

Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение  
высшего образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
институт фундаментальной биологии и биотехнологии  
кафедра биофизики

УТВЕРЖДАЮ  
Заведующий кафедрой

\_\_\_\_\_ \_\_\_\_\_  
подпись      инициалы,  
фамилия

« \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20 \_\_\_\_ г.

**БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА**

03.03.02 Физика

код – наименование направления

Гистометрические закономерности клеточной структуры годичных колец  
лиственницы сибирской

Руководитель	_____	<u>доцент, к.б.н</u>	<u>Свидерская.И.В</u>
	подпись, дата	должность, ученая степень	инициалы, фамилия
Выпускник	_____		<u>Абакаева Т. А.</u>
	подпись, дата		инициалы, фамилия

Красноярск 2016

# ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	4
1.1 Общее описание клеточной структуры годичных колец хвойных.....	4
1.2 Ранняя и поздняя древесина.....	7
1.3 Диапазоны изменчивости ширины годичного кольца, числа клеток в кольце, зависимость ширины годичного кольца от числа клеток в кольце. Диапазон изменчивости гистометрических размеров трахеид.....	10
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	12
2.1 Получение тонких срезов.....	12
2.2 Получение изображений и измерений размеров клеток и толщины клеточных стенок.....	13
2.3 Метод трахеидограмм.....	14
2.4 Оценки плотности клеток.....	20
3. РЕЗУЛЬТАТЫ.....	24
3.1 Зависимость толщины клеточной стенки от размера люмена и трахеиды для отдельных годичных колец. Разделение клеток на раннюю и позднюю древесину.....	24
3.2 Зависимость гистометрических параметров трахеид от ширины годичного кольца и числа клеток в кольце.....	25
3.3 Зависимость максимальной плотности клеток от числа клеток в кольце и от ширины годичного кольца.....	27
3.4 Расчет, сравнение и оценка достоверности коэффициентов корреляции между гистометрическими параметрами трахеид и количеством клеток в кольце.....	27
ОБСУЖДЕНИЕ И ВЫВОДЫ.....	30
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	31

## ВВЕДЕНИЕ

В дендрохронологических исследованиях данные о временной изменчивости клеточной структуры ксилемы используются как косвенный источник информации о динамике климатических изменений в прошлом. Формирование клеток ксилемы зависит от климатических и географических условий, а большинство клеток ксилемы остаются неизменными на протяжении всей жизни дерева, что позволяет анализировать изменения климата прошлого с высоким временным разрешением.

Стоит отметить, что изменчивость клеточной структуры ксилемы многокомпонентна. Так помимо компоненты, накладываемой влиянием климата, есть компонента, обусловленная внутренними закономерностями. Из этого следует, что изменения некоторых гистометрических параметров клеток ксилемы связаны между собой. Понимание этих закономерностей необходимо для разделения внутренней динамики гистометрических параметров и изменчивости, обусловленной влиянием климата.

Цель: описать зависимости гистометрических характеристик годичного кольца: радиального размера трахеид (РРТ), толщины клеточной стенки (ТКС) и максимальной плотности клеток от его ширины и числа клеток в кольце.

Задачи:

1. Получить тонкие срезы ксилемы и цифровые микро изображения срезов.
2. Провести измерения размеров клеток, получить значения гистометрических параметров годичных колец и построить средние трахеидограммы.
3. Установить характер и получить количественные оценки зависимости между РРТ, ТКС, плотностью и числом клеток в кольце.



## 1.ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Общее описание клеточной структуры годичных колец хвойных

Большая часть ксилемы (94-95 %) состоит из мертвых, полых, сильно вытянутых, аксиально ориентированных клеток с жесткой лигнифицированной стенкой, называемых трахеидами. Трубковидная полая форма этих клеток приспособлена для протекания по ним жидкости под отрицательным гидростатическим давлением. Стенка зрелых трахеид состоит из нескольких слоев: первичной клеточной стенки, которая имеется у всех растительных клеток, а также вторичной клеточной стенки, которая состоит из волокон целлюлозы и гемицеллюлозы, инкрустированных лигнином, а также третичной стенки, придающей клетке дополнительную прочность [ СІТАПІОН Таk85 \l 1033 ]. Так, трахеиды сочетают в себе водопроводящую и опорную функции. Особенность компоновки аксиально проводящих клеток в ксилеме хвойных заключается в том, что они плотно прилегают друг к другу и расположены радиальными рядами, что хорошо видно на поперечном срезе. Эти ряды клеток называют еще радиальными файлами (Рис. 1.1). Паренхимные элементы составляют небольшую долю в структуре древесины и в целом не нарушают линейной упорядоченности в расположении большинства клеток [ СІТАПІОН Эса69 \l 1049 \m Чав \m Ваг].

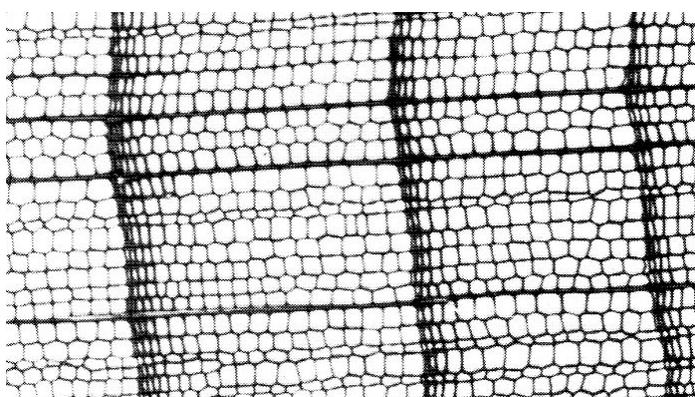


Рис. 1.1. Поперечный срез древесины *Abies sibirica*.

Трахеиды сообщаются между собой через округлые окаймленные поры, которых расположены почти исключительно на радиальных стенках (Рис. 1.2). Поры соединяют трахеиды между собой, а также с паренхимными клеткам и лучевыми трахеидами. [ CITATION Lie67 \m Pet72 \m Spe90 \l 1049 ]. Поры в оболочках контактирующих клеток расположены напротив друг друга. Срединная пластинка и две первичные оболочки клеток между двумя порами образуют сетчатую мембрану. Две лежащие друг против друга поры и поровая мембрана образуют пару пор. У хвойных пород в центральной части сетчатой мембраны имеется непроницаемое для воды утолщение – торус. Диаметр торуса несколько шире отверстия окаймленной поры (Рис. 1.3) [ CITATION JFS84 \l 1049 ], и при большой разнице давлений между соседними трахеидами торус может быть прижат давлением к отверстию апертуры. Поскольку диаметр торуса больше, чем диаметр апертуры, то пора будет полностью закрыта для потока воды.

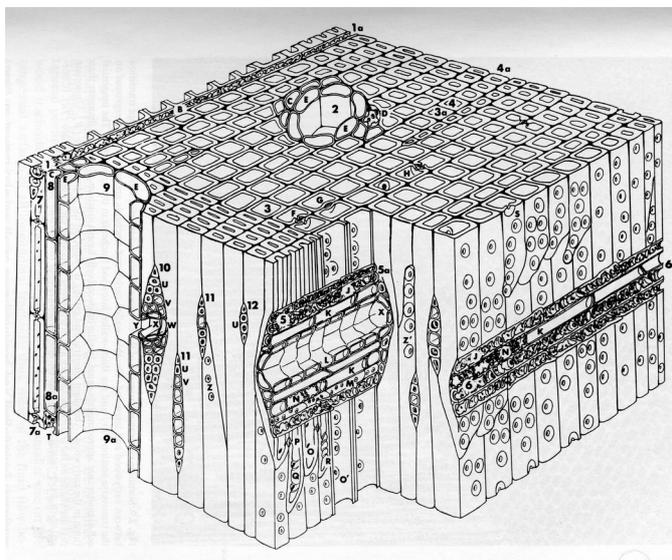


Рис. 1.2. Строение древесины хвойных [ CITATION JFS84 \l 1049 ].

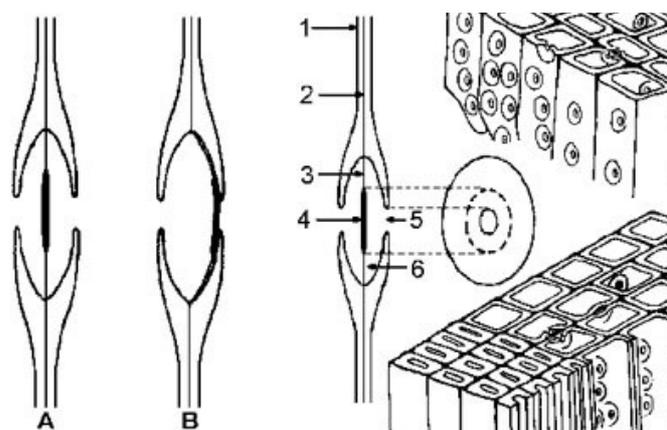


Рис. 1.3. Схема поперечного сечения пары окаймленных пор с торусом. А – открытая пора. В – аспирированная пора. Справа – расположение пор на радиальных стенках трахеид. 1– клеточная стенка, 2 – срединная пластинка (и первичная клеточная стенка), 3 – сетчатая мембрана, 4 – торус, 5 – апертура поры, 6 – камера поры, [ CITATION Ust05 \l 1049 \m Pet70].

Межклеточные поры в древесине: (1) обеспечивают возможность движения воды между отдельными проводниками не только в направлении снизу вверх, но и в горизонтальном направлении, что необходимо, когда отдельный проводник выходит из строя и появляется горизонтальный градиент давления; (2) препятствуют проникновению воздуха из эмболизированного проводника в соседний, заполненный водой проводник, т.е. функционируют как предохранительные клапаны, благодаря которым поддерживается отрицательное давление в проводящих элементах [CITATION Dix14 \l 1049 \m Van99]. С другой стороны, именно на мембранах межклеточных пор происходит образование воздушных пузырьков, что может стать причиной закупорки проводника воздухом [ CITATION Cro85 \m Soc92 \m Jar95 \m Заполнитель4 \l 1033 ]. Общее количество пор в одной трахеиде может достигать – нескольких сотен.

## 1.2 Ранняя и поздняя древесина

У хвойных деревьев семейства *Pinaceae* в бореальной и умеренной зонах в ксилеме четко выделяются годовичные слои прироста, связанные с чередованием сезонов роста и покоя и неравномерностью ростовых

процессов в течение сезона. Внутренняя часть годичного слоя состоит из тонкостенных трахеид с люменами большого радиального размера, который называется ранней древесиной. В направлении наружной границы кольца уменьшается радиальный размер трахеид, люменов и увеличивается толщина клеточной стенки. Наружный слой толстостенных маленьких трахеид называется поздней древесиной. Уменьшение радиальных размеров трахеид и увеличение толщины клеточной стенки, т.е. переход от ранней древесины к поздней может быть постепенным или резким. В случае постепенного перехода выделяют переходную зону, клетки которой имеют радиальные размеры, значительно превосходящие размеры клеток поздней зоны, но толстые стенки [ CITATION Яце61 \l 1033 \m Stu63] (Рис. 1.4). Резкая граница между маленькими толстостенными клетками, образовавшимися в конце одного сезона, поздней древесиной, и большими тонкостенными трахеидами, образовавшимися в начале следующего, ранней древесиной, и позволяет выделять годичные слои прироста, которые на поперечном срезе ствола, ветвей и корней выглядят как концентрические окружности – годичные кольца.

Ширина годичных колец варьирует в связи с большим количеством факторов: условиями роста в сезоне, видовыми особенностями, климатогеографическими, фитоценотическими условиями и многими другими [ CITATION Fri76 \l 1049 ]. Ширина годичных колец определяется, прежде всего, числом клеток в радиальном файле [ CITATION Тер811 \l 1049 \m Zob]. Внутренняя структура годичных колец, в свою очередь, прежде всего, обусловлена не морфологическим разнообразием или пространственным расположением составляющих их клеток, а изменчивостью их размеров. Касается это, прежде всего радиальных размеров трахеид, люменов и радиальной толщины тангентальных клеточных стенок [ CITATION Чав \l 1033 \m Pan70 \m Sch93 \m Zob].

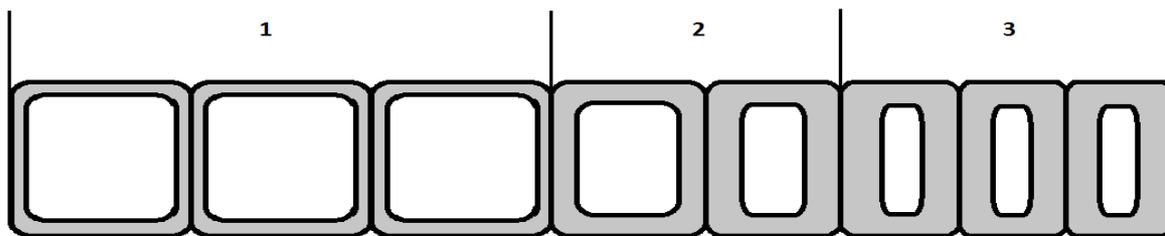


Рис. 1.4. Схема строения годичного кольца: 1 - ранняя древесина, 2 – переходная зона, 3 – поздняя древесина.

Интерес к внутренней, т.е. клеточной структуре годичных колец как к источнику информации о росте дерева и условиях роста определяется тремя фактами.

1. Клетки, образующие радиальный ряд, чаще всего являются клонами, т.е. потомками одной инициальной клетки и расположены в радиальном файле в порядке их появления [ CITATION Van55 \l 1049 \m New56]. Если пронумеровать клетки от внутренней границы кольца к внешней, то каждая последующая клетка в ряду начала радиальное растяжение не раньше своей предшественницы.
2. Изменчивость конечных радиальных размеров трахеид связана с динамикой процессов сезонного роста годичного кольца. Например, отмечается, что в период спада камбиальной активности в середине сезона формируются более мелкие клетки, чем те, которые образуются до и после наступления спада [ CITATION Леб69 \l 1033 \m Fri76].
3. Изменчивость радиального размера трахеид также связана с динамикой внешних условий вегетационного периода [ CITATION Lad \l 1049 \m Fri76 \m Sch93].

Считается, что существование слоев ранней и поздней древесины в годичных кольцах является прогрессивным эволюционным приобретением. Способность формировать в определенной последовательности раннюю и позднюю древесину появилась позже, чем многолетняя непрерывность работы камбия у хвойных. Филогенетическими предшественниками трахеид позднего типа являются трахеиды меньших радиальных размеров с

незначительно утолщенными стенками, которые формировались во время пауз в терминальном росте, и формирование которых можно наблюдать в настоящее время у отдельных реликтовых видов и/или на ранних этапах онтогенеза деревьев [ CITATION Bar64 \m Чав \l 1049 \m Spe03]. Логично полагалось, что анатомическое различие между трахеидами раннего и позднего типа является отражением их функциональной специализации: клетки раннего типа выполняют в основном проводящую функцию, клетки позднего типа – опорную, придавая стволу необходимую механическую прочность. Это означает, что в такой древесине выполнение проводящей и опорной функций частично разделено между разными клетками годичного кольца [ CITATION Bai53 \m Boa83 \m Mar98 \m Ugg01 \m Dom02 \l 1049 ]. Часто упоминается, что проводящий слой ранней древесины формируется в начале сезона для того, чтобы поддерживать высокие скорости расходования воды в период благоприятных условий начала сезона, когда достигаются высокие скорости транспирации и фотосинтеза [ CITATION Arc01 \l 1049 \m Бен06]. Деревья одного вида в различных климатогеографических условиях, а также одно дерево на протяжении жизни могут формировать кольца различной структуры, т.е. с широкой или узкой поздней древесиной, широкой или узкой переходной зоной и т.д. Это свидетельствует о том, что соотношение между ранней, переходной и поздней зонами определяется условиями роста в сезоне, а значит и особенностями динамики сезонного роста кольца [ CITATION Кра61 \m Zah64 \m Мел79 \l 1033 \m Ken61 \m Вал68 \m Zob]

### **1.3 Диапазоны изменчивости ширины годичного кольца, числа клеток в кольце, зависимость ширины годичного кольца от числа клеток в кольце.**

#### **Диапазон изменчивости гистометрических размеров трахеид.**

На величину годичного прироста деревьев (или активность камбиальных клеток) оказывает влияние большое количество как внутренних, так и внешних комплексно действующих факторов. Из внутренних факторов наибольшее влияние оказывают порода дерева,

наследственная индивидуальная изменчивость, возраст и плодоношение [ CITATION ПДК83 \l 1049 ] [ CITATION ЕАВ00 \l 1049 ]. Из внешних факторов на величину прироста влияют климатические и почвенно-грунтовые условия, фитоценотические взаимоотношения, разного рода катастрофы (пожары, буреломы, нападения насекомых вредителей), а также хозяйственная деятельность человека. Радиальный прирост деревьев (ширина годичного кольца) находится под контролем внутренних факторов и модифицируется внешними.

Общая ширина годичного кольца является функцией числа клеток в кольце и распределения их по размерам, т. е.

$$\text{ШГК} = \sum_{i=1}^n d_i$$

(1.1),

где ШГК – ширина годичного кольца,  $d_i$  – диаметр  $i$ -й клетки. При одном числе клеток, но разных кривых распределения кольца будут отличаться по ширине, хотя продукция клеток была одинакова, и наоборот, при неодинаковой продукции клеток может оказаться тождественной ширина годичных колец, если резко различаются кривые распределения клеток по размерам. [ CITATION ИАТ81 \l 1049 ].

Радиальный размер трахеид варьирует в широком диапазоне. Средние для видов значения радиального диаметра трахеид в стволе варьируют от  $\approx 12$  до 55 микрон. Средние для вида значения толщины клеточных стенок варьирует от  $\approx 2$  до 8 микрон. Аксиальный размер трахеид в десятки раз превышает их тангентальный и радиальный размеры и варьирует в диапазоне от  $\approx 0,7$  до 8 мм. Если рассматривать средневидовые значения, то чем больше поперечный размер трахеиды, тем больше ее аксиальный размер. [ CITATION Саг88 \l 1049 \m Pit05 \m Spe06].

## 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования образцов древесины лиственницы сибирской (*Larix sibirica*) проводились в районе Монгун-Тайги республики Тува, где лиственница является основным лесообразующим видом. Приростным буравом был проведен сбор кернов с 5 деревьев для измерения клеточных характеристик годовых колец с 1900 по 2008 год включительно.

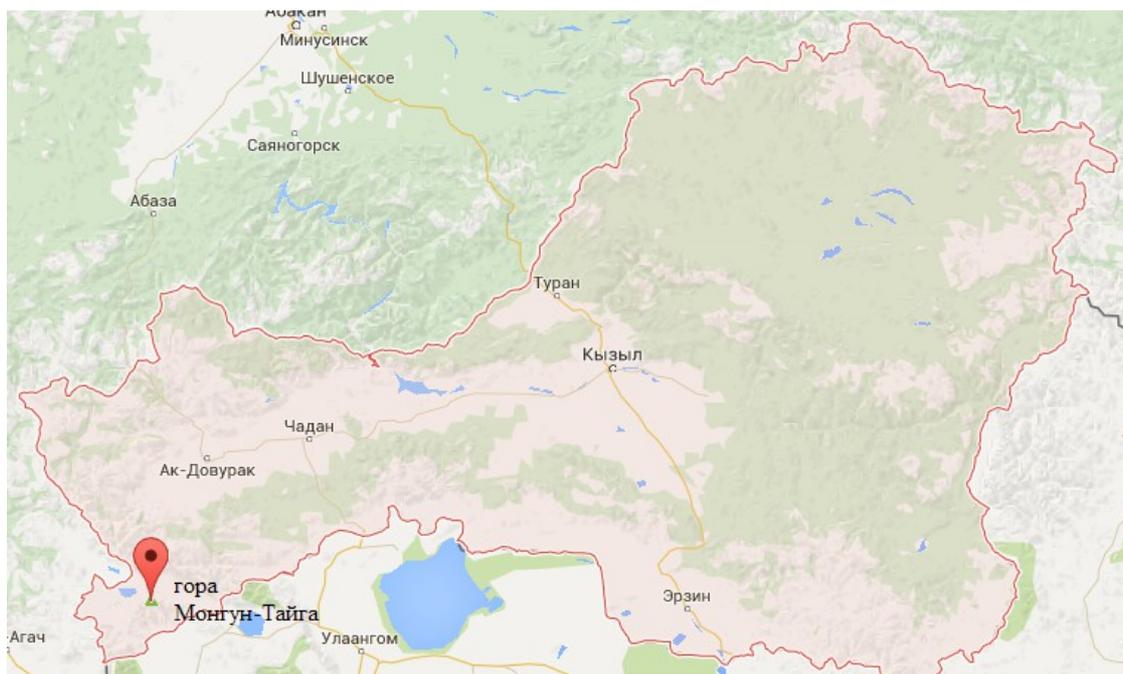


Рис 2.1 Карта расположения места сбора образцов древесины.

### 2.1 Получение тонких срезов

Для получения данных о клеточной структуре годовых колец древесины лиственницы каждый керн размягчали кипячением в воде в течение 2-х часов. С помощью санного микротомы HM450, Thermo получались тонкие (10 мкм) срезы древесины. Плоскость среза перпендикулярна трахеидам. Окраска срезов проводилась раствором Сафранина в течение 2-3 минут. Затем срезы были заключены между предметным и покровными стёклами в оптически прозрачную среду глицерина. Края стекол были загерметизированы, чтобы избежать попадания газовых пузырей и посторонних частиц в среду микротомного препарата.

## 2.2 Получение изображений и измерений размеров клеток и толщины клеточных стенок.

Микрофотографии поперечных срезов древесины были получены с помощью флуоресцентного микроскопа (Apotome Fluorescence Microscope, ZEISS Axio Imager Z1). На полученных микрофотографиях проводились измерения ширины годичного кольца и гистометрических параметров трахеид для каждого кольца

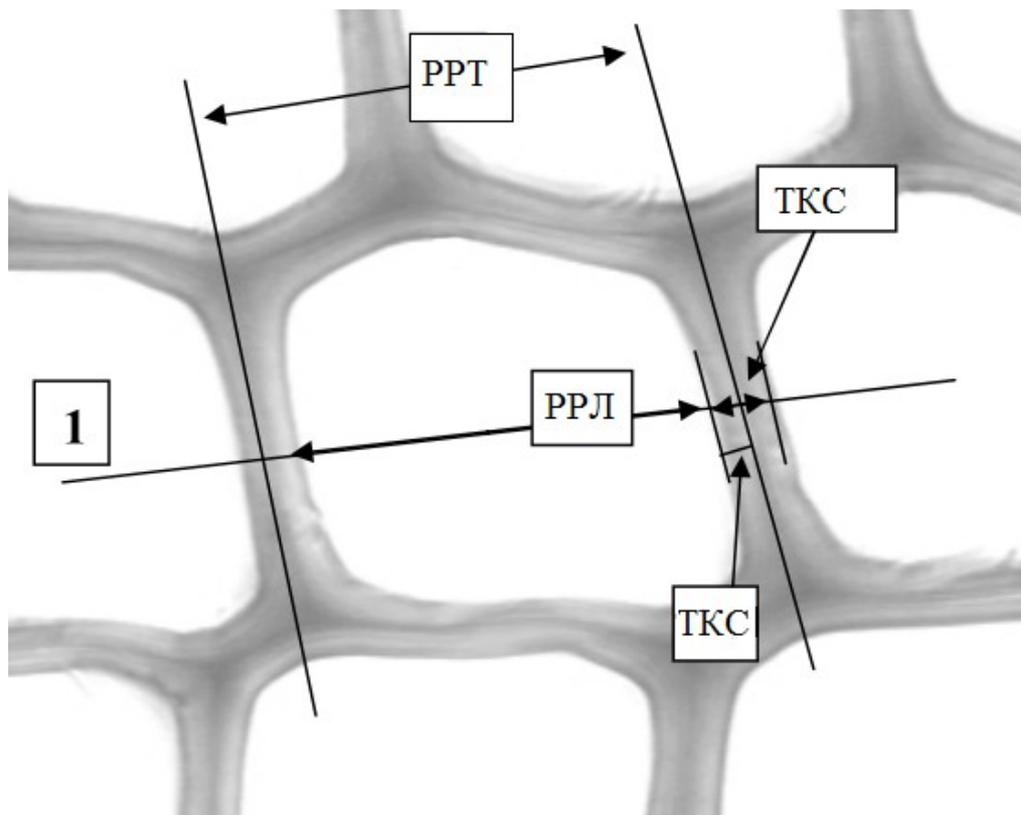


Рис.2.2. Измеряемые структурные элементы трахеид (Силкин, 2005).

Основными измеряемыми гистометрическими параметрами трахеид являются:

1. Радиальный размер трахеид – PPT;
2. Радиальный размер люмена – PPL;
3. Толщина клеточной стенки – ТКС;

Измерение PPT и PPL проводятся вдоль радиальной линии 1 (рис. 2.2), перпендикулярной клеточным стенкам таким образом, чтобы точки пересечения линии с клеточными стенками проходили в средней части

клеточных стенок. ТКС измеряется в средней части двойной клеточной стенки по линии 1 так же перпендикулярно клеточным стенкам.

Измерения гистометрических размеров трахеид проводились вдоль случайно выбранных радиальных рядов, называемых радиальными файлами. Минимально допустимое число измеряемых радиальных файлов – 5. В этом случае относительная погрешность измерения радиальных размеров клеток и толщины клеточной стенки не будет превышать 10%.

### 2.3 Метод трахеидограмм

Трахеидограммой называется график, где по горизонтальной оси отмечен номер клетки в радиальном файле от внутренней границы кольца к внешней, а по вертикальной оси РРТ, затем ТКС, а затем и их производных, РРЛ, площади поперечного сечения клеточной стенки, плотность клеток и т.д. (Рис.2.3). В лимитированных условиях роста форма трахеидограмма специфична условиям роста в сезоне. Деревья из схожих лесорастительных условий в один и тот же год имеют похожие трахеидограммы, а трахеидограммы годовых колец разных лет различаются по форме в том случае, если различаются погодные условия. В большой степени сходство трахеидограмм проявляется в одинаковом относительном расположении локальных максимумов и минимумов размеров клеток внутри годовых колец, а также сходством размеров клеток, которые составляют эти экстремумы. Самыми главными и взаимосвязанными особенностями трахеидограмм являются:

1. Форма трахеидограмм меняется от сезона к сезону и, можно сказать, специфична условиям роста;
2. Трахеидограммы колец одного года роста от разных деревьев из одного места произрастания с разным числом клеток имеют похожую форму (Рис.2.4). [ СІТАЦІОН ІАТ811 \І 1049 ]

Существует специальный метод стандартизации или нормировки трахеидограмм, который представляет собой алгоритм для расчетов и

реализован в виде компьютерной программы. Способ заключается в количественном преобразовании трахеидограммы состоящей из  $N$  точек в некую стандартную трахеидограмму, состоящую из  $M$  точек, где  $M$  средней для годичного кольца величиной или единой стандартной величиной для всех сравниваемых колец. Этот метод был назван методом нормировки или стандартизации трахеидограмм.

Средняя для кольца трахеидограмма рассчитывается следующим образом. Исходная трахеидограмма каждого отдельного ряда представляет собой пронумерованную последовательность чисел  $\{D_{i,j}\}$ , где  $D_{i,j}$  –

радиальный размер клетки в  $i$ -ой позиции  $j$ -го радиального файла с числом клеток в отдельных файлах  $N_j$ , т.е.  $i$  меняется от 1 до  $N_j$ . Среднее число клеток

в кольце  $M = \frac{1}{K} \sum_{j=1}^K N_j$ , где  $K$  – число измеренных радиальных файлов.

Последовательность исходных размеров каждого радиального файла преобразуется в нормированную последовательность  $\{S_{i,j}\}$  с числом клеток

равным среднему числу клеток  $M$  по следующей формуле:

$$S_{i,j} = \frac{1}{N_j} \sum_{m=N_j(i-1)+1}^{i \cdot N_j} D_{k(m),j} \quad (2.1),$$

где  $k(m) = 1 + \text{int} \left\lfloor \frac{m-1}{M} \right\rfloor$ , (2.2),

где  $\text{int}$  - целая часть числа;  $d_{k(m),j}$  – радиальный размер клетки в  $k$ -ой позиции  $j$ -го ряда.

При расчетах по этой формуле массив  $\{D_{i,j}\}$  преобразуется сначала в

промежуточную последовательность с числом членов  $L=M*N_j$  повторением каждого элемента исходной последовательности  $M$  раз и последующим сглаживанием этой промежуточной последовательности скользящей средней с шагом  $N_j$ . Нормированные (стандартные) трахеидограммы индивидуальных рядов имеют одинаковое число клеток  $M$ . Получение средней для кольца трахеидограммы производится простым усреднением трахеидограмм отдельных рядов по формуле

(2.3),

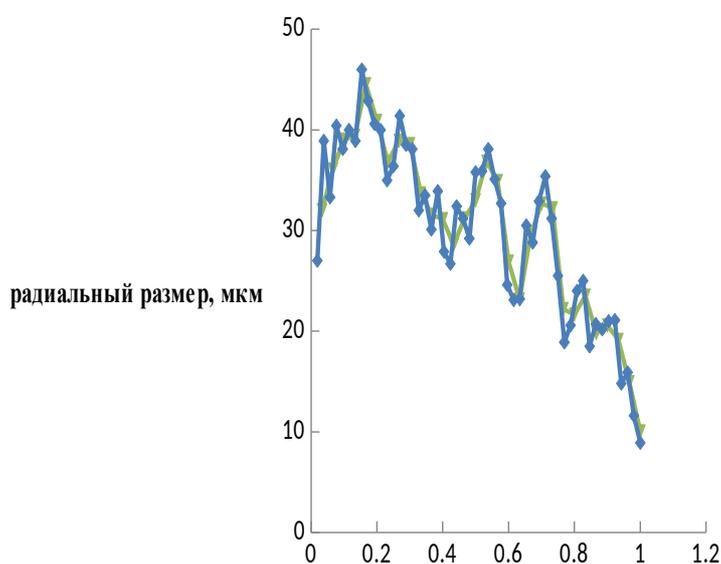
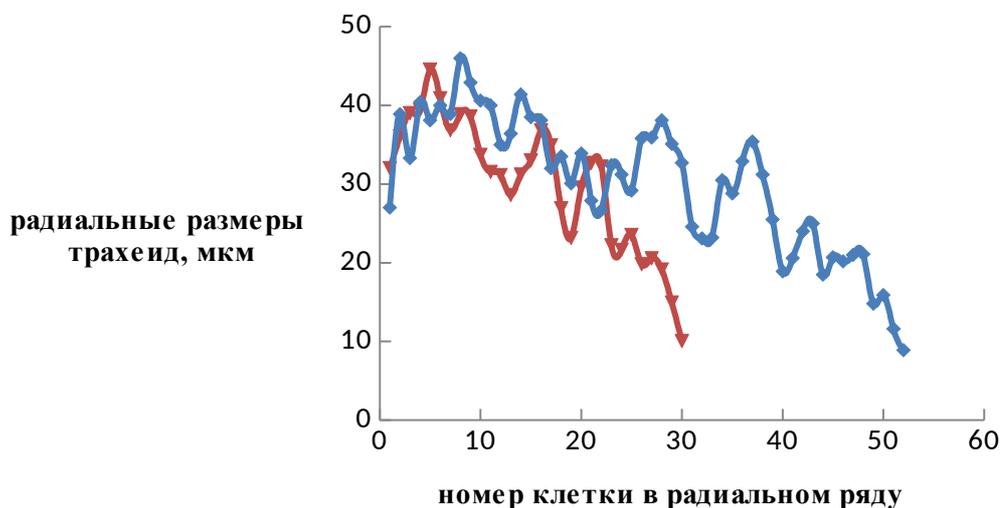
$$\bar{S}_{i,j} = \frac{1}{K} \sum_{j=1}^K S_{i,j}$$

Таким образом, если исходная трахеидограмма имеет число клеток большее, чем  $M$ , то она «сжимается» этой процедурой. Если исходная трахеидограмма имеет число клеток меньше, чем  $M$ , то она «растягивается». Пример использования этой процедуры для получения средней трахеидограммы, также средних значений толщины клеточных стенок приведен на Рис. 2.3.

Для сравнения трахеидограмм колец различной ширины, а значит с различным числом клеток, трахеидограммы отдельных рядов кольца нормировались не к среднему для кольца числу клеток, а к стандартному числу клеток, одинаковому для всех сравниваемых колец.

Рис. 2.3. Радиальные размеры трахеид (РРТ) и толщина клеточных стенок (ТКС) в отдельных радиальных рядах и средние значения для кольца сосны.

Как показывает сравнение исходных трахеидограмм со средними нормированными к разному числу клеток, в трахеидограммах при такой процедуре нормировки в нормированной трахеидограмме сохраняется относительное положение клетки по номеру позиции в радиальном файле (Табл. 1). Это означает, что не изменяется относительное положение экстремумов по сравнению с исходной трахеидограммой. Сравнение абсолютных значений экстремумов показывает несущественное их изменение в нормированной трахеидограмме по сравнению с исходной. Некоторое изменение значений точек в нормированной трахеидограмме по сравнению с исходной объясняется тем, что происходит сглаживание. Основные характерные черты исходной трахеидограммы сохраняются в стандартной.



относительное положение клетки по числу клеток в исходной или нормированной трахеидограмме

Рис. 2.4. А- Исходная и нормированная трахеидограммы ( число клеток в исходной трахеидограмме 52). В кружках номера трахеидограммы. Б – Те же траидограммы, но оп оси абцисс – относительное положение клеток в траидограмме.

Таблица 1. Расположение и значения характерных точек в исходной и нормированной трахеидограммах (Рис. 2.4).

ОТНОСИТЕЛЬНОЕ ПОЛОЖЕНИЕ ХАРАКТЕРНЫХ ТОЧЕК							
Номер характерной точки	1	2	3	4	5	6	7
Исходная трахеидограмма из 52 клеток	0.02	0.17	0.27	0.42	0.54	0.71	1

<i>Нормированная трахеидограмма из 30 клеток</i>	<b>0.03</b>	<b>0.17</b>	<b>0.27</b>	<b>0.43</b>	<b>0.53</b>	<b>0.70</b>	<b>1</b>
<b>ЗНАЧЕНИЯ ХАРАКТЕРНЫХ ТОЧЕК, МКМ</b>							
<i>Номер характерной точки</i>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>
<i>Исходная трахеидограмма из 52 клеток</i>	<b>27</b>	<b>42.9</b>	<b>41.4</b>	<b>26.7</b>	<b>38.1</b>	<b>36.4</b>	<b>8.9</b>
<i>Нормированная трахеидограмма из 30 клеток</i>	<b>32</b>	<b>44.5</b>	<b>38.9</b>	<b>28.5</b>	<b>36.8</b>	<b>32.7</b>	<b>10.4</b>

Метод трахеидограмм изначально разрабатывался для анализа данных по изменчивости радиальных размеров трахеид в годичных кольцах хвойных. В дальнейшем он стал применяться для анализа изменчивости других морфометрических (гистометрических) параметров проводящих клеток ксилемы хвойных: толщины клеточной стенки, радиального размера (диаметра) люмена, тангентального размера люмена, и также производных гистометрических величин: площадь поперечного сечения стенки, отношение площади поперечного сечения к площади поперечного сечения трахеиды, проводимость и т.д.. Применение метода стандартизации по отношению к другим морфометрическим параметрам трахеид ничем не отличается. В настоящей работе термин трахеидограмма используется в широком смысле. Под трахеидограммой понимается совокупность данных об изменчивости морфометрических параметров трахеид вдоль радиуса годичного кольца, а не только одного радиального размера трахеиды, т.е. трахеидограмма включает в себя пронумерованные клетки, а каждая из клеток в трахеидограмме может иметь несколько характеристик: радиальный диаметр трахеиды, радиальный диаметр люмена, толщину клеточной стенки, площадь поперечного сечения стенки. Разработанный способ стандартизации трахеидограмм впервые был опубликован в 1981 году (Терсков, и др., 1981), с тех пор он стал использоваться другими авторами, стал частью программного обеспечения других программ для получения и обработки данных по размерам клеток в древесине [ CITATION Lia97 \l 1049 \m Сил10 \m Баб10].

Рис.2.5. Радиальная изменчивость радиального размера трахеид (РРТ), радиального размера люмена (РРЛ), толщины клеточной стенки (ТКС) в годичном кольце *Larix sibirica*.

Рис.2.6. Выделение характерных точек на трахеидограмме.

При анализе средних трахеидограмм выделяются следующие ключевые точки локальных экстремумов:

1. Максимальный радиальный размер трахеиды в кольце - РРТ<sub>макс</sub>;
2. Максимальная толщина клеточной стенки в кольце – ТКС<sub>макс</sub>;
3. Точка перехода от ранней древесины к поздней.

В один и тот же год у разных деревьев откладываются кольца разной ширины. Для сравнительного анализа трахеидограмм годовичных колец одного года формирования у разных деревьев в дровостое используется нормирование, или приведение разных по ширине годовичных колец к одной стандартной. Последнее можно сделать достаточно простым способом, располагая трахеидограммы в секторе с заданным углом, или разбивая годовичные кольца на равное число одинаковых частей и используя значения размеров клеток в соответствующих точках. [ CITATION ИАТ81 \l 1049 ].

#### 2.4 Оценки плотности клеток

Зрелая ксилема годовичного кольца хвойных представляет собой, фактически, набор пустотелых трубок, стенками которых являются клеточные стенки трахеид, а пустотами – их люмены. Следовательно, вариации толщины клеточной стенки и радиального размера люменов будут приводить к изменению средней плотности трахеиды, а в итоге, и средней плотности участка годовичного кольца, где они расположены. Рассмотрим, как изменение данных клеточных параметров будет приводить к изменению средней плотности трахеиды. На рисунке 2.7 изображена идеализированная схема поперечного среза трахеиды.

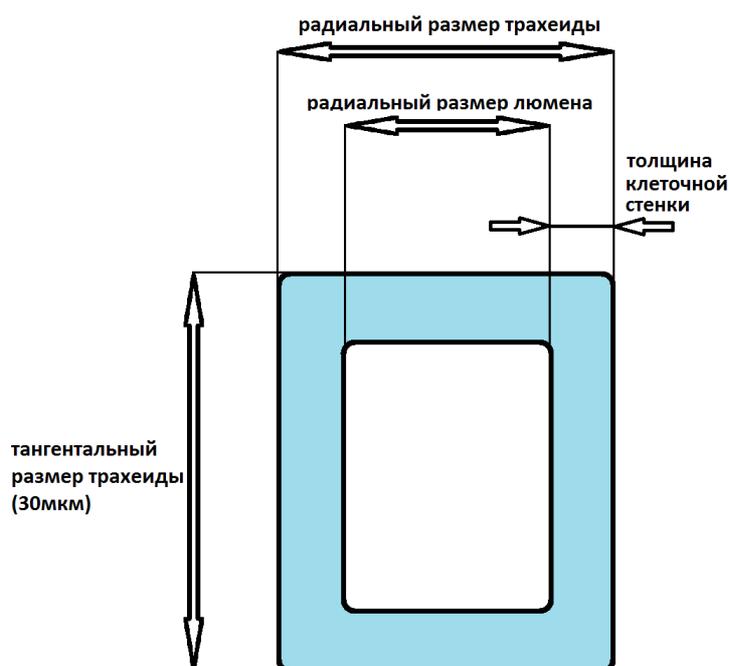


Рис. 2.7. Схема поперечного среза трахеиды.

Плотностью того или иного объекта или его части называют количество вещества, приходящегося на единицу его объёма, т.е. это удельная масса объекта.

$$\rho = \frac{M}{V}$$

(2.4),

где  $\rho$  – плотность вещества объекта,  $M$  – масса объекта,  $V$  – его объём. чтобы рассчитать среднюю плотность трахеиды, мы должны знать её массу и объём. Вся масса зрелой трахеиды сосредоточена в её стенках, поэтому для неё можно записать:

$$M = \rho_{\text{кc}} \times V_{\text{кc}} \quad (2.5),$$

где где  $\rho_{\text{кc}}$  – плотность вещества клеточной стенки (постоянная),  $V_{\text{кc}}$  – объём клеточной стенки. Объём клеточной стенки трахеиды равен произведению площади поперечного сечения клеточной стенки и длины трахеиды:

$$V_{\text{кc}} = S_{\text{кc}} \times L_{\text{т}} \quad (2.6),$$

где  $S_{\text{кc}}$  – площадь поперечного сечения трахеиды, а  $L_{\text{т}}$  – её длина. Полагая, что поперечное сечение трахеиды является прямоугольным,  $S_{\text{кc}}$  можно выразить через разность площади поперечного сечения трахеиды

$$S_{\text{м}} = PPT \times TPT \quad \text{и} \quad \text{площади} \quad \text{поперечного} \quad \text{сечения}$$

$$S_{\text{л}} = (PPT - 2 \times ТКС) \times (TPT - 2 \times ТКС) \quad . \quad \text{Тогда} \quad \text{выражение} \quad (2.5) \quad \text{после}$$

преобразования примет вид:

$$M = \rho_{\text{кc}} \times (PPT \times TPT - (PPT - 2 \times ТКС) \times (TPT - 2 \times ТКС)) \quad (2.7).$$

Объём трахеиды для выражения (2.4) можно найти как произведение площади трахеиды  $S_{\text{м}} = PPT \times TPT$  и её длины  $L_{\text{т}}$ . Подставляя это

выражение и выражение (2.7) в (2.4) получим окончательную формулу для расчёта средней плотности трахеиды  $\rho_c$ :

$$\rho_m = \rho_{kc} \times \frac{S_{kc}}{S_m} = \rho_{kc} \times \frac{PPT \times TPT - (PPT - 2 \times TKC) \times (TPT - 2 \times TKC)}{PPT \times TPT}$$

(2.8).

Таким образом, мы установили связь плотности участка годичного кольца с его гистометрическими характеристиками: толщиной клеточной стенки (ТКС), а также радиальным (РРТ) и тангентальным (ТРТ) размерами трахеиды. В выражение (2.8) также входит и плотность клеточной стенки  $\rho_{kc}$ . Согласно исследованиям, данная величина слабо варьирует в пределах годичного кольца и можно считать её константой. Согласно выражению (2.8), уменьшение площади поперечного сечения трахеиды  $S_t$ , прямо пропорциональное радиальному размеру трахеиды  $D$ , будет приводить к увеличению средней плотности трахеиды или, что то же самое, плотности участка годичного кольца. Так как в данной работе нам важен лишь качественный анализ изменчивости максимального значения плотности древесины в зависимости от числа трахеид в кольце, для упрощения вычислений мы исключаем постоянные величины из расчетной формулы средней плотности трахеид  $\rho_t$ . В итоге мы получаем формулу для расчета индекса изменения плотности древесины:

$$\rho = \times \frac{PPT \times TPT - (PPT - 2 \times TKC) \times (TPT - 2 \times TKC)}{PPT \times TPT}$$

(2.9).

Рассчитанная по формуле (2.9) индексная плотность является безразмерной величиной и хорошо коррелирует с реальной плотностью древесины (коэффициент корреляции более 0.98)

### 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

#### 3.1 Зависимость толщины клеточной стенки от размера люмена и трахеиды для отдельных годовичных колец. Разделение клеток на раннюю и позднюю древесину.

Анализ средних трахеидограмм годовичных колец исследуемых образцов древесины лиственницы сибирской показал, что трахеиды в кольце разделяются на две четкие размерно-морфологические группы и одну промежуточную группу. Правая группа (1) соответствует ранней древесине, зона 1, левая группа (3) соответствует поздней древесине, зона 3. Между этими группами расположены клетки, которые соответствуют зоне 2 – переходной древесине.

Рис. 3.1. Разделение клеток на зону ранней древесины (1), переходную зону(2) и зону поздней древесины на трахеидограмме.

Так же на трахеидограммах для каждого кольца отчетливо видно, что за исключением переходной зоны, где уменьшение радиальных размеров трахеид и люменов соответствует увеличению толщины клеточной стенки, динамика изменчивости РРТ и РРЛ схожа с таковой для ТКС. Это можно

объяснить тем, что изменчивость гистометрических размеров трахеид в ранней и поздней древесине обуславливается влиянием внешних факторов на формирование трахеид, в то время как переход от ранней древесины к поздней в большей степени зависит от внутренних процессов, протекающих в дереве. Переход от ранней древесины к поздней регулируется гормонами, поступающими из кроны и апикальных меристем и связан с перераспределением пластических веществ [ CITATION Sav96 \l 1049 ]. Однако соотношение размеров зон ранней и поздней древесины, а так же переходной зоны в годичных кольцах одного дерева варьируют довольно сильно. Это свидетельствует о влиянии климата на формирование клеток ранней и поздней древесины, а так же на плавность перехода от ранней древесины к поздней и ширину переходной зоны.

### **3.2 Зависимость гистометрических параметров трахеид от ширины годичного кольца и числа клеток в кольце.**

На средних трахеидограммах для каждого кольца были выделены следующие ключевые точки:

1. максимальный радиальный размер трахеиды в кольце – РРТ<sub>макс</sub>;
2. максимальная толщина клеточной стенки в кольце – ТКС<sub>макс</sub>;
3. Максимальный радиальный размер трахеиды в переходной зоне – РРТ<sub>пер</sub>.

Для всех выделенных значений гистометрических параметров трахеид были построены графики зависимости этих параметров от общего числа клеток в кольце.

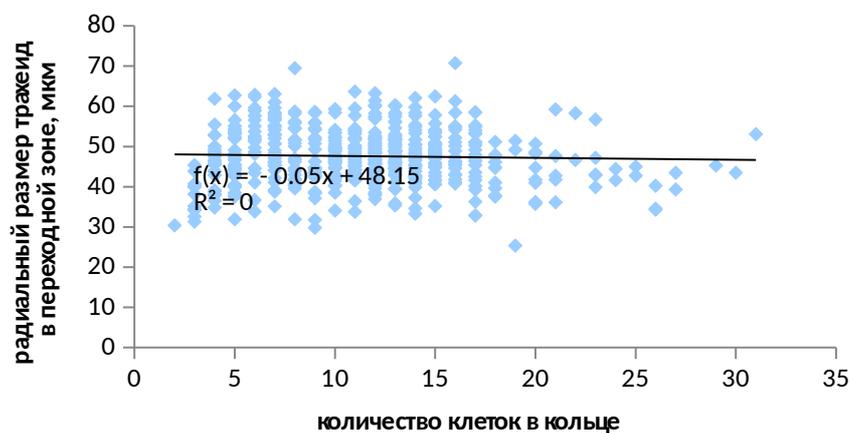
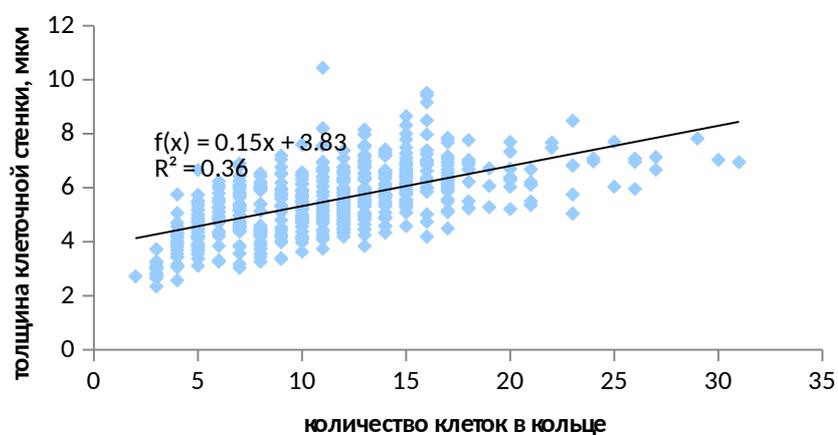
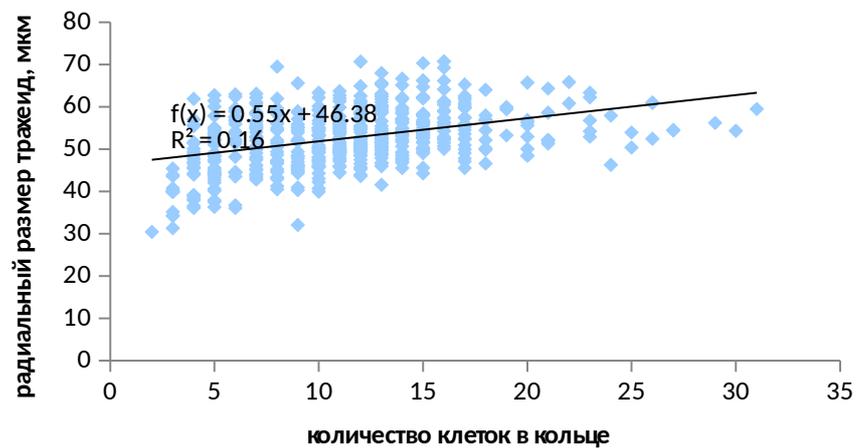


Рис. 3.2. Графики зависимости гистометрических параметров от числа клеток в кольце.

Как показано на графиках, наиболее выражено с количеством клеток в кольце и, соответственно, с шириной годичного кольца коррелируют

максимальные значения радиального размера трахеид и толщины клеточной стенки, в то время как для радиального размера люмена в кольце и радиального размера трахеид в переходной зоне корреляция почти нулевая.

### **3.3 Зависимость максимальной плотности клеток от числа клеток в кольце и от ширины годичного кольца.**

По расчетной формуле (2.6) были вычислены максимальные значения плотности древесины для каждого кольца. Ниже приведена зависимость рассчитанной плотности древесины от общего числа клеток в кольце.

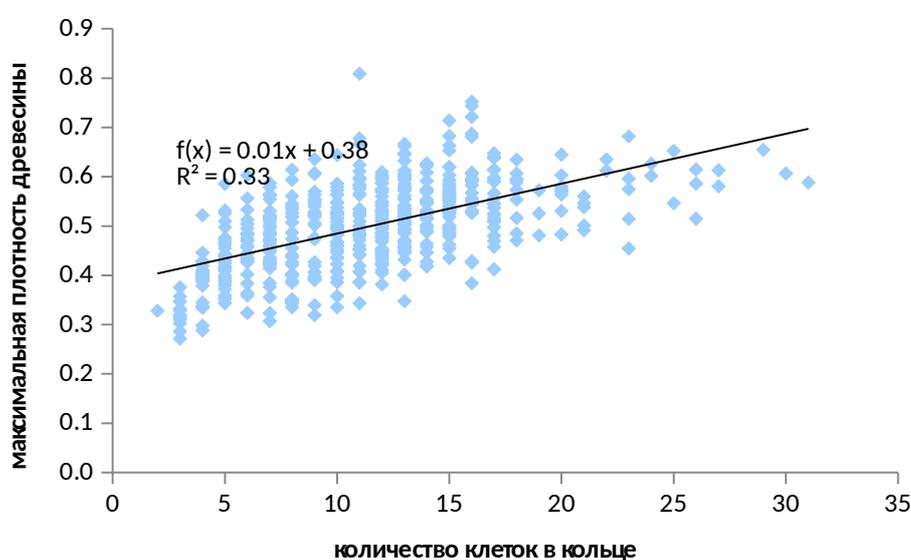


Рис. 3.3. График зависимости максимальной плотности древесины от общего числа клеток в кольце.

Прямая зависимость максимальных значений плотности от числа клеток в кольце, очевидно, связана со схожей корреляцией для максимальной толщины клеточной стенки, приведенной выше.

### **3.4 Расчет, сравнение и оценка достоверности коэффициентов корреляции между гистометрическими параметрами трахеид и количеством клеток в кольце.**

Для сравнительного анализа корреляционной связи были рассчитаны коэффициенты корреляции  $r$  между гистометрическими параметрами и

числом клеток в кольце для каждого дерева. Расчет коэффициентов корреляции проводился методом квадратов (метод Пирсона):

$$r_{xy} = \frac{\sum (d_x \times d_y)}{\sqrt{(\sum d_x^2 \times d_y^2)}}$$

(3.1),

где  $d_x = (x_i - \bar{x})$  и  $d_y = (y_i - \bar{y})$  – отклонение каждого числового значения от среднего значения своего вариационного ряда. Ошибка корреляционного коэффициента вычисляется по формуле:

$$m_{r_{xy}} = \sqrt{\frac{1 - r_{xy}^2}{n - 2}} \quad (3.2),$$

В таблице ниже представлены коэффициенты корреляции между гистометрическими параметрами трахеид и зависимости средних гистометрических параметров трахеид от общего числа клеток в кольце, ширины годичного кольца для пяти деревьев с рассчитанной по формуле (3.2) ошибкой

Таблица 2. Коэффициенты корреляции гистометрических параметров и ширины годичного кольца, среднего числа клеток в кольце

	дерево17	дерево10	дерево22	дерево2	дерево11
Общее число клеток в кольце	6	11	12	13	16
Средняя ширина годичного кольца	203,08	363,32	414,8	482,1	543,36
Макс. толщина клеточной стенки	0,6863+-0,0541	0,2661+-0,0828	0,4374+-0,0725	0,3384+-0,0786	0,1786+-0,0876
Макс. радиальный размер трахеид	0,5060+-0,0679	0,5225+-0,0668	0,3566+-0,0775	0,3445+-0,0783	0,1705+-0,0880
Макс. радиальный размер трахеид в переходной зоне	0,4287+-0,0731	0,1935+-0,0868	0,2693+-0,0826	0,0283+-0,0953	0,0113+-0,0961
Макс. плотность древесины в кольце	0,6335+-0,0585	0,1507+-0,0981	0,3841+-0,0759	0,3107+-0,0803	0,1389+-0,0897

Как видно из таблицы, корреляция между гистометрическими параметрами и

числом клеток в кольце (и, соответственно, шириной годичного кольца) наиболее сильна для минимального ШГК и числа клеток в кольце (дерево 17) и ослабляется с увеличением ШГК.

Достоверность коэффициента корреляции определяется расчетом коэффициента Стьюдента:

$$t = \frac{r_{xy}}{m_{r_{xy}}} \quad (3.3).$$

Таблица 3. Коэффициент достоверности корреляции.

	дерево17	дерево10	дерево22	дерево2	дерево11
Ncp	6	11	12	13	16
ШГКср, мм	203,08	363,32	414,80	482,10	543,36
CWTmax(N), мкм	15,3004	6,2287	9,1203	7,3973	4,8236
Dmax(N), мкм	10,4687	10,8197	7,7009	7,4994	4,6898
D пер(N), мкм	8,9604	5,0668	6,2795	1,7644	1,1082
ρ max(N)	13,5992	4,3565	8,1695	6,9454	4,1547

f	ρ							
	0.80	0.90	0.95	0.98	0.99	0.995	0.998	0.999
80	1.2820	1.6640	1.9900	2.3730	2.6380	2.8870	3.1950	3.4160
90	1.2910	1.6620	1.9867	2.3885	2.6316	2.8779	3.1833	3.4019
100	1.2901	1.6602	1.9840	2.3642	2.6259	2.8707	3.1737	3.3905
120	1.2888	1.6577	1.9719	2.3578	2.6174	2.8598	3.1595	3.3735
150	1.2872	1.6551	1.9759	2.3515	2.6090	2.8482	3.1455	3.3566

Рис. 3.4. Критические значения коэффициента Стьюдента (t-критерия) для различной доверительной вероятности ρ и степеней свободы f

Рассчитанные для каждого дерева коэффициенты Стьюдента (Таблица 3) сравнивались с критическими значениями, соответствующими 100 степеням свободы. Как видно, все коэффициенты значительно превышают критическое значение t для доверительной вероятности 95%, кроме двух: для корреляции макс. РРТ в переходной зоне для деревьев 2 и 11 (отмечены желтым цветом). Для этих коэффициентов корреляции так же была рассчитана наибольшая ошибка (Таблица 1), что может свидетельствовать об их недостоверности из-за слишком сильного разброса значений.

## ОБСУЖДЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Важно отметить, что все полученные данные имеют строго статистический характер, а значения параметров имеют довольно сильный разброс. Так что выявленные в данной работе закономерности и связи между гистометрическими параметрами трахеид не могут быть с точностью интерпретированы как функциональные, физиологические и т. д. Однако на их основе можно сделать некоторые выводы о характере сезонных трендов формирования годичных слоев прироста древесины хвойных на примере лиственницы сибирской (*Larix sibirica*).

Так для годичных колец практически любого размера характерно разделение на зоны ранней древесины, с широкими люменами и тонкими стенками, и поздней древесины, с узкими люменами и толстыми стенками. Соотношение размеров зон ранней и поздней древесины, а так же переходной зоны между ними, сильно варьирует от года к году в годичных кольцах одного дерева, в зависимости от множества внутренних и внешних факторов. Однако сам по себе факт выделения двух разных морфологических групп трахеид в пределах одного годичного кольца является характерной видовой особенностью формирования древесины.

Была выявлена прямая зависимость таких гистометрических параметров как максимальный размер трахеид и максимальная толщина клеточной стенки в кольце от ширины годичного кольца и общего числа клеток в кольце. Так же было отмечено, что для колец с меньшим числом клеток эта зависимость проявлялась сильнее чем для колец с большим числом клеток. Такое ослабление корреляции может быть объяснено тем, что начиная с некоторого значения ширины годичного кольца, гистометрические размеры трахеид достигают максимальных значений и уже не зависят от дальнейшего увеличения продукции клеток. Ожидается, схожая динамика наблюдается и для зависимости максимальных значений плотности древесины от числа клеток в кольце.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Baily, I. (1953). Evolution of the tracheary tissue of land plants. *American Journal of Botany* (40), 4-8.
2. Balatinecz, J., & Kennedy, R. (1968). Mechanism of earlywood-latewood differentiation in *Larix decidua*. *TAPPI*, 51, 414-422.
3. Bannan, M. (1955). The vascular cambium and radial growth in *Thuja occidentalis* L. *Canadian Journal of Botany*, 3(1), 113-138.
4. Barghoorn, E. S. (1964). Evolution of cambium in geologic time. New-York: Academic Press.
5. Boatwright, S., & Garret, G. (1983). The effect of microstructure and stress state on the fracture behavior of wood. *Journal of Material Science* (18), 2180-2199.
6. Carlquist, S. (1988). *Comparative wood anatomy*. Berlin: Springer.
7. Cochard, H., Cruiziat, P., & Tyree, M. (1992). Use of positive pressures to establish vulnerability curves: further support for the air seeding-hypothesis and implications for pressure-volume analysis. *Plant physiology* (100), 205-209.
8. Crombie, D., Hipkins, M., & Milburn, J. (1985). Gas penetration of pit membranes in xylem of *Phododendron* as the cause of acoustically detectable sap cavitation. *Australian Journal of Plant Physiology* (12), 445-454.
9. Dixon, H. (1914). *Transpiration and the Ascent of Sap in Plants*. London: Macmillan and Co.
10. Domec, J.-C., & Gartner, B. L. (20026). How do water transport and water storage differ in coniferous earlywood and latewood? *Journal of Experimental Botany*, 379 (53), 2369-2379.
11. Fritts, H. C. (1976). Tree rings and climate. *London etc.*, 576 p.
12. Jarbeau, J., Ewers, F., & Davis, S. (1995). The mechanism of water-stress-induced embolism in two species of chaparral shrubbs. *Plant, Cell and Environment* (18), 189-196.
13. Kennedy, R. (1961). Variation and periodicity of summerwood an some second-growth Douglas-fir. *Tappi Journal*, 44, 161-165.
14. Kraus, J., & Spur, S. (1961). relationship of soil moisture to the springwood-summerwood transition in southern Michigan red pine. *Journal of Forestry*, 59, 510-511.
15. Ladefoged, K. (1952). The periodicity of wood formation. *Biologiske Skifter, Kgl Videnskaberets Selskab, Kobenhavn*, 7(3), 98.
16. Liese, W., & Bauch, J. (1967). On the closure of bordered pits in conifers. *Wood Science and Technology* (1), 1-13.
17. Marshall, A. (1998). Sandwich construction. In S. Peters (Ed.), *Handbook of composites* (pp. 254-290). New York, USA: Chapman&Hall.
18. Newman, I. (1956). Pattern in meristem of vascular plants. I. Cell production in living apices and in the cambial zone in relation with the concepts of initial and apical cells. *Phytomorphology*, 6, 1-19.
19. Panshin, A., & Zeeuw, C. (1980). *Textbook of wood technology. 4th edition.*. New York: McGraw-Hill.

20. Petty, J. (1972). The aspiration of bordered pits in conifer wood. *Proceedings of the Royal Society of London, B, Biological Sciences* (181), 395-406.
21. Petty, J. (1970). The relation of wood structure to preservative treatment. (T. S. Britain, Ed.) pp. 29-35.
22. Pittermann, J., Sperry, J., Hacke, U., Wheeler, J., & Sikkema, E. (2005). Torus -margo pits help conifers compete with angiosperms. *Science* (310), 1924.
23. Savidge, R. (1996). Xylogenesis, genetic and environmental regulation - A review. *IAWA Journal* , 3 (17), 269-310.
24. Schweingruber, F. (1993). *Trees and wood in dendrochronology*. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag.
25. Siau, J. (1984). *Transport processes in wood*. . Berlin etc.: Springer Verlag.
26. Sperry, J. S. (2003). Evolution of water transport and xylem structure. *International Journal of Plant Sciences* (164 (3 Suppl.)), S115-S127.
27. Sperry, J. S., & Hacke, U. G. (2006). Size and function in conifer tracheid and angiosperm vessel. *American Journal of Botany* , 10 (93), 1490-1500.
28. Sperry, J. S., & Tyree, M. T. (1990). Water stress induced xylem cavitation in three species of conifers. *Plant, Cell and Environment* (13), 427-436.
29. Sperry, J. S., Saliendra, N. Z., Pockman, W. T., Cochard, H., Cruiziat, P., Davis, S. D., et al. (1996). New evidence for large negative xylem pressure and their measurement by the pressure chamber method. *Plant, Cell and Environment* , 19, 427-436.
30. Studhalter, R. A., Glock, W. S., & Agereter, S. R. (1963). Tree growth – some historical chapter in study of diameter growth. *Botanical Review* , 29, 245-365.
31. Takayoshi, H. (Ed.). (1985). *Biosynthesis and biodegradation of wood components*. Academic Press.
32. Uggla, C., Magel, E., Moritz, T., & Sundberg, B. (2001). Function and dynamics of auxin and carbohydrates during earlywood/latewood transition in scots pine. *Plant Physiology* (125), 2029-2039.
33. Usta, I. (2005). A review of configuratiob of bordered pits to stimulate to stimulate the fluid flow. *Maderas, Ciencias y Tecnologia* , 2 (7), 121-132.
34. Van Bel, A. (1999). Evolution, polymorphology, and multifunctionality of the phloem system. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* (2), 163-184.
35. Zahner, R., Lotan, J., & Baughman, W. (1964). Earlywood-summerwood features of red pine grown under simulated drought and irrigation. *Forest Science* , 3 (10), 361-369.
36. Zobel, B. J., & Buijtenen van, J. P. (1989). *Wood variation. Its causes and control*. Berlin, Heidelberg: Springer.
37. Арсеньева, Т., & Чавчавадзе, Е. (2001). *Эколого-анатомические аспекты изменчивост древесины сосновых из промышленных районов европейского Севера*. (Е. В.М., Ред.) Санкт-Петербург: Наука.
38. Бенькова, В., & Бенькова, А. (2006). Особенности строения древесины северных популяций сибирских видов лиственницы. *Лесоведение* (4), 28-36.
39. Ваганов, Е., Шашкин, А., Свицерская, И., & Высоцкая, Л. (1985). *Гистометрический анализ роста древесных растений*. (Т. И.А., Ред.) Новосибирск: Наука.

40. Вихров, В. (1949). Значение и методы измерений элементов и микроскопического строения древесины. *Труды Института леса АН СССР*, 4, стр. 73-79.
41. Вихров, В. (1947). Микро копическое строение годичного слоя сибирской лиственницы. *ДАН СССР*, 8 (58), 1801-1803.
42. Е. А. Ваганов, А. В. (2000). *Рост и структура годичных колец хвойных*. Новосибирск: Наука.
43. И. А. Тресков, Е. А. (1981). К методике реконструкций погодных условий по динамике ростаи структуре годичных колец древесных растений. In Р. Г. Хлебопрос, *Пространственно-временная структура лесных биогеоценозов*. (pp. 13-26). Новосибирск: Наука.
44. И.В. Свидерская, И. А. (1981). Трахеидограмма годичного кольца как характеристика сезонного роста дерева. *Изв. СО АН СССР, сер. биол. наук*, 22-30.
45. Лебедеико, Л. (1969). Некоторые цитологические особенности камбия лиственницы. *Проблемы ботаники*, XI, стр. 269-283.
46. Мелехов, И. (1979). Значение структуры годичных слоев и ее динамики в лесоводстве и дендроклиматологии. *Известия ВУЗов. Лесной журнал*, 4, 6-14.
47. П. Д. Крамер, Т. Т. (1983). *Физиология древесных растений*. Москва: Лесная промышленность.
48. Терсков, И., Ваганов, Е., & Свидерская, И. (1981). К методике реконструкции погодных условий по динамике роста и структуре годичных колец древесных растений. В Р. Хлебопрос (Ред.), *Пространственно-временная структура лесных биогеоценозов* (стр. 13-26).
49. Чавчавадзе, Е. С. (1979). *Древесина хвойных*. Ленинград: Наука.
50. Эсау, К. (1969). *Анатомия растений*. Москва: Мир.
51. Яценко-Хмелевский, А. (1961). *Краткий курс анатомии растений*. Москва: Высшая школа.