

М.С. Ямбуров

**СТРУКТУРА МУЖСКИХ ПОБЕГОВ И КАЧЕСТВО ПЫЛЬЦЫ
«ВЕДЬМИНОЙ МЕТЛЫ» СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ
(*PINUS SYLVESTRIS* L.)**

Аннотация. Проведён сравнительный анализ особенностей роста и структуры побегов мужской сексуализации, а также качества пыльцы ветвей «ведьминой метлы» и нормальной части кроны у сосны обыкновенной.

Ключевые слова: «ведьмина метла», качество пыльцы, структура побега, сосна обыкновенная, *Pinus sylvestris*.

Очень редко у сосны обыкновенной и других древесных растений формируются так называемые «ведьмины мётлы» (далее ВМ). ВМ представляет собой локальную систему ветвления с аномальным морфогенезом. Стороннему наблюдателю она видится как компактный и очень плотный фрагмент кроны дерева (рис. 1).



Рис. 1. «Ведьмина метла» в кроне сосны обыкновенной

В зависимости от причины возникновения выделяют два типа ВМ: *паразитарные* и *мутационные* [1]. Паразитарные ВМ – результат инвазии растения патогенными организмами. В роли патогенов могут выступать грибы, микоплазмы и вирусы [2–4]. Паразитарные ВМ характеризуются очаговым распространением, болезненным видом, гибелью хвои, угнетением репродуктивной функции и общей тенденцией к отмиранию. Яркий пример – поражение пихты сибирской (*Abies sibirica* Ledeb.) ржавчинным грибом *Melam-*

psorella caryophyllacerum G. Schrot. (= *M. Cerastii* Wint.) [5]. Под действием продуктов метаболизма гриба происходит снятие покоя латентных почек заражённой ветви, вследствие чего формируется ВМ, состоящая из большого числа тонких веточек.

Причина возникновения ВМ второго типа – мутационные изменения в меристеме одной-единственной почки [6], приводящие к нарушению апикального контроля. Поскольку растения являются модульными организмами [7], то вся система побегов, которая образуется из такой почки, будет иметь мутацию. У сосны обыкновенной обильное ветвление мутационных ВМ обеспечивается избыточным заложением боковых почек на весенних побегах и нередко образованием вторых приростов (летних побегов) с мутовкой почек [8]. ВМ мутационного типа отличаются от паразитарных спорадическим распространением, нормальной жизнеспособностью и наличием плодоношения. В них не удаётся обнаружить каких-либо патогенов или следов их жизнедеятельности [9]. Такие мутации относятся к естественным, но у деревьев в природных условиях встречаются крайне редко.

Мутационные ВМ с женским цветением встречаются чаще, чем с мужским. В связи с этим мужская репродуктивная сфера ВМ остаётся почти не изученной. Цель данной статьи – отчасти восполнить этот пробел. В работе представлены результаты исследования структуры побегов мужской сексуализации и качества пыльцы ВМ сосны обыкновенной.

ВМ была обнаружена в средней части кроны (мужском ярусе), на ветви II порядка ветвления. Дерево произрастает в 30 км южнее г. Томска, в окрестностях научного стационара «Кедр» ИМКЭС СО РАН. Для исследования во время пыления с ВМ собирали 8-летние ветви (10 шт.) III порядка ветвления. Для сравнения столько же ветвей собиралось с нормальной части кроны того же дерева (далее НК). Ветви НК брали такого же порядка, что и ВМ, с той же части кроны и экспозиции. У побегов ретроспективно восстанавливали количество и типы закладывавшихся органов. Ограничение исследования только 8-летних ветвей вызвано невозможностью точной идентификации следов органов у 9-летних и старше побегов. На ветвях III и младших порядков ветвления подсчитывали число стерильных катафиллов (чешуй в основании побега), микростробилов (мужских шишек), брахибластов (укороченных побегов, несущих хвою) латентных почек и латеральных ауксибластов (побегов регулярного ветвления). Помимо этого, измерялась общая длина побега, а также его генеративной и вегетативной зон. Размеры микростробилов измерялись под биноклем, а пыльцевых зёрен – под микроскопом.

У пыльцы измерялась длина и высота тела зерна и воздушного мешка. Вычислялась доля нормально развитой пыльцы и аномальной (с морфологическими отклонениями). У аномальной пыльцы определялся процент дегенерировавшей (мелкая и сморщенная пыльца), одноклеточной (без воздушных мешков) и пыльцы с одним воздушным мешком. У нормальной пыльцы (без морфологических нарушений) устанавливали процент фертильной и стерильной. Фертильность определялась по гистохимической реакции запасенного в пыльце крахмала с раствором Люголя [10]. Фертильной считалась пыльца, тело которой заполнено крахмалом полностью или больше чем на

2/3 объёма; стерильной – пустые зёрна и только со следами крахмала. Кроме того, подсчитывались зёрна, заполненные от 1/3 до 2/3 объёма. Корреляции признаков и дисперсионный анализ значимости различий между средними значениями проводили в программном пакете Statistica 6.0.

За 8 лет из боковой почки на побеге II порядка ветвления у ВМ формируется система ветвей, содержащая 5 порядков, у НК – не более 4. Характеристики годичных побегов разных порядков представлены в табл. 1. Побег ВМ на 35–40% толще НК. По длине побеги III порядка не отличаются от НК, но имеют разное соотношение генеративной и вегетативной зон. У ВМ генеративная зона составляет 1/2, а у НК – 2/3 побега. По общему количеству метамеров (стерильные катафиллы, микростробилы, брахибласты, латентные почки, ауксибласты), закладываемых на единицу длины побега, ВМ и НК не различаются. Побег ВМ IV и V порядков длиннее НК на 30 и 17% соответственно за счёт увеличения вегетативной зоны. Ветви НК и ВМ находятся под разной степенью апикального контроля. Побег IV порядка НК короче предыдущего на 41%, ВМ – на 25%, а следующий порядок у обоих вариантов короче на 34–39%; побег VI порядка ВМ короче предыдущего на 15% (у НК отсутствуют). В табл. 1 для ВМ и НК приведены средние значения характеристик побегов IV–VI порядков всех годов кроме самого первого (побег в первый год на ВМ и НК по всем ростовым характеристикам уступают последующим на 35–40%).

Таблица 1

Морфологические характеристики побегов разных порядков ветвления ВМ и НК

Признак	III		IV		V		VI
	НК	ВМ	НК	ВМ	НК	ВМ	ВМ
Диаметр побега, мм	3,1 _а	4,2 _б	2,3 _а	3,2 _б	2,0 _а	2,7 _б	2,2
Длина побега, мм	31,1 _а	31,5 _а	18,3 _а	23,5 _б	12,2 _а	14,3 _б	12,1
Длина генеративной зоны, мм	21,1 _а	16,7 _б	12,1 _а	12,4 _а	7,8 _а	8,9 _а	7,2
Микростробилы, шт.	33,4 _а	25,4 _б	20,2 _а	20 _а	10,3 _а	10 _а	7
Длина микростробилов, мм	7,8 _а	6,0 _б	6,3 _а	5,5 _б	5,5 _а	4,5 _б	4,0
Ауксибласты, шт.	0,7 _а	1,4 _б	0,3 _а	0,9 _б	0	0,2	0

Примечание. Здесь и далее при разных буквенных индексах признака одного порядка ветвления у НК и ВМ различия статистически значимы ($p \leq 0,05$), если индексы одинаковые – статистически значимых различий нет.

Продуктивность побегов (отношение количества микростробилов к длине генеративной части побега) уменьшается с III порядка к V на 20% у НК и на 36% у ВМ. Количество микростробилов на побегах III порядка НК положительно коррелирует с длиной побега и генеративной зоны, а также с количеством брахибластов и отрицательно – с диаметром побега ($r = 0,69; 0,57; 0,61$ и $-0,41$ соответственно). С увеличением порядка ветвления корреляция для вышеперечисленных признаков усиливается и на V порядке имеет следующие значения: $r = 0,93; 0,87; 0,94$ и $-0,82$.

Побеги III порядка ВМ имеют более слабую корреляцию этих признаков ($r = 0,33; 0,60; 0,32$ и $-0,37$), но к V порядку корреляция усиливается, превосходит НК ($r = 0,98; 0,94; 0,53$) и становится положительной с диаметром побега ($r = 0,36$).

Ветвление ВМ в несколько раз превосходит НК. В НК закладывается только по 1 ауксибласту и много побегов вообще без ветвления, а у ВМ большая часть побегов III порядка имеет по 2 ауксибласта и ветвление происходит даже на V порядке, что приводит к формированию более сложной структуры ветвления. По количеству латентных почек ВМ и НК не отличаются и закладывают одну в верхней части побега ниже зоны ауксибластов. Образование побегов из латентных почек у НК и ВМ единично.

В общей сложности за 8 лет на каждой ветви НК заложилось по 671 микростробилу, на ВМ – в 2,8 раза больше – 1939 (отличия достоверны при $p \leq 0,01$). У НК 40 и 57% микростробилов образовалось на побегах III и IV порядков. У ВМ на побегах III порядка образовалось только 9% микростробилов, а основной вклад в мужское цветение вносят побеги IV и V порядков – 44 и 35% соответственно, 11% образовалось на побегах VI порядка. Микростробилы ВМ короче НК на 10–23% по длине и на 6% тоньше по ширине (см. табл. 1).

По морфологическим показателям пыльцы (длина и высота тела зерна и воздушного мешка) достоверных отличий между вариантами не выявлено (табл. 2). Однако в пыльце ВМ в 2 раза больше зёрен с морфологическими отклонениями (23,2%), из них 17,4% – деградированная пыльца (мелкая и сморщенная), 3,6% – пыльца с одним воздушным мешком и 2,2% – одноклеточная пыльца (без воздушных мешков). По содержанию крахмала в нормально развитых зёрнах ВМ и НК отличаются незначительно: у ВМ на 5% меньше неполных зёрен, но чуть больше фертильных и пустых (на 3 и 2% соответственно).

Таблица 2

Морфометрические показатели пыльцевого зерна

Вид кроны	Тело зерна		Воздушный мешок	
	Длина, мкм	Высота, мкм	Длина, мкм	Высота, мкм
НК	43,6 _a	36,3 _a	27,9 _a	33,3 _a
ВМ	45,2 _a	37,8 _a	28,5 _a	34,0 _a

До сих пор неизвестно, какая мутация и как вызывает нарушение апикального контроля, приводящее к морфологическим изменениям и образованию ВМ у хвойных. Рост и структура побегов хвойных зависят как от внутренних, так и от внешних факторов. Последние в нашем случае не представляют интереса. Возможно, внутренняя причина, вызывающая образование аномальной формы роста, – это нарушения гормонального фона. Ауксин является основным гормоном, определяющим характер роста и структуру побега, а также апикальный контроль и апикальное доминирование. Здесь и далее автор придерживается точки зрения Б. Вильсона о необходимости различать термины «апикальное доминирование» и «апикальный контроль»: под первым понимается доминирование верхушечной почки над боковыми (широко

распространено у травянистых растений, а у древесных существует только в первый год роста побега), под вторым – контроль лидирующим побегом линейного и радиального роста боковых ветвей в последующие годы [11, 12]. У арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) описаны мутации генов, отвечающих за синтез и транспорт ауксина и его предшественников, приводящие к карликовости, а также к нарушениям апикального доминирования и морфогенеза (изменение листьев, цветков и корней) [13].

Вполне возможно, что мутация типа ВМ у хвойных имеет такую же природу, но ослабления апикального доминирования не происходит или оно незначительное, а вот апикальный контроль ослабевает. Уменьшение на 35–40% ростовых характеристик побегов младших порядков ветвления в первый год (по сравнению со старшим) и увеличение ростовых характеристик в последующие годы говорит в пользу данной гипотезы. Это может быть связано именно с нарушением активного транспорта ауксина: на близких расстояниях его концентрации хватает для осуществления апикального доминирования, но на дальних его уже недостаточно для полноценного апикального контроля. Ослабление апикального контроля побега над осями младших порядков ветвления, по-видимому, позволяет им закладывать больше ауксибластов.

В образующихся новых апексах, являющихся дополнительными акцепторами питательных веществ, индуцируется большая закладка органов ассимиляции – брахибластов, несущих хвою, что увеличивает вегетативную зону побегов ВМ в ущерб генеративной зоне, где недостаток ауксина сказывается на уменьшении размеров микростробиллов и приводит к образованию большего процента пыльцевых зёрен с морфологическими отклонениями. Однако гистохимический тест не выявил среди нормально развитых пыльцевых зёрен существенных изменений в накоплении крахмала, что говорит о способности ВМ образовывать фертильную пыльцу.

В литературе много работ посвящено исследованию селекционной ценности ВМ и характеру наследования мутантных признаков у семенного потомства [14–18]. Установлено, что только часть семян ВМ от свободного опыления наследует признаки, характерные для материнской ВМ, остальные же имеют обычные ростовые характеристики. Расщепление сеянцев F1 в соотношении, близком 1:1, однозначно говорит о доминантном характере мутации. Сеянцы с ВМ и НК по ростовым характеристикам в первый год развития могут различаться или нет. Это зависит от развитости мегастробиллов и семян материнской ВМ. Если мегастробиллы и семена с ВМ и НК не отличаются, то и однолетние сеянцы не отличаются по всхожести и ростовым характеристикам, а ясно видимые различия появляются на второй год [14].

Однако гораздо чаще шишки ВМ мелкие, вытянутые и не полностью раскрывающиеся [19]. Семена также мелкие, с большим процентом пустых [6, 20], в связи с этим снижены всхожесть семян, жизне- и конкурентоспособность сеянцев в первые годы жизни в природных условиях. Поскольку ВМ способны образовывать микростробиллы с фертильной пыльцой, можно ожидать появление нормально развитых семян при опылении женских шишек НК пыльцой с ВМ; половина сеянцев будет также иметь мутацию. Повышение частоты встречаемости ВМ, связанное с усилением антропогенной нагрузки [21], может

увеличить пул продуцируемой ими пыльцы, что в свою очередь может являться фактором увеличения количества деревьев с аномальными формами роста в лесах.

Литература

1. Brown C.L., Sommer H.E., Wetzstein H. Morphological and histological differences in development of dwarf mutants of sexual and somatic origin in diverse woody taxa // *Trees: structure and function*. 1994. № 9. P. 61–66.
2. Bos L. A witches' broom virus disease of *Vaccinium myrtillus* in the Netherlands // *T. Pl. Ziekten*. 1960. Vol. 66. P. 259–263.
3. Kaminska M., Sliwa H., Rudzinska-Langwald A. Association of Phytoplasma with Stunting, Leaf Necrosis and Witches' Broom Symptoms in Magnolia Plants // *J. Phytopathology*. 2001. № 149. P. 719–724
4. Kuz'michev E.P., Sokolova E.S., Kulikova E.G. Common Fungai Diseases of Russian Forests // 2001. Gen. Tech. Rep. NE–279. Newtown Square, Pa: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Northeastern Research Station. 137 p.
5. Алексеев В.А. Ржавчинный рак пихты сибирской: Описание заболевания и методические рекомендации по его полевой диагностике и учету. СПб., 1999. 31 с.
6. Fordham A.J. Dwarf conifers from witches-brooms // *Arnoldia*. 1967. Vol. 27, № 4–5. P. 29–50.
7. Carles C.C., Fletcher J.C. Shoot apical meristem maintenance: the art of dynamic balance // *Trends in Plant Science*. 2003. Vol. 8. P. 394–401.
8. Петренко Е.С. «Ведьмины метлы» в ленточных борах Казахстана // *Ботанический журнал*. 1960. Т. 45, вып. 10. С. 1540–1542.
9. Buckland D.C., Kuijt J. Unexplained brooming of Douglas-fir and other conifers in British Columbia and Alberta // *Forest Sci.* 1957. Vol. 3, № 3. P. 236–242.
10. Третьякова И.Н. Эмбриология хвойных. Новосибирск: Наука, 1990. 157 с.
11. Wilson B.F., Archer R.R. Apical control of branch movement in white pine: biological aspects // *Plant physiology*. 1981. № 68. P. 1285–1288.
12. Wilson B.F. Apical control of branch growth and angle in woody plants // *American journal of botany*. 2000. Vol. 87, № 5. P. 601–607.
13. Woodward A.W., Bartel B. Auxin: Regulation, Action, and Interaction // *Annals of Botany*. 2005. № 95. P. 707–735.
14. Носков В.И., Негруцкий С.Ф. К вопросу о происхождении «ведьминых метел» на сосне // *Научные записки Воронежского ЛТИ*. Воронеж, 1956. Т. 15. С. 207–210.
15. Шульга В.В. О карликовой форме сосны и ведьминой метле // *Лесоведение*. 1979. № 3. С. 82–86.
16. Ямбуров М.С. Морфогенез семенного потомства «ведьминых метел» кедр сибирского // *Материалы докладов XII молодежной конф. «Актуальные проблемы биологии и экологии»*. Сыктывкар, 2005. С. 184–187.
17. Ямбуров М.С. Использование в селекции естественных мутаций кедр (Pinus sibirica Du Tour) // *Фундаментальные проблемы новых технологий в 3-м тысячелетии: Материалы 3-й Всерос. конф. молодых учёных*. Томск, 2006. С. 443–446.
18. Yamburov M.S., Goroshkevich S.N. Witches' -brooms in Siberian stone pine as somatic mutations and initial genetic material for breeding of nut-bearing and ornamental cultivars // *The breeding and genetic resources of five-needle pines*. Romania. Valiug, 2006. P. 26–27.
19. Хиров А.А. О «ведьминой метле» на сосне // *Бот. журн.* 1973. Т. 58, вып. 3. С. 433–436.
20. Самофал С.И. Мутация почек сосны обыкновенной // *Научные записки Воронежского ЛТИ*. Воронеж, 1940. Т. 6. С. 73–76.
21. Ямбуров М.С. Влияние эмиссии выхлопных газов автотранспорта на образование «ведьминых метел» мутационного типа у сосны обыкновенной (Pinus sylvestris L.) // V Международный симпозиум «Контроль и реабилитация окружающей среды». Томск, 2006. С. 86–88.