing population responses to climate in *Pinus sylvestris* and *Larix* spp. of Eurasia with climate-transfer models / E. Rehfeldt [et al.] // Eurasian J. For. Res. – 2003. – 6-2: 83-98.
6. Recent Climate Observations Compared to Projections / S. Rahmstorf [et al.] // Science. – 2007. – V. 316. – P. 709.
7. Чебакова Н.М., Парфенова Е.И., Монсеруд Р.А. Прогноз изменения фитомассы лесов в широтных и высотных зонах при потеплении климата // Лесные экосистемы Енисейского меридиана. – Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2002. – С. 252–264.
8. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. – М.: Колос, 1980. – 304 с.
9. Фрайштат Д.М. Реактивы и препараты для микроскопии. – М.: Химия, 1980. – 480 с.
10. Смирнов Ю.А. Ускоренный метод исследования соматических хромосом // Цитология. – 1968. – № 2.
11. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. – М.: Колос, 1980. – 304 с.
12. Третьякова И.Н. Эмбриология хвойных. – Новосибирск: Наука, 1990. – 157 с.
13. Минина, Е.Г. Геотропизм и пол у хвойных. – Новосибирск: Изд-во СО АН СССР, 1983. – 199 с.
14. Семена древесных пород. Методы рентгенографического анализа. ОСТ 56-94-87. – 1988. – 23 с.



УДК 597.2 (075.8)

С.Ю. Отева, Д.Е. Полонская

#### ВСТРЕЧАЕМОСТЬ НЕТУБЕРКУЛЕЗНЫХ МИКОБАКТЕРИЙ У НАСЕЛЕНИЯ г. КРАСНОЯРСКА

*В статье представлены результаты исследования штаммов нетуберкулезных микобактерий от больных, проживающих в неблагоприятных природно-климатических условиях.*

*Установлена тенденция роста частоты встречаемости нетуберкулезных микобактерий у впервые выявленных больных туберкулезом легких, проживающих в экологически неблагоприятных условия г. Красноярск.*

**Ключевые слова:** население, нетуберкулезные микобактерии, микобактериоз, окружающая среда, г. Красноярск.

S.Yu. Oteva, D.E. Polonskaya

#### THE OCCURRENCE OF NON-TUBERCULOSIS MYCOBACTERIA AMONG KRASNOYARSK CITY POPULATION

*The research results of non-tuberculous mycobacteria strains from patients living in unfavorable climatic conditions are presented in the article.*

*The growth tendency of non-tuberculous mycobacteria occurrence frequency of newly diagnosed pulmonary tuberculosis patients living in Krasnoyarsk city ecologically unfavorable conditions is determined.*

**Key words:** population, non-tuberculous mycobacteria, mycobacteriosis, environment, Krasnoyarsk city.

---

**Введение.** Род микобактерий, по определителю Берджи (1997 г.), насчитывает более 50 видов и подвидов микобактерий и по способности вызывать заболевания человека и животных микобактерии их условно делят на три группы. В первую из них входят патогенные для человека и животных виды *Mycobacterium tuberculosis*, *M.bovis*, *M.africanum*, *M.microti* и *M.canettii*, вызывающие туберкулез человека и крупного рогатого скота, *M. leprae* – возбудитель заболевания проказы. Во вторую группу входят сапрофитные микобактерии, которые распространены в окружающей среде и, как правило, не опасны для человека. Промежуточное по-