
FORESTRY

DOI: <https://doi.org/10.23649/jae.2022.6.26.05>

Surso M.V.*

Federal Center for Integrated Arctic Studies of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Arkhangelsk, Russia

* Corresponding author (surso[at]fciarctic.ru)

Received: 26.09.2022; Accepted: 30.09.2022; Published: 19.10.2022

REPRODUCTIVE CYCLE OF COMMON JUNIPER (*JUNIPERUS COMMUNIS* L.) IN NORTHERN TAIGA

Research article

Abstract

Based on the results of light microscopic studies, a complete description of the reproductive cycle of common juniper in northern taiga is presented. The total duration of the reproductive cycle (from the laying of the primordial micro- and macrostrobiles to the complete histological differentiation of the embryo) in common juniper in northern taiga is 4 years. In the first year, the foundation and the beginning of differentiation of the primordial micro- and macrostrobiles happens. In the second year, the morphological differentiation of male generative organs is completed, as a result of microsporogenesis, unicellular microspores (pollen grain) are formed. There is forming of female sporogenic tissues, macrosporogenesis and the beginning of the forming of a nuclear gametophyte, pollination of receptive ovules occurs. In the third year, the formation of the nuclear gametophyte is completed, the cellular gametophyte is formed, the processes of oogenesis, fertilization, proembryo and early embryogenesis happen. In the fourth year, the processes of embryogenesis are completed, and the complete morphological differentiation of the embryo occurs.

Keywords: *Juniperus communis*, reproductive structures, morphogenesis.

Сурсо М.В.*

Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лаврова Уральского отделения Российской академии наук, Архангельск, Россия

* Корреспондирующий автор (surso[at]fciarctic.ru)

Получена: 26.09.2022; Доработана: 30.09.2022; Опубликовано: 19.10.2022

РЕПРОДУКТИВНЫЙ ЦИКЛ МОЖЖЕВЕЛЬНИКА ОБЫКНОВЕННОГО (*JUNIPERUS COMMUNIS* L.) В СЕВЕРНОЙ ТАЙГЕ

Научная статья

Аннотация

По результатам проведенных свето-микроскопических исследований дано полное описание репродуктивного цикла можжевельника обыкновенного в северной тайге. Общая продолжительность репродуктивного цикла (от заложения примордиев микро- и макростробилов до полной гистологической дифференциации эмбриона) у можжевельника обыкновенного в северной тайге составляет 4 года. В первый год происходит заложение и начало дифференциации примордиев микро- и макростробилов. На второй год завершается морфологическая дифференциация мужских генеративных органов, в результате микроспорогенеза образуются одноклеточные микроспоры (пыльцевые зерна). Наблюдается формирование женских спорогенных тканей, макроспорогенез и начало формирования нуклеарного гаметофита, происходит опыление рецептивных семязачатков. На третий год завершается формирование нуклеарного гаметофита, формируется целлюлярный гаметофит, происходят процессы оогенеза, оплодотворения, проэмбрио- и раннего эмбриогенеза. На четвертый год завершаются процессы эмбриогенеза и происходит полная морфологическая дифференциация эмбриона.

Ключевые слова: *Juniperus communis*, репродуктивные структуры, морфогенез.

1. Введение

Описание морфогенеза репродуктивных органов и структур у *Juniperus* L. приводится в ряде работ [1], [5], [6], [10] и требует дополнений и уточнений. Морфология отдельных репродуктивных органов и структур можжевельников рассматриваются в работах многих авторов, обычно в связи со сравнительным изучением других голосеменных растений [2], [3], [8], [9].

Микрофенология репродуктивного цикла можжевельника обыкновенного до настоящего времени все еще остается недостаточно изученной. Целью работы являлось полное описание всего 4-летнего цикла репродуктивного развития можжевельника в северной тайге.

2. Методы

Исходный материал для изучения морфогенеза мужских и женских репродуктивных структур можжевельника собран в природных северотаежных популяциях этого вида. Образцы женских шишек и семязачатков, начиная с момента заложения примордиев макростробилов до формирования морфологически дифференцированного эмбриона темпорально фиксировали по Навашину, или Карнуа в течение всего вегетационного периода. Периодичность фиксаций определялась стадией развития генеративных органов и их структур и составляла от 1–2 до 10–15 дней в течение всего периода вегетации. С момента начала альвеолизации нуклеарного гаметофита до окончания проэмбриогенеза производили ежедневную фиксацию женских генеративных органов. Образцы мужских шишек фиксировали темпорально с момента заложения примордиев микростробилов до образования одноклеточных микроспор. При изготовлении постоянных микрономных препаратов осуществляли общепринятую последовательность процедур [4]. Доведенные до воды микрономные срезы толщиной 8–12 мкм окрашивали гематоксилином по Гейденгайну, метиловым зеленым – пиронином G или галлоцианином. Для изучения микроспорогенеза микростробилы фиксировали с момента начала мейоза до раскрытия микроспорангиев в уксусном спирте или растворе Карнуа. Периодичность фиксаций – 1–3 дня, в активной фазе мейоза (MI–AII) – ежедневно (дважды в день с периодичностью 12 часов). Фиксированный материал промывали и хранили до использования в 70%-ном этаноле в холодильнике. Временные давленные препараты окрашивали ацето-железным гематоксилином – хлоралгидратом в течение суток или ацетокармином в течение 2–3 часов, с предварительной обработкой 0,1н. HCl. Просмотр и фотографирование изображений выполняли при помощи лабораторного микроскопа AxioScore A1 в комплекте с цифровой фотокамерой Canon G10. Редактирование изображений производили при помощи лицензионной программы AxioVision LE Release 4.8.1.

3. Результаты и обсуждение

У можжевельника обыкновенного примордии микростробилов закладываются на мужских растениях в пазухах хвои на побегах первого года жизни в год, предшествующий опылению. В условиях северной тайги зачатки микростробилов у можжевельника можно наблюдать уже в конце июня – начале июля (рис. 1а). К концу первого вегетационного периода микростробил с зачаточными микроспорофиллами полностью скрыт под покровными чешуями (рис. 1б).

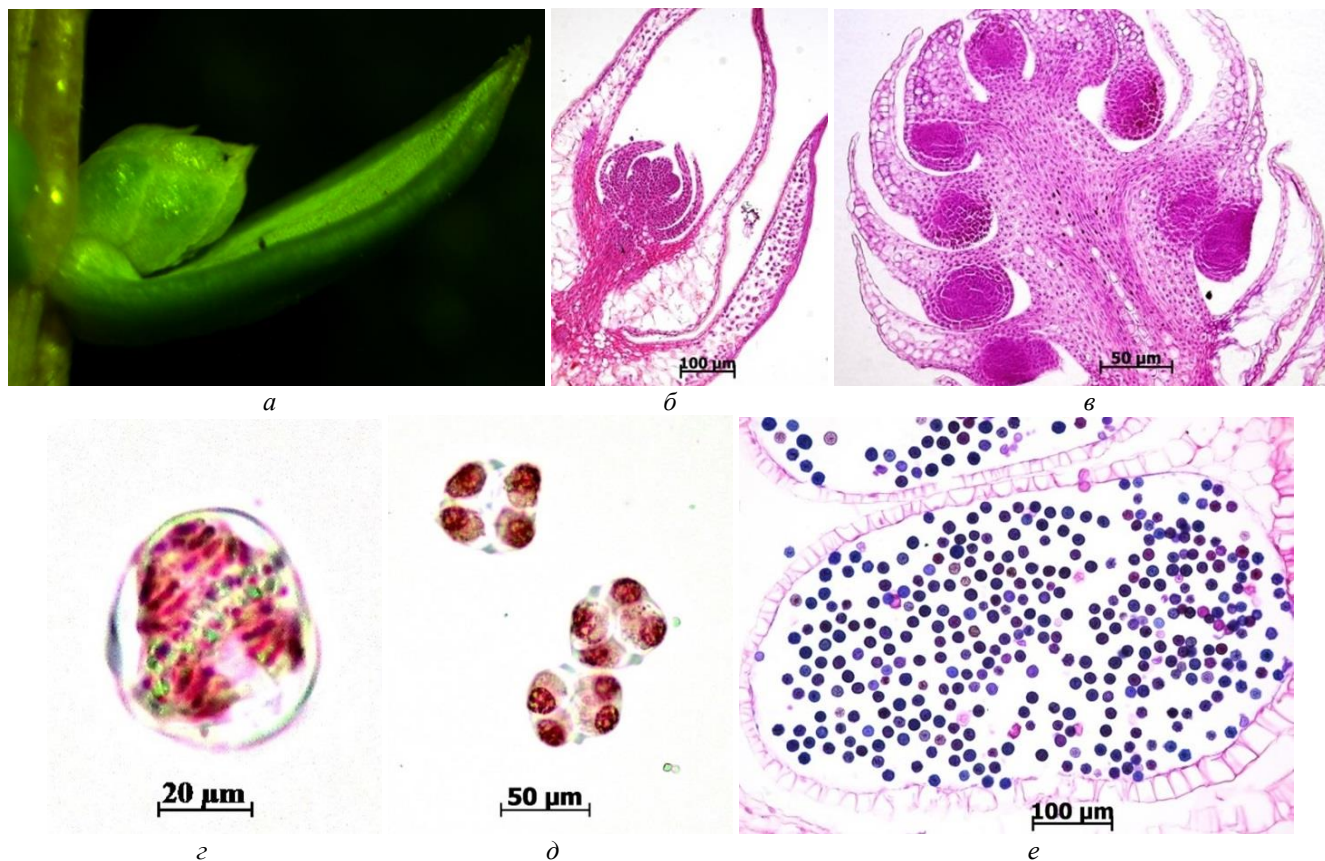


Рис. 1 – Морфогенез мужских репродуктивных структур можжевельника:
 а, б – микростробилы осенью в год заложения; в – морфологически дифференцированный микростробил (начало обособления микроспороцитов); г – мейоз микроспороцитов (AII); д – тетрады микроспор; е – микроспорангий со зрелыми пыльцевыми зёрнами (одноклеточными микроспорами); а, б – первый год, в-е – второй год развития

В начале второго вегетационного периода происходит окончательное разобщение зачаточных микроспорофиллов и их гистологическая дифференциация (рис. 1в). Микроспорангии у можжевельника обыкновенного развиваются из эпидермального и субэпидермального слоев микроспорофиллов. Инициали микроспорангиев делятся периклинально таким образом, что снаружи формируется стенка спорангия, а внутри – первичная спорогенная ткань, или археспорий. Последующее развитие первичной спорогенной ткани происходит в результате митозов спорогенных клеток. Обособление клеток археспория в микроспороциты происходит перед началом мейоза. К этому же времени завершается и гистологическая дифференциация микроспорангиев. «Активная» фаза мейоза (MI-AII) скоротечна, и длится не более 1–2 дней (рис. 1г). В результате мейоза образуются тетрады гаплоидных микроспор (рис. 1д). Оболочки клеток стенки микроспорангия после распада тетрад и образования микроспор приобретают характерные подковообразные утолщения, субэпидермальную ткань и тапетум почти полностью разрушаются (рис. 1е). После небольшой паузы («интерфазы» микроспоры) экзотеции разрываются, и одноклеточная пыльца высыпается наружу.

Примордии макростробилов закладываются на женских растениях в пазухах хвои на побегах 1-го года жизни. К концу первого вегетационного периода макростробилы с зачаточными мегаспорофиллами полностью скрыты под покровными чешуями (рис. 2а), имеющими характерное строение: снаружи они покрыты двумя рядами мелких клеток с оптически плотной цитоплазмой (эпидермис и субэпидермальный слой), почти весь внутренний объем этих чешуевидных листьев (особенно в их нижней, утолщенной части) занят крупными тонкостенными отмершими клетками, заполненными воздухом (рис. 2б).

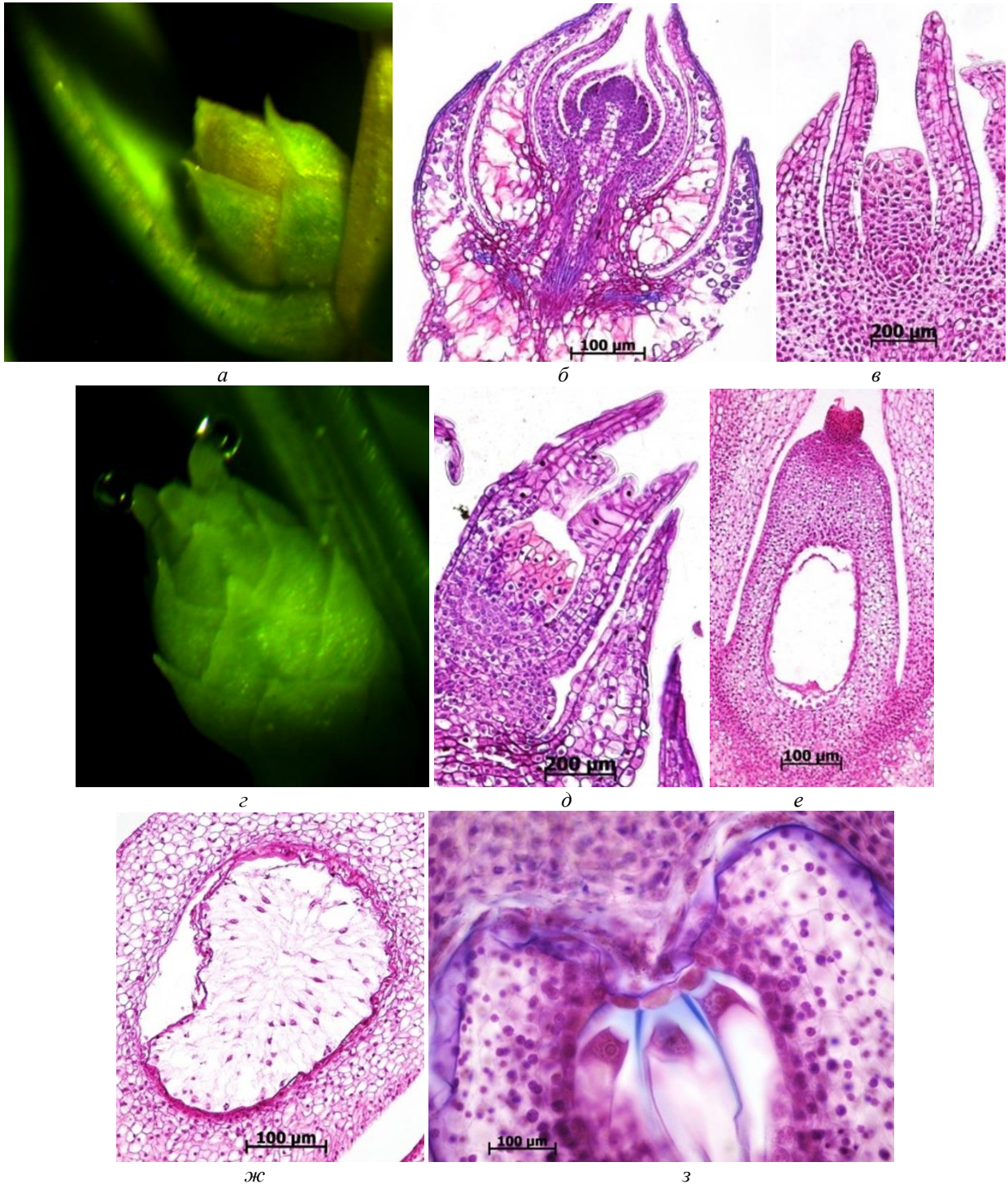


Рис. 2 – Морфогенез женских репродуктивных структур можжевельника:

a, б – макростробил осенью в год заложения; *в* – рецептивный семязчаток перед опылением (в апикальной части нуцеллуса видны секреторные клетки, лишенные ядер, в центре нуцеллуса, в его халазальной части обособляются материнские клетки макроспор, окруженные кольцом из 2–3-х слоев клеток нуцеллярного тапетума, интегументы широко раздвинуты, микропиларный канал открыт); *г* – макростробил с рецептивными семязчатками (на кончиках семязчатков, выступающих из-под покровных чешуй стробила, видны опылительные капельки); *д* – семязчаток вскоре после опыления (клетки на внутренней поверхности интегумента растягиваются в поперечном направлении, почти полностью смыкая микропиларный канал); *е* – семязчаток на стадии нуклеарного гаметофита, на верхушке нуцеллуса сформировалась пыльцевая подушка; *ж* – альвеолизация нуклеарного гаметофита происходит от его периферии к центру; *з* – архегониальный комплекс, объединенный общей обкладкой, *a, б* – первый год, *в-д* – второй, *е-з* – третий год развития

Морфологическая дифференциация макростробила в начале второго вегетационного периода протекает очень быстро. На внутренней стороне мегаспорофилла, в его нижней части, в результате трансформации одной или нескольких клеток эпидермиса или субэпидермальных слоев в клетки первичного археспория и их митозов появляются меристематический бугорок (будущий нуцеллус) и кольцеобразный валик в его основании (зачаточный интегумент). Дифференциация этих зачаточных тканей приводит к образованию ортотропных крассинуцеллярных семязчатков, состоящих из нуцеллуса (собственно мегаспорангия) и интегумента (покровной ткани). В центре

нуцеллуса, в его халазальной части обособляются несколько материнских клеток макроспор, вокруг которых формируется губчатая ткань, состоящая из 2–3-х концентрических слоев клеток (рис. 2в). Интегумент срастается с нуцеллусом лишь на 1/4, в его базальной части. К этому времени интегумент еще не дифференцирован и состоит из 4–6 рядов клеток. В период рецептации микропилярные каналы семязачатков широко открыты, кончики интегументов выступают над кончиками семенных чешуй. Перед опылением на кончиках семязачатков образуется опылительная капелька, секретируемая апикальными клетками нуцеллуса (рис. 2г). После опыления эта капелька, вместе с прилипшей к ней пыльцой втягивается внутрь, и пыльца оказывается на поверхности нуцеллуса. Сразу после опыления клетки на внутренней поверхности интегумента растягиваются в поперечном направлении, образуя в нижней части канала полушаровидные выросты, почти полностью смыкающие микропилярный канал (рис. 2д). Мейоз материнских клеток макроспор происходит сразу после опыления, в результате чего образуются комплексы из линейных тетрад (триад) макроспор, из которых лишь одна, обычно ближе других расположенная к халазе, является функциональной, остальные дегенерируют. Первый митоз функциональной макроспоры является началом формирования нуклеарного гаметофита, на начальной стадии которого семязачатки зимуют. Микропилярные каналы семязачатков при этом все еще остаются приоткрытыми.

Деление свободных ядер ценоцита возобновляется на третий год и протекает синхронно, по крайней мере, на начальных этапах. Постепенно эти ядра отесняются в узкий пристенный слой цитоплазмы мегаметофита, всю центральную часть которого занимает крупная вакуоль (рис. 2е). К этому времени верхушка нуцеллуса приобретает характерное строение: довольно массивное плоско-выпуклое утолщение (т. н. пыльцевая подушка), состоящее из мелких, интенсивно окрашивающихся на препаратах клеток. С формированием нуклеарного гаметофита связано начало характерных метаморфозов тканей семязачатков и макростробилов, прежде всего, дифференциация спермодермы, интенсивное увеличение объема макростробила (рост «шишкоягоды»), лизис нуцеллярного тапетума и начало формирования спородермы. Паренхима «шишкоягоды» формируется по схизогенному типу: приобретает ячеистое строение и состоит из изодиаметрических клеток с многочисленными межклеточными пустотами. В периферийных слоях паренхимы сросшихся мегаспорофиллов «шишкоягоды» образуются немногочисленные, но довольно крупные лизигенные полости, заполненные матриксом. Наружные покровы «шишкоягоды» к этому времени состоят из двух слоев клеток: эпидермального и субэпидермального. Верхушки семенных чешуй срстаются за счет плотной «сшивки» зубчиков (выростов) клеток эпидермиса таким образом, что каждый такой зубчик одного мегаспорофилла входит в выемку эпидермиса смежного мегаспорофилла. При этом ядро каждой такой клетки переходит в кончик зубчика.

Формирование нуклеарного гаметофита у можжевельника в условиях северной тайги заканчивается к концу июня – началу июля. К этому времени он уже занимает значительную (не менее 2/3) часть объема мегаспорангия. Процесс формирования клеточных стенок в женском гаметофите протекает от его периферии к центру по альвеолярному типу (рис. 2ж). Инициали архегониев появляются еще в период формирования клеточного гаметофита, в его апикальной части. В дальнейшем они трансформируются в архегониальные комплексы, состоящие обычно из 4–7 архегониев, объединенных общей выстилающей тканью. Инициальная клетка каждого из формирующихся архегониев делится периклинально, образуя крупную нижнюю оогенную клетку и маленькую верхнюю шейковую клетку, формирующую впоследствии шейку архегония, состоящую из 1–2 рядов клеток (рис. 2з). Вакуолизация архегониев достигается к середине июля, а уже в конце июля происходит оплодотворение.

Сразу после оплодотворения зигота перемещается в нижнюю часть архегония и незамедлительно приступает к свободной ядерным делениям. Вскоре после оплодотворения начинается дифференциация интегумента семязачатка. Уже через 7–10 дней после оплодотворения спермодерма дифференцирована на три слоя: наружный – экзотесту (саркотесту), состоящую из 2 рядов мелких клеток, внутренний – эндотесту (паренхотесту), состоящую из 8–10 рядов тонкостенных плитчатых продольно удлинённых клеток, и средний – мезотесту (склеротесту), состоящую из 6–8 рядов более интенсивно окрашенных живых толстостенных клеток. В последующем внутренний (эндотеста) и особенно наружный (саркотеста) слои интегумента в значительной степени разрушаются, а из среднего слоя (склеротесты) в результате утолщения и отвердевания клеточных стенок и отмирания протоплазмы в основном и формируется необыкновенно твердая, каменистая семенная кожура. К зимнему покою формирующийся спорофит переходит в середине стадии раннего эмбриогенеза. Семязачатки и «шишкоягоды» к этому времени уже почти достигают своих максимальных размеров.

В начале четвертого вегетационного периода развитие эмбриональных структур возобновляется. Морфологическая дифференциация эмбриона у можжевельника в северной тайге завершается к середине первой декады июля, когда «шишкоягоды» все еще остаются зелеными.

Полный 4-летний репродуктивный цикл можжевельника в условиях северной тайги схематично изображен на рисунке 3.

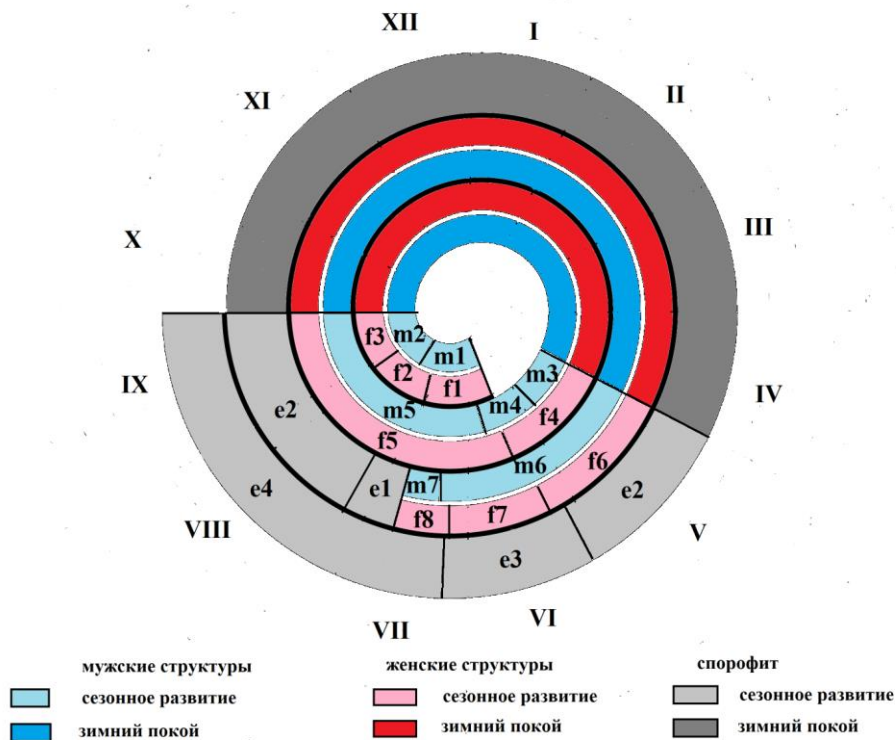


Рис. 3 – Репродуктивный цикл можжевельника обыкновенного в северной тайге

Мужские структуры: m1 – заложение примордиев микростробиллов; m2 – гистологическая дифференциация микростробиллов и появление зачатков микроспорифиллов; m3 – гистологическая дифференциация микроспорифиллов и появление зачатков микроспорангиев, гистологическая дифференциация микроспорангиев и обособление клеток археспория; m4 – мейоз микроспорозитов, распад тетрад, одноклеточные микроспоры внутри микроспорангия; m5 – опыление, прорастание микроспоры в двухклеточный микрогаметофит, формирование и начало роста пыльцевых трубок; m6 – рост пыльцевых трубок; m7 – образование спермиев.

Женские структуры: f1 – заложение примордиев макростробиллов; f2 – дифференциация семязачатков на интегумент и нуцеллус; f3 – обособление и начало дифференциации спорогенных тканей в мегаспорангии; f4 – завершение дифференциации спорогенных тканей на комплексы макроспороцитов и нуцеллярный тапетум; f5 – мейоз в макроспороцитах, образование комплексов тетрад (триад) и начало формирования нуклеарного гаметофита; f6 – завершение формирования нуклеарного гаметофита; f7 – альвеолизация нуклеарного гаметофита, начало формирования клеточного гаметофита, появление инициалей архегониев; f8 – формирование архегониальных комплексов, оогенез.

Оплодотворение и эмбриогенез: e1 – оплодотворение и проэмбриогенез; e2 – ранний эмбриогенез; e3 – поздний эмбриогенез; e4 – морфологически дифференцированный эмбрион, вызревание семени и созревание «шишкоягоды»

Ближе к концу вегетации на женских растениях можжевельника можно наблюдать макростробилы с 1-го по 4-й годы развития.

Financing

The work was carried out within the framework of the state assignment to the Federal Center for Integrated Arctic Studies of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (state registration № 122011400384–2).

Финансирование

Работа выполнена в рамках государственного задания Федеральному исследовательскому центру комплексного изучения Арктики Уральского отделения Российской академии наук (№ гос. регистрации 122011400384–2).

Conflict of Interest

None declared.

Конфликт интересов

Не указан.

References

1. Александровский Е.С. Развитие семяпочек и микроспорогенез у видов *Juniperus* / Е.С. Александровский // Бот. ж. – 1971. – Т. 56. – № 2. – с. 193–201
2. Козубов Г.М. Биология плодоношения хвойных на Севере / Г.М. Козубов – Л.: Наука, 1974. – 135 с.
3. Козубов Г.М. Репродуктивные структуры голосеменных (сравнительное описание) / Г.М. Козубов, В.В. Тренин, М.А. Тихова и др. – Л.: Наука (Ленингр. отд-е), 1982. – 104 с.
4. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений / З.П. Паушева – М.: Колос, 1970. – 255 с.

5. Рубаник В.Г. Развитие шишек *Juniperus virginiana* L. и *J. communis* L. в Алма-Ате / В.Г. Рубаник, Т.А. Жеронкина // Бот. ж. – 1969. – Т. 54. – № 3. – с. 464–470
6. Сурсо М.В. Микроспорогенез, опыление и микрогаметогенез у *Juniperus communis* (Cupressaceae) / М.В. Сурсо // Бот. ж. – 2012. – Т. 97. – № 2. – с. 211–221
7. Сурсо М.В. Морфогенез и феноритмика женских репродуктивных структур можжевельника обыкновенного в северной тайге / М.В. Сурсо // Лесоведение. – 2013. – №2. – с. 58–64
8. Тарбаева В.М. Сравнительная морфология и анатомия семян голосеменных / В.М. Тарбаева – Сыктывкар, 1995. – 244 с.
9. Тренин В.В. Введение в цитозембриологию хвойных / В.В. Тренин – Петрозаводск: Карельский филиал АН СССР, 1988. – 152 с.
10. Zhang Q. Female cone development in *Fokienia*, *Cupressus*, *Chamaecyparis* and *Juniperus* (Cupressaceae) / Q. Zhang, Y.S. Hu, J.X. Lin // Acta Bot. Sin. – 2004. – V. 46. – No 9. – pp. 1075–1082.

References in English

1. Aleksandrovskij E.S. Razvitie semjapochek i mikrosporoqenez u vidov *Juniperus* [Ovule development and microsporoqenesis in *Juniperus* species] / E.S. Aleksandrovskij // Botanicheskij zhurnal [Botanical Magazine]. – 1971. – V. 56. – No. 2. – pp. 193–201 [in Russian]
2. Kozubov G.M. Biologija plodonoshenija hvojnyh na Severe [Biology of coniferous fruiting in the North] / G.M. Kozubov – L.: Nauka, 1974. – 135 p. [in Russian]
3. Kozubov G.M. Reproaktivnye struktury golosemennyh (sravnitel'noe opisanie) [Reproductive structures of gymnosperms (comparative description)] / G.M. Kozubov, V.V. Trenin, M.A. Tihova et al. – L.: Nauka (Leningr. otd-e), 1982. – 104 p. [in Russian]
4. Pausheva Z.P. Praktikum po citologii rastenij [Practicum on plant cytology] / Z.P. Pausheva – M.: Kolos, 1970. – 255 p. [in Russian]
5. Rubanik V.G. Razvitie shishek *Juniperus virginiana* L. i *J. communis* L. v Alma-Ate [Development of cones *Juniperus virginiana* L. and *J. communis* L. in Alma-Ata] / V.G. Rubanik, T.A. Zheronkina // Botanicheskij zhurnal [Botanical Magazine]. – 1969. – V. 54. – No 3. – pp. 464–470 [in Russian]
6. Surso M.V. Mikrosporoqenez, opylenie i mikroqametoqenez u *Juniperus communis* (Cupressaceae) [Microsporoqenesis, pollination and microqametoqenesis in *Juniperus communis* (Cupressaceae)] / M.V. Surso // Botanicheskij zhurnal [Botanical Magazine]. – 2012. – V. 97. – No. 2. – pp. 211–221 [in Russian]
7. Surso M.V. Morfoqenez i fenoritmika zhenskih reprodaktivnyh struktur mozhzhevel'nika obyknovennogo v severnoj tajge [Morphoqenesis and phenorhythmics of female reproductive structures of common juniper in the northern taiga] / M.V. Surso // Lesovedenie [Forestry]. – 2013. – №2. – pp. 58–64 [in Russian]
8. Tarbaeva V.M. Sravnitel'naja morfologija i anatomija semjan golosemennyh [Comparative morphology and anatomy of gymnosperm seeds] / V.M. Tarbaeva – Syktyvkar, 1995. – 244 p. [in Russian]
9. Trenin V.V. Vvedenie v citoqembriologiju hvojnyh [Introduction to cytoqembryology of conifers] / V.V. Trenin – Petrozavodsk: Karel'skij filial AN SSSR, 1988. – 152 p. [in Russian]
10. Zhang Q. Female cone development in *Fokienia*, *Cupressus*, *Chamaecyparis* and *Juniperus* (Cupressaceae) / Q. Zhang, Y.S. Hu, J.X. Lin // Acta Bot. Sin. – 2004. – V. 46. – No 9. – pp. 1075–1082.