

УДК 582.477.6:581.162.3
DOI: 10.17238/issn0536-1036.2016.4.40

**ОПЫЛЕНИЕ У МОЖЖЕВЕЛЬНИКА ОБЫКНОВЕННОГО
(*Juniperus communis* L.): МЕХАНИЗМ ВОВЛЕЧЕНИЯ ПЫЛЬЦЫ
И ВЛИЯНИЕ МУЖСКОГО ГАМЕТОФИТА
НА РАЗВИТИЕ СЕМЯЗАЧАТКОВ И «ШИШКОЯГОД»***

М.В. Сурсо, д-р с.-х. наук, ст. науч. сотр.

Н.В. Селиванова, канд. хим. наук, ст. науч. сотр.

Институт экологических проблем Севера Уральского отделения Российской академии наук, наб. Северной Двины, д. 23, г. Архангельск, Россия, 163000;
e-mail: surso@ierp.ru

Методами световой микроскопии изучали развитие опыленных и неопыленных семязачатков можжевельника с периода рецептации до начала формирования «шишкоягод». Морфогенез неопыленных семязачатков и макростробилов протекал без существенных нарушений до начала формирования клеточного гаметофита. Вскоре после начала его формирования в неопыленных семязачатках происходило постепенное затухание митозов, появлялись признаки дегенерации тканей в халазальной части и в зоне архегониальных комплексов. При этом сохранность неопыленных макростробилов оставалась высокой. К началу позднего эмбриогенеза в опыленных семязачатках практически все неопыленные женские шишки погибли. В сохранившихся единичных неопыленных шишках наблюдались признаки дегенерации покровных тканей и паренхимы «шишкоягод». Изучение экссудации и ретракции секреторной жидкости проводили в лабораторных условиях в целях изучения влияния внешних агентов на их динамику у можжевельника. Испытывали 3 варианта опыления: жизнеспособной пыльцой сосны обыкновенной; без опыления. При опылении чужеродной пыльцой ретракция задерживалась не менее чем на 12 ч. При отсутствии опыления экссудационная деятельность микропиллярной зоны семязачатков продолжалась не менее 60 ч. Полная ретракция секреторной жидкости при этом происходила через 120 ч. Качественный состав летучих фракций органических соединений опылительной капли можжевельника проводили при помощи газового хромато-масс-спектрометра QP-2010 Ultra («Shimadzu», Япония), аминокислотный состав экссудационного секрета и пыльцы можжевельника – на аминокислотном анализаторе BioChrom 30+ («Biochrom», Великобритания). Состав сахаров опылительной капли и пыльцы можжевельника изучали методом ВЭЖХ с использованием ВЭЖХ-системы Nexera XR («Shimadzu», Япония). Идентифицировано более 40 летучих веществ, принадлежащих к различным классам органических соединений. Их соотношение составило, %: алканы – 33,79; монотерпены – 0,29; тритерпены – 16,97; сесквитерпеновые спирты – 1,33; сложные эфиры – 18,41; карбоновые кислоты – 1,81; амиды карбоновых

* Исследования выполнены при поддержке администрации Архангельской области и Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 14-04-98811), а также при финансовой поддержке ФАНО России в рамках проекта № 0410-2014-0025 на базе ЦКП «Арктика» при Северном (Арктическом) федеральном университете имени М.В. Ломоносова.

кислот – 8,81. Результаты исследований подтверждают сложный химический состав и многофункциональность опылительной капли. Механизм опыления у можжевельника является эффективным и избирательным. Отсутствие опыления приводит к деструктивному типу развития тканей семязачатков и «шишкоягод».

Ключевые слова: можжевельник обыкновенный, опыление, опылительная капля, семязачатки.

Введение

Эффективность опыления, т. е. количество пыльцевых зерен своего вида, попавших на нуцеллус рецептивных семязачатков, у анемофильных хвойных видов определяется плотностью пыльцевого облачка, продолжительностью периода рецептации, механизмами улавливания пыльцы и ретракции пыльцевых зерен внутрь семязачатка. В свою очередь, плотность пыльцевого облачка зависит от объемов продуцируемой пыльцы, ее аэродинамических свойств, близостью реципиента к модулятору пыльцы, продолжительности периода рассеивания пыльцы, а также от метеоусловий в период пыления деревьев. Развитие семязачатков и женских шишек после рецептации обусловлено характером интеракции между мужским и женским гаметофитами. Оно зависит от наличия или отсутствия пыльцы на нуцеллусе, способности пыльцевого зерна прорасти в пыльцевую трубку (жизнеспособность пыльцы) и от способности микрогаметофита формировать жизнеспособные спермии (фертильность пыльцы). Можжевельник обыкновенный (*Juniperus communis* L.) является облигатным двудомным видом, поэтому единственно возможным типом опыления для него является ксеногамия. Отсутствие опыления приводит к деструктивному пути развития тканей семязачатков и «шишкоягод».

Материал и методика

Сбор исходного материала и эксперименты по искусственной изоляции макростробилов проводили в северной подзоне тайги (Приморский район Архангельской области). Опытные участки представляли собой густые куртины кустов старовозрастных можжевельников по открытым пологим склонам широкой долины ручья Кепинка.

Макростробилы в период рецептации фиксировали в уксусном спирте ежедневно с момента начала пыления макростробилов до смыкания микропиллярных каналов семязачатков и начала формирования «шишкоягод». В целях изучения динамики деградиционных процессов в тканях неопыленных семязачатков можжевельника изоляторы навешивали на женские растения до начала пыления единичных мужских особей на ветви с макростробилами второго ($n+1$) года развития. Съемку изоляторов проводили после окончания пыления всех деревьев. В качестве контроля использовали макростробилы, опыленные по ксеногамному типу. Фиксацию макростробилов производили в уксусном спирте. Весь фиксированный материал промывали и хранили до использования в 70 %-м этаноле. Одновременно со съемкой изоляторов

и фиксации макростробилов проводили учет сохранности женских шишек в опыте. При изготовлении постоянных микротомных препаратов осуществляли общепринятую последовательность процедур [2]. Микротомные срезы толщиной 8...10 мкм окрашивали метиловым зеленым – пиронином G [1]. Просмотр и фотографирование изображений выполняли при помощи лабораторного микроскопа AxioScore A1 в комплекте с цифровой фотокамерой Canon G10. Изображения редактировали, используя лицензионную программу AxioVision LE Release 4.8.1. Препарирование семязачатков производили под бинокулярным микроскопом МБС-10. Временные препараты окрашивали 0,25%-м водным раствором сафранина. Изображения фотографировали и редактировали при помощи видеоокуляра Pro-MicroScan 5888 и лицензионного программного обеспечения ScopePhoto 3.0.

Для изучения динамики экссудации и ретракции секреторной жидкости ветви размером 50...70 см с рецептивными макростробилами срезали с женских растений до начала пыления единичных мужских растений. В микропилярной части у большинства семязачатков к этому времени уже было отмечено появление опылительной капли. Ветви, неплотно упакованные в герметично закрытые полиэтиленовые пакеты и уложенные срезами вниз во влажный сфагнум, в течение 3 ч доставляли в лабораторию. Для опытов использовали более короткие (15...30 см) верхние отрезки, которые ставили в вазоны с водой. В течение опытов воду доливали по мере необходимости. Спустя сутки проводили первичную морфометрию размеров опылительных капель. Диаметр капель измеряли (перпендикулярно оси микропилярного канала) при помощи измерительной шкалы бинокулярного микроскопа МБС-10. Испытывали 3 варианта опыления: жизнеспособной пылью можжевельника (сбор прошлого года); свежесобранной пылью сосны обыкновенной; без опыления. Цель экспериментов – изучение влияния внешних агентов на динамику экссудации и ретракции овулярного секрета можжевельника. Пыльцу наносили на поверхность капель путем рассеивания с близкого расстояния при помощи препаровальной иглы. Результативность опыления контролировали визуально. Периодичность измерения диаметра капли в опытах – 4...30 ч.

Для изучения химического состава секреторную жидкость, скапливающуюся в виде капелек на кончиках семязачатков в период рецептации, извлекали с помощью узких полосок тонкой фильтровальной бумаги. Полоски до использования хранили в герметично закрытых пластиковых пробирках в морозильной камере холодильника. Качественный состав летучих фракций органических соединений экссудационного секрета можжевельника контролировали при помощи газового хромато-масс-спектрометра QP-2010 Ultra («Shimadzu», Япония). Условия хроматографирования: колонка капиллярная Rtx-5MS диаметром 0,25 мм, толщина неподвижной фазы – 0,25 мкм, длина колонки – 30 м; ввод автосамплером, объем пробы 1 мкл; ввод пробы без деления потока; температура устройства ввода 250 °С; газ-носитель – гелий; управление потоком газа – постоянное давление; поток через колонку – 1,0 мл/мин; начальная

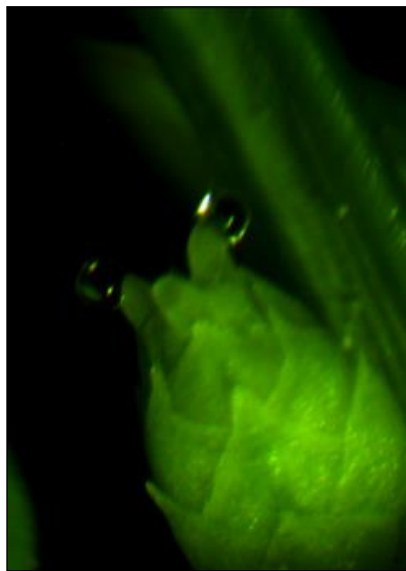
температура термостата 40 °С, изотерма 5 мин; подъем со скоростью 2,5 °С/мин до 260 °С, изотерма 20 мин; температура устройства сопряжения 250 °С; температура ионного источника 230 °С; энергия ионизации – 70 эВ; напряжение на детекторе – 0,87 кВ; режим работы масс-детектора – Scan (сканирование диапазона); диапазон сканирования масс – 35...450. Аминокислотный состав экссудационного секрета и пыльцы можжевельника определяли с помощью аминокислотного анализатора BioChrom 30+ («Biochrom», Великобритания). Условия хроматографирования: колонка – Oxidised Feedstuff Column («Biochrom»), термостат колонки – 37 °С, температура реакционной ячейки – 135 °С, реагент – нингидрин. Состав сахаров опылительной капли и пыльцы можжевельника изучали методом ВЭЖХ с использованием ВЭЖХ-системы Nexera XR («Shimadzu», Япония).

Результаты и обсуждение

В условиях северной подзоны тайги опыление у можжевельника (конец первой–середина второй декады июня) совпадает с мейозом материнских клеток макроспор в мегаспорангиях. Важную роль в процессе опыления у *Juniperus* играет опылительная капля (pollination drop), скапливающаяся на верхушке микропилярной части семязачатка в период рецептации (рис. 1, а) [3–5, 7, 9].

Механизм выделения и функциональные свойства этого секрета все еще не вполне понятны [13]. Химический состав его также изучен недостаточно полно. Известно о наличии в его составе моно- и дисахаров, аминокислот, органических кислот [6, 8, 11]. Протеомные исследования свидетельствуют о присутствии в нем большого количества разнообразных белков, большинство из которых не идентифицировано [12, 14]. Все это подтверждает многофункциональность секреторной капли [15].

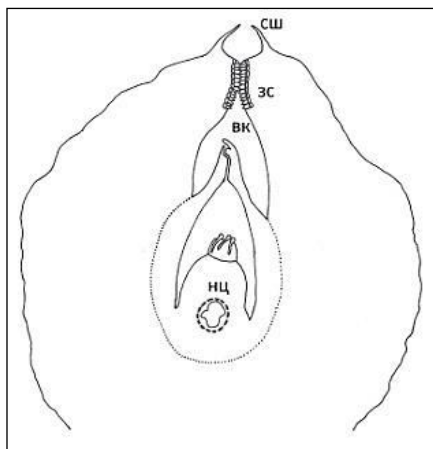
При опылении рецептивных семязачатков пыльцой можжевельника (размеры его среднестатистического пыльцевого зерна составляют около 26 мкм) полная ретракция экссудационного секрета завершилась менее чем за 4 ч. При опылении пыльцой сосны (средние размеры пыльцевого зерна 49×39×68 мкм) втягивание опылительной капли внутрь семязачатка задерживалось не менее чем на 12 ч. При отсутствии опыления экссудационная деятельность микропилярной зоны семязачатков продолжалась не менее 60 ч. Размеры капли при этом увеличивались до максимальных в среднем на 40 %. Наблюдались частые случаи слияния капель двух или всех трех семязачатков в одну общую для всего макростробила крупную каплю. Через 90 ч на кончиках большинства семязачатков отмечались уже довольно мелкие капли, многие семязачатки были без капель, крупные капли сохранились лишь на единичных семязачатках. Через 120 ч у всех семязачатков происходила полная ретракция секреторной жидкости. Наши наблюдения подтверждают результаты, полученные ранее С. Мугнайни с соавт. [10]. В своих опытах по искусственному опылению секреторной капли обыкновенного можжевельника силикагелями эти авторы выявили зависимость скорости ее ретракции от диаметра частиц, а также более продолжительную экссудацию и замедленную ретракцию при отсутствии опыления.



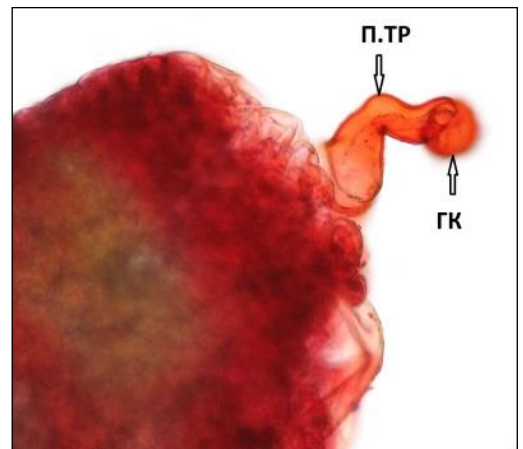
a



б



в



г

Рис. 1. Опыление у можжевельника: *a* – экссудационная капля в микропиллярной части семязачатков можжевельника в период рецептации; *б* – продольный разрез женской шишки в период «цветения»; *в* – вскоре после опыления (сш – стигматы «шишкоягоды», зс – зубчатая сшивка, вк – вентиляционная камера, нц – нуцеллус; контурные изображения воспроизведены по микрофотографиям постоянных микротомных препаратов женских шишек можжевельника); *г* – пыльцевая трубка, врастающая в ткань мегаспорангия семязачатка (окрашивание 0,25 %-м водным раствором сафранина; п. тр – пыльцевая трубка, гк – гидрофильная капсула; семязачатки зафиксированы в уксусном спирте незадолго до оплодотворения)

Результаты искусственного опыления секреторной капли приведены в табл. 1.

Таблица 1

**Динамика экссудации секреторной жидкости можжевельника
(в числителе – мкм, в знаменателе – % от исходного значения)**

Вариант опыта	Диаметр опылительной капли в зависимости от количества часов с момента опыления						
	0	4	16	44	60	90	120
Опыление пыльцой: можжевельника	<u>327,8</u> 100,0	<u>0</u> 0	–	–	–	–	–
сосны	<u>323,7</u> 100	<u>243,1</u> 75,1	<u>31,6</u> 9,8	<u>0</u> 0	–	–	–
Без опыления	<u>324,3</u> 100,0	<u>337,4</u> 104,0	<u>357,1</u> 110,1	<u>435,0</u> 134,1	<u>457,1</u> 140,9	<u>39,7</u> 12,2	<u>0</u> 0

Реакция секрета на внешние раздражители значительно более сложная и не исчерпывается механическим захватом и транспортировкой уловленного материала к апексу нуцеллуса семязачатка. Овулярный секрет играет важную роль в процессах «узнавания», элиминации чужеродного биологического материала, предотвращает преждевременное сбрасывание экзины пыльцевого зерна, ингибирует развитие нежелательной микрофлоры и, по-видимому, оказывает стимулирующее действие на формирование пыльцевых трубок, по крайней мере, на начальных этапах их роста. Сказанное подтверждается результатами изучения химического состава опылительной капли можжевельника (табл. 2–4).

В составе летучих фракций органических соединений опылительной капли можжевельника выявлено более 40 веществ, принадлежащих к различным классам. Соотношение этих фракций составляет, %: алканы – 33,79; монотерпены – 0,29; тритерпены – 16,97; сесквитерпеновые спирты – 1,33; сложные эфиры – 18,41; карбоновые кислоты – 1,81; амиды карбоновых кислот – 8,81. Следует отметить высокое содержание сквалена (соединения тритерпенового ряда, принадлежащего к группе каротиноидов) – 14,85 %, а также сложных эфиров, в том числе эфиров фталевой (12,07 %) и трифторуксусной (октатриаконтила трифлуороацетата, принадлежащего к флуорохромам – 8,23 %) кислот.

Таблица 2

Летучие фракции органических соединений
опылительной капли можжевельника

Пик	Органические соединения	% от общего количества	Пик	Органические соединения	% от общего количества
1	4-Пентен-2-ол	0,38	22	Тетракозан	3,27
2	2,5,5-Триметил-2-гексен	0,37	23	Циклононазилоксан	0,82
3	α -Пинен	0,29	24	не идентиф.	1,74
4	3-Циклогексен-1-ол	0,33	25	Пентакозан	4,07
5	Деканал	0,17	26	Бегеновая кислота	1,81
6	Этиловый эфир бензойной кислоты	0,27	27	Бис(2-этилгексил) фталат	6,16
7	Эндо-1-бурбонанол	0,55	28	Тетракозаметил-циклододеказилоксан	1,39
8	α -Кадинол	0,75	29	Гексакозан	4,07
9	α -Бисаболол	0,58	30	Гексакозил ацетат	0,75
10	Гептадекан	0,41	31	не идентиф.	0,77
11	8-Метил-гептадекан	0,39	32	не идентиф.	1,47
12	Бис(2-метилпропиловый) эфир 1,2-Бензенеди-карбоксилиновой кислоты	1,21	33	Гептакозан	4,00
13	Нонадекан	0,56	34	Метилвый эфир тетракозановой кислоты	4,00
14	Дибутил фталат	5,91	35	Октакозан	3,12
15	Эйкозан	1,11	36	Сквален	16,97
16	Генейкозан	1,69	37	Циклононазилоксан	1,53
17	Докозан	2,95	38	Нонакозан	2,51
18	Трикозан	3,13	39	Циклононазилоксан	0,98
19	9-Октадеценамид	8,11	40	Тетратетраконтан	1,18
20	(Амид олеиновой кислоты)		41	Гексатриаконтан	1,33
21	Октадеканамид	0,69	42	Октатриаконтил трифлуороацетат	8,23

Таблица 3

**Состав и относительное содержание сахаров в пыльце
и овулярном секрете можжевельника обыкновенного
(числитель – мг/л, знаменатель – % от общего количества)**

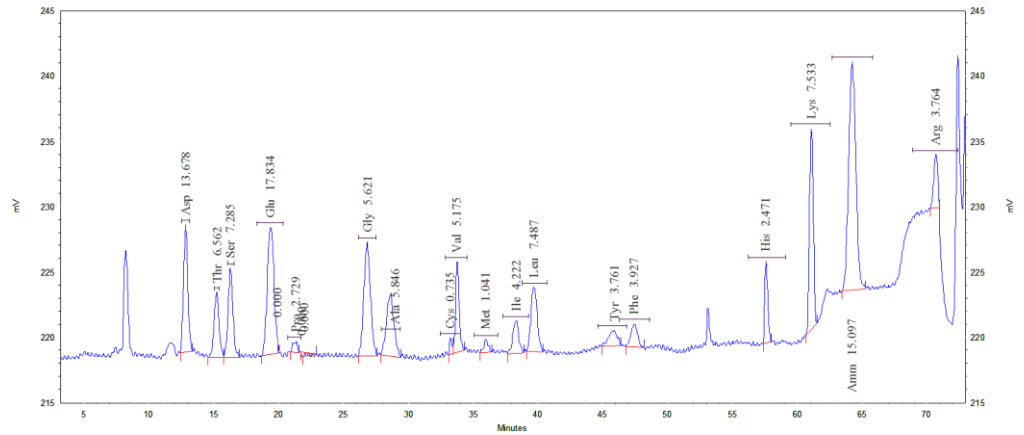
Проба	Содержание сахаров					
	Целлобиоза	Манноза	Арабиноза	Галактоза	Ксилоза	Глюкоза
Пыльца	–	–	<u>206,888</u> 20,8	<u>562,498</u> 56,6	<u>13,651</u> 1,4	<u>210,748</u> 21,2
Секреторная капля	–	–	–	<u>4,860</u> 34,2	–	<u>9,366</u> 65,8

Таблица 4

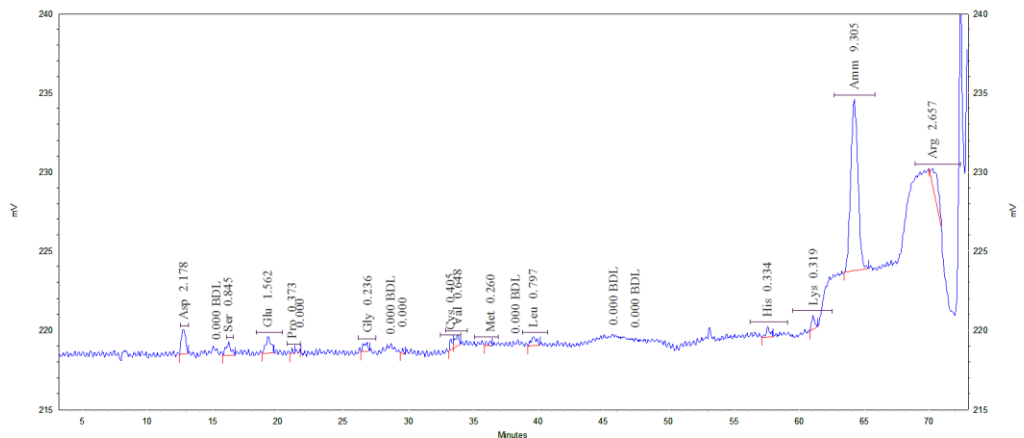
**Состав и относительное содержание аминокислот в пыльце
и овулярном секрете можжевельника обыкновенного**

Аминокислота	Содержание аминокислоты, % от общего количества	
	Пыльца	Секреторная капля
<i>L</i> -Аланин	5,9	0,0
<i>L</i> -Аргинин	3,8	0,0
<i>L</i> -Аспарагиновая кислота	13,7	29,7
<i>L</i> -Цистин	0,7	5,5
<i>L</i> -Глутаминовая кислота	17,9	21,3
Глицин	5,7	3,2
<i>L</i> -Гистидин	2,5	4,6
<i>L</i> -Изолейцин	4,2	0,0
<i>L</i> -Лейцин	7,5	10,9
<i>L</i> -Лизин	7,6	4,4
<i>L</i> -Метионин	1,0	0,0
<i>L</i> -Фенилаланин	3,9	0,0
<i>L</i> -Пролин	2,7	0,0
<i>L</i> -Серин	7,3	11,6
<i>L</i> -Треонин	6,6	0,0
<i>L</i> -Тирозин	3,8	0,0
<i>L</i> -Валин	5,2	8,8

Состав сахаров опылительной капли беднее по сравнению с пыльцой. Следует отметить относительно более высокое содержание глюкозы в опылительной капле по сравнению с пыльцой, где преобладает галактоза. Аминокислотный состав секрета также беднее по сравнению с пыльцой (рис. 2). Как и в пыльце, в составе секрета преобладают аспарагиновая и глутаминовая кислоты, однако общее содержание аминокислот, как и сахаров, в секреторной капле на порядок ниже по сравнению с пыльцой.



a



b

Рис. 2. Хроматограммы пыльцы (а) и опылительной капли (б) можжевельника (аминокислоты)

Микропиларный канал у можжевельника играет роль капилляра для подъема секреторной жидкости к верхнему кончику микропиларного входа семязачатка в начале рецептации. Секреторная жидкость играет важную роль в транслокации пыльцевых зерен к нуцеллусу после окончания рецептации. Пыльца улавливается секреторной каплей, прилипая к ее поверхности.

Вместе с пыльцевыми зернами можжевельника секреторной каплей улавливается значительное количество чужеродной пыльцы и спор, флуктуирующих в это время в воздухе. После ретракции эксудационного секрета весь чужеродный аэропланктон, проникший через микропиллярный канал внутрь семязачатка, локализуется на боковой поверхности нуцеллуса, ниже зоны формирования пыльцевой подушки.

Ретракция секреторной жидкости обеспечивает транслокацию пыльцевых зерен от микропиллярного кончика интегумента к верхушке нуцеллуса, где пыльцевые зерна сбрасывают экзину и прорастают (см. рис. 1, *з*). Вскоре после опыления пыльцевход «шишкоягоды» смыкается за счет зубчатой «сшивки» клеток эпидермиса внутренних поверхностей смежных мегаспорофиллов, формируя заметный трехлучевой рубчик на верхушке «шишкоягод», который сохраняется и после их созревания. Вслед за этим замыкается и микропиллярный канал семязачатка вследствие поперечного вытягивания клеток поверхностных слоев интегумента, смыкающих микропиле. Стигматы «шишкоягоды» засыхают, их кончики обламываются и опадают. Рубцы их также сохраняются и после созревания «шишкоягоды». Сразу же после опыления начинается интенсивное разрастание паренхимы «шишкоягоды», совпадающее по времени с началом формирования нуклеарного гаметофита (см. рис. 1, *в*).

Морфогенез неопыленных семязачатков и макростробилов протекает без существенных нарушений до начала формирования клеточного гаметофита: формируется ядерный гаметофит, происходит дифференциация спермодермы на сарко-, склеро- и эндотесту, образуется «пыльцевая подушка», развиваются структуры «шишкоягоды»: схизогенная паренхима, смоляные ходы, зубчатая сшивка пыльцевхода (рис. 3, *а–в*).

Вскоре после начала формирования клеточного гаметофита в неопыленных семязачатках происходит постепенное затухание митозов, появляются признаки дегенерации тканей в халазальной части семязачатков и в зоне архегониальных комплексов (рис. 3, *з, д*). При этом сохранность неопыленных макростробилов остается высокой. К началу позднего эмбриогенеза в опыленных семязачатках практически все неопыленные женские шишки погибли. В сохранившихся единичных неопыленных шишках наблюдались только дегенерировавшие семязачатки. В этих «шишкоягодах» также наблюдалось начало дегенерации покровных тканей и паренхимы (рис. 3, *е*).

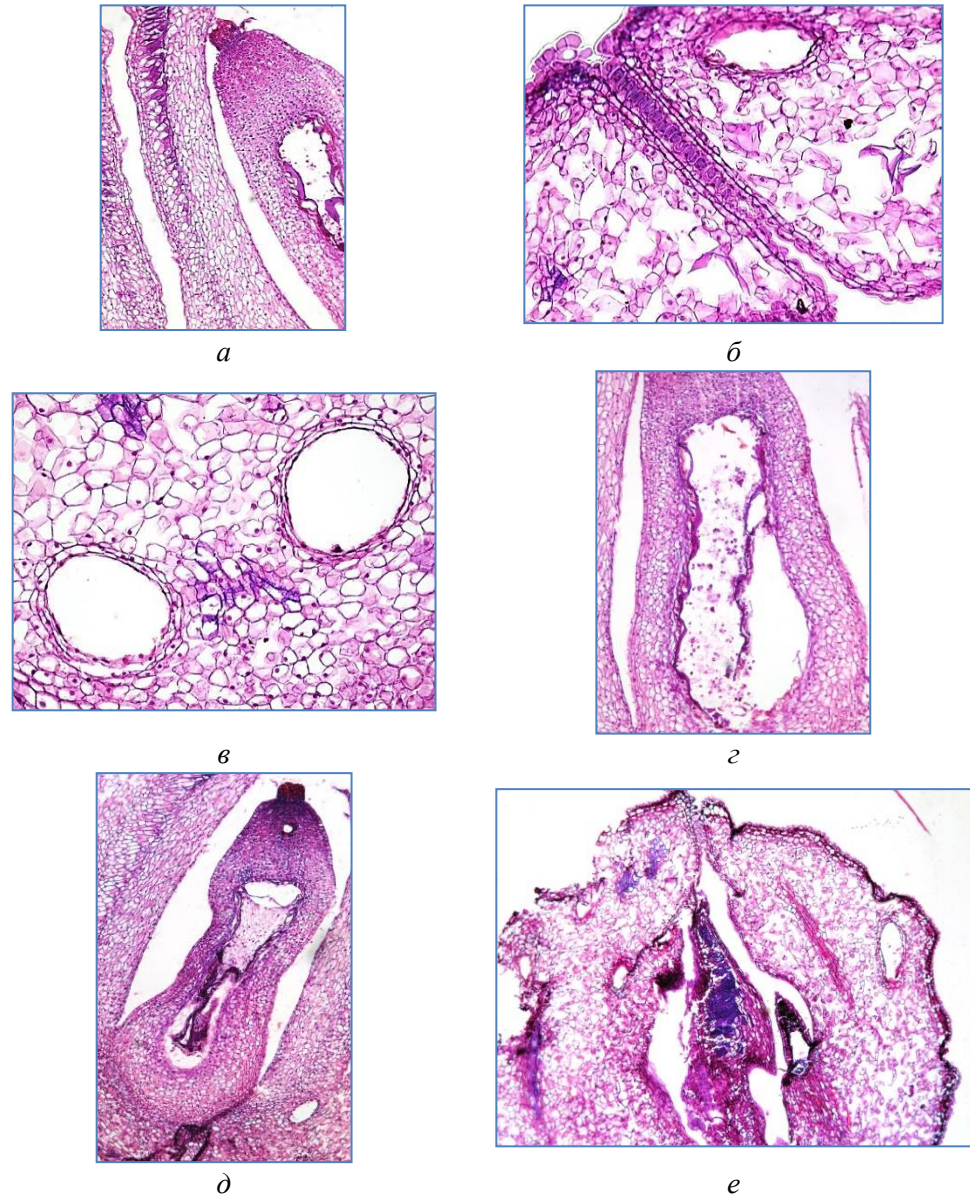


Рис. 3. Гистогенез структур неопыленных тычиночек и «шишкоягод» можжевельника: *a–в* – нормально развивающиеся структуры тычиночек и «шишкоягод» (*a* – нуцеллус тычиночки с «пыльцевой подушкой»; *б* – зубчатая сшивка апикальной части «шишкоягоды», паренхима «шишкоягоды» приобретает характерную ячеистую структуру; *в* – функциональные смоляные ходы в паренхиме «шишкоягоды»; *г* – затухающие деления клеточного гаметофита; *д* – начало дегенерации клеток в центральной части клеточного гаметофита; *е* – дегенерация структур тычиночек и начало деградации тканей «шишкоягоды» (*a–д* – 08-09.07.2014; *е* – 18.08.2014)

Заключение

Результаты исследований подтверждают сложный химический состав и мультифункциональность опылительной капли можжевельника. В составе летучих фракций органических соединений опылительной капли выявлено более 40 веществ, принадлежащих к различным классам. В составе сахаров отмечено относительно высокое содержание глюкозы и галактозы. В аминокислотном составе секрета преобладают аспарагиновая и глутаминовая кислоты.

Внешние агенты (пыльца другого вида) влияют на динамику экссудации и ретракции овулярного секрета можжевельника. При опылении рецептивных семязачатков пыльцой можжевельника полная ретракция экссудационного секрета завершается менее чем за 4 ч. При опылении чужеродной пыльцой втягивание опылительной капли внутрь семязачатка задерживается не менее чем на 12 ч. При отсутствии опыления полная ретракция секреторной жидкости происходит лишь через 120 ч с начала рецептации. Механизм опыления у можжевельника является эффективным и избирательным. После окончания рецептации на апексе нуцеллуса идентифицированы пыльцевые зерна только своего вида.

Отсутствие опыления приводит к деструктивному типу развития тканей семязачатков и «шишкоягод». Морфогенез неопыленных семязачатков и макростробилов протекает без существенных нарушений до начала формирования клеточного гаметофита. Первые признаки дегенерации тканей появляются вскоре после начала формирования клеточного гаметофита и заканчиваются гибелью практически всех неопыленных женских шишек.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Джерсен У. Ботаническая гистохимия: пер. с англ. М.: Мир, 1965. 380 с.
2. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. М.: Колос, 1970. 255 с.
3. Ругузова А.И. Морфо-физиологические особенности формирования пыльцевых зерен и опыления у некоторых видов сем. *Cupressaceae* // Ботан. журн. 2004. Т. 87, № 7. С. 1111–1121.
4. Ругузов И.А., Захаренко Г.С., Склонная Л.У. Закономерности опыления растений порядка *Coniferales* // Цитолого-эмбриол. и генетико-биохим. основы опыления и оплодотворения растений. К.: Наук. думка, 1982. С. 257–259.
5. Ругузов И.А., Склонная Л.У., Чеботарь А.А. Об опылительной капле у хвойных // Ботан. журн. 1992. Т. 77, № 12. С. 40–52.
6. Coulter A., Poullis A.D., von Aderkas P. Pollination drop as dynamic apoplastic secretions // *Flora*. 2012. Vol. 207. P. 482–490.
7. Doyle J. Developmental lines in pollination mechanisms in the *Coniferales* // *Sci. Proc.* 1945. Vol. 24, N 5. P. 43–62.
8. Dumas C., Bowman R.B., Gaude T., Guilly C.M., Heizmann Ph., Roedel P., Rougier M. Stigma and stigmatic secretion reexamined // *Phyton*. 1988. Vol. 28, N 2. P. 193–200.
9. Gelbart G., von Aderkas P. Ovular secretions as part of pollination mechanisms in conifers // *Annals of Forest Science*. 2002. Vol. 59. P. 345–357.
10. Mugnaini S., Massimo N., Massimo G., Beti P., Ettore P. Pollination drop withdrawal in *Juniperus communis*: response to biotic and abiotic particles // *Caryologia*. 2007. Vol. 60, N 1-2. P. 182–184.

11. Nepi M., von Aderkas P., Wagner R., Mugnaini S., Coulter A., Pacini E. Nectar and pollination drops: how different are they? // *Annals of Botany*. 2009. Vol. 104. P. 205–219.
12. O'Leary S.J.B. Proteins in the ovules secretions of Conifers. Diss. ... D. Ph. (dep. of biology). St. Francis Xavier Univ., 1998. 190 p.
13. Owens J.N., Takaso T., Runions C.J. Pollination in conifers // *Trends Plant Sci*. 1998. Vol. 3. P. 479–485.
14. Poullis B.A.D., O'Leary J.B., Haddow J.D., von Aderkas P. Identification of proteins present in the Douglas fir ovular secretion: An insight into conifer pollen selection and development // *Intern. J. Plant Sci*. 2005. Vol. 166. P. 733–739.
15. Wagner R.E., Mugnaini S., Sniezko R., Hardie D., Poullis B., Nepi M., Pacini E., von Aderkas P. Proteomic evaluation of gymnosperm pollination drop proteins indicates highly conserved and complex biological functions // *Sex Plant Reprod*. 2007. Vol. 20. P. 181–189.

Поступила 25.03.15

UDC 582.477.6:581.162.3

DOI: 10.17238/issn0536-1036.2016.4.40

Pollination in Common Juniper (*Juniperus communis* L.): Involving of Pollen and the Male Gametophyte Influence on the Ovules and “Cypress Cones” Development

M.V. Surso, Doctor of Agricultural Sciences, Senior Researcher

N.V. Selivanova, Candidate of Chemical Sciences, Senior Researcher

Institute of Ecological Problems of the North, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Naberezhnaya Severnoy Dviny, 23, Arkhangelsk, 163000, Russian Federation; e-mail: surso@iepn.ru

By the light microscopy we studied the development of the pollinated and unpollinated ovules of juniper since the receptation period prior to the “cypress cones” formation. The morphogenesis of unpollinated ovules and macrostrobiles proceeded without the essential violations prior to the beginning of the cellular gametophyte formation. Soon after the beginning of its formation there was a gradual attenuation of mitoses in the unpollinated ovules, the signs of tissue degeneration in the chalazae and archegonial complexes zones. At the same time the safety of unpollinated macrostrobiles remained high. To the beginning of a late embryogenesis almost all unpollinated female cones in the pollinated ovules were lost. The remaining single unpollinated cones showed the signs of degeneration of external protective tissue and parenchyma of the “cypress cones”. The dynamics of exudation and retraction of a pollination drop was studied *in vitro* in order to learn the influence of the external agents on their dynamics in juniper. 3 variants of pollination were tested: by vital pollen of juniper (a collection of the previous year); by freshly pollen of Scotch pine; without pollination. At pollination by foreign pollen the retraction delayed for at least 12 hours. In the absence of pollination the exudation activity of a micropylar zone of the ovules lasted at least 60 hours. Full retraction of the secretory fluids at the same time took place after 120 hours. The qualitative composition of volatile fractions of organic compounds of a juniper pollination drop was studied by the gas chromatograph/mass spectrometer QP-2010 Ultra (“Shimadzu”, Japan). The amino acid composition of the juniper exudation secretion and pollen was defined by the aminoacid analyzer BioChrom 30+ (“Biochrom”, Great Britain). Sugar composition of the juniper pollination drop and pollen was studied by a HPLC system Nexera XR (“Shimadzu”, Japan). More than 40 volatile substances belonging to the various classes of

organic compounds were identified. Their ratio is the next: alkanes – 33.79 %, monoterpenes – 0.29 %, triterpenes – 16.97 %, sesquiterpene alcohols – 1.33 %, esters – 18.41 %, carboxylic acids – 1.81 %, carboxylic acids – 8.81 %. The results of the research confirm a complex chemical composition and multifunctional performance of a pollination drop. The pollination mechanism in juniper is effective and selective. The lack of pollination leads to a destructive type of the ovules and “cypress cones” tissue development.

Keywords: common juniper, pollination, pollination drop, ovule.

REFERENCES

1. Jensen W.A. *Botanical Histochemistry. Principles and Practices*. USA, San Francisco, 1962. 408 p.
2. Pausheva Z.P. *Praktikum po tsitologii rasteniy* [Handbook on Plants Cytology]. Moscow, 1970. 255 p.
3. Ruguzova A.I. Morfo-fiziologicheskie osobennosti formirovaniya pyl'tsevykh zeren i opyleniya u nekotorykh vidov sem. *Cupressaceae* [Morphological and Physiological Characteristics of the Pollen Grains Formation and Pollination in Some Species of the *Cupressaceae* Family]. *Botanicheskiy zhurnal*, 2004, vol. 87, no. 7, pp. 1111–1121.
4. Ruguzov I.A., Zakharenko G.S., Sklonnaya L.U. Zakonomernosti opyleniya rasteniy poryadka *Coniferales* [Laws of Plant Pollination of the *Coniferales*]. *Tsitologiya i genetiko-biokhim. osnovy opyleniya i oplodotvoreniya rasteniy* [Cytological and Embriological and Genetic and Biochemical Basics of Pollination and Fertilization of Plants]. Kiev, 1982, pp. 257–259.
5. Ruguzov I.A., Sklonnaya L.U., Chebotar' A.A. Ob opylitel'noy kaple u khvoynykh [On the Pollination Drop in Conifers]. *Botanicheskiy zhurnal*, 1992, vol. 77, no. 12, pp. 40–52.
6. Coulter A., Poullis A.D., von Aderkas P. Pollination Drop as Dynamic Apoplastic Secretions. *Flora*, 2012, vol. 207, pp. 482–490.
7. Doyle J. Developmental Lines in Pollination Mechanisms in the *Coniferales*. *Sci. Proc.*, 1945, vol. 24, no. 5, pp. 43–62.
8. Dumas C., Bowman R.B., Gaude T., Guilly C.M., Heizmann Ph., Roeckel P., Rougier M. Stigma and Stigmatic Secretion Reexamined. *Phyton*, 1988, vol. 28, no. 2, pp. 193–200.
9. Gelbart G., von Aderkas P. Ovular Secretions as Part of Pollination Mechanisms in Conifers. *Annals of Forest Science*, 2002, vol. 59, pp. 345–357.
10. Mugnaini S., Massimo N., Massimo G., Beti P., Ettore P. Pollination Drop Withdrawal in *Juniperus communis*: Response to Biotic and Abiotic Particles. *Caryologia*, 2007, vol. 60, no. 1–2, pp. 182–184.
11. Nepi M., von Aderkas P., Wagner R., Mugnaini S., Coulter A., Pacini E. Nectar and Pollination Drops: How Different are They? *Annals of Botany*, 2009, vol. 104, pp. 205–219.
12. O'Leary S.J.B. *Proteins in the Ovules Secretions of Conifers*: Ph. D. Diss. Canada, Antigonish, Nova Scotia, 1998. 190 p.
13. Owens J.N., Takaso T., Runions C.J. Pollination in Conifers. *Trends Plant Sci.*, 1998, vol. 3, pp. 479–485.
14. Poullis B.A.D., O'Leary J.B., Haddow J.D., von Aderkas P. Identification of Proteins Present in the Douglas Fir Ovular Secretion: an Insight into Conifer Pollen Selection and Development. *Intern. J. Plant Sci.*, 2005, vol. 166, pp. 733–739.
15. Wagner R.E., Mugnaini S., Sniezko R., Hardie D., Poullis B., Nepi M., Pacini E., von Aderkas P. Proteomic Evaluation of Gymnosperm Pollination Drop Proteins Indicates Highly Conserved and Complex Biological Functions. *Sex Plant Reprod.*, 2007, vol. 20, pp. 181–189.

Received on March 25, 2015