

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологий
Кафедра водных и наземных экосистем

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель магистерской
программы
М.И. Гладышев
подпись инициалы, фамилия
« _____ » _____ 20 ____ г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Сравнительный анализ клеточной структуры годовичных колец пихты
сибирской, произрастающей в Томской области и Красноярском крае

тема

06.04.01 «Биология»

код и наименование направления

06.04.01.02 «Физиология растений»

код и наименование магистерской программы

Руководитель

подпись, дата

профессор, д-р биол. наук

должность, ученая степень

П.П. Силкин

инициалы, фамилия

Выпускник

подпись, дата

ББ16-02М, 041625601

номер группы, номер зачетки

А.Ф. Кайгородова

инициалы, фамилия

Рецензент

подпись, дата

в.н.с., д-р. биол. наук

должность, ученая степень

Т.С. Седелникова

инициалы, фамилия

Красноярск 2018

РЕФЕРАТ

Выпускная магистерская диссертация по теме «Сравнительный анализ клеточной структуры годичных колец пихты сибирской, произрастающей в Томской области и Красноярском крае» состоит из введения, 3-х глав, заключения, списка использованных источников. Работа изложена на 51 странице текстового документа, содержит 24 рисунка, 5 таблиц, 2 формулы, 47 использованных источников.

ГОДИЧНЫЕ КОЛЬЦА, РАДИАЛЬНЫЙ РАЗМЕР КЛЕТКИ, ТОЛЩИНА КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ, ПИХТА СИБИРСКАЯ.

Объект исследования – годичные кольца пихты сибирской

Предмет исследования – структура годичных колец пихты сибирской, произрастающей в Томской области и Красноярском крае.

Цель работы – провести сравнительный анализ структуры годичных колец пихты сибирской, произрастающей в Томской области и Красноярском крае.

Задачи:

1. Провести сравнительный анализ соотношения продукции числа клеток за сезон и ширины годичного кольца для пихты сибирской;
2. Определить связь между радиальным размером трахеиды (D) и толщиной клеточной стенки (W) годичных колец пихты;
3. Оценить влияние климатических факторов на формирование клеточной структуры годичных колец пихты.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	4
Глава 1 Обзор литературы.....	6
1.1 Особенности формирования годичных колец древесных растений.....	6
1.1.1 Сезонный рост годичных колец.....	6
1.1.2 Сроки формирования годичного кольца.....	10
1.2 Влияние внешних факторов на структуру годичных колец хвойных.....	11
1.2.1 Влияние температуры.....	12
1.2.2 Влияние количества осадков.....	14
1.3 Измеряемые параметры годичных колец и связи между ними.....	15
1.3.1 Параметры годичного кольца.....	15
1.3.2 Связи между параметрами годичного кольца.....	16
Глава 2 Материалы и методы.....	19
2.1 Объект исследования.....	19
2.1.1 Экологическая характеристика пихты сибирской.....	19
2.1.2 Анатомические особенности древесины.....	20
2.2 Сбор образцов древесины.....	20
2.3 Приготовление микротомных препаратов.....	22
2.3 Измерение гистометрических характеристик годичных колец.....	22
2.4 Методы обработки и анализа экспериментальных данных.....	23
2.4.1 Стандартизация числа клеток в годичных кольцах.....	23
2.4.2 Индексация параметров клеток годичных колец.....	23
2.4.3 Методы оценки влияния климатических факторов на формирование годичного кольца.....	24
Глава 3 Результаты и обсуждения.....	27
3.1 Сравнительный анализ параметров годичных колец пихты сибирской.....	27
3.1.1 Сравнительный анализ соотношения продукции числа клеток за сезон и ширины годичного кольца.....	27
3.1.2 Сравнительный анализ связи между радиальным размером трахеиды и толщиной клеточной стенки.....	Error! Bookmark not defined.
3.2 Влияние климатических факторов на формирование годичного кольца.....	Error! Bookmark not defined.
3.3 Влияние климатических факторов на клеточные параметры годичных колец в пределах вегетационного периода.....	Error! Bookmark not defined.
Выводы.....	28
Список использованных источников.....	29

ВВЕДЕНИЕ

На протяжении всей жизни древесные растения накапливают информацию о строении и химическом составе годичных колец, которую они способны сохранять в течение долгого времени. Это свидетельствует об их уникальности и перспективности исследования. Наибольший интерес представляют хвойные виды растений, поскольку они отзывчивы к изменениям внешних условий среды, широко распространены в районах холодного и умеренного климата, долговечны и имеют хорошо различимые годичные кольца [5].

Такие параметры как, ширина годичного кольца и продукция клеток определяют рост дерева в целом за сезон. Это позволяет проводить реконструкцию событий с точностью до года. Использование параметров зрелых трахеид, формирующихся в разные промежутки вегетационного периода, дает возможность для более детальной характеристики процесса сезонного роста [8; 25]. В качестве гистометрических характеристик годичных колец используют радиальный размер трахеиды и толщину клеточной стенки [27].

При извлечении информации, которую содержат годичные слои прироста, актуально использовать клеточные параметры, отражающие физиологические процессы и влияние факторов внешней среды на рост и развитие.

В данной работе решается проблема изменчивости гистометрических параметров годичных колец пихты сибирской, произрастающей в Томской области и Красноярском крае. Найдены ответы на вопросы о связях между радиальным размером трахеиды и толщиной клеточной стенки в пределах каждого годичного кольца, а так же влияние климатических факторов на данные параметры в течение вегетационного периода.

Цель работы – провести сравнительный анализ структуры годичных колец пихты сибирской, произрастающей в Томской области и Красноярском крае.

Задачи:

1. Провести сравнительный анализ соотношения продукции числа клеток за сезон и ширины годичного кольца для пихты сибирской;
2. Определить связь между радиальным размером трахеиды (D) и толщиной клеточной стенки (W) годичных колец пихты;
3. Оценить влияние климатических факторов на формирование клеточной структуры годичных колец пихты.

Глава 1 Обзор литературы

1.1 Особенности формирования годичных колец древесных растений

1.1.1 Сезонный рост годичных колец

В регионах умеренного и холодного климата камбий покоится в течение зимы и активен в течение лета [40]. В этих районах у деревьев, как правило, появляется один слой прироста за вегетационный период [17].

Камбий представляет собой расположенный между древесиной и лубом тонкий слой образовательной ткани из мелких клеток, способных к делению [5]. Камбий сложен двумя типами клеток, представленными на рисунке 1.1. К первому типу относятся лучевые инициалы, образующие радиальные лучи. Они обладают слегка удлиненной или почти изодиаметрической формой. Ко второму типу относятся веретеновидные инициалы, представляющие вертикальную систему луба и древесины. В своей части они более или менее призматические, на концах клиновидные. Их длина составляет у хвойных растений от 2 до 5 мм, а ширина 20-30 мкм. [18]. Веретеновидные инициалы обращены плоской, широкой стороной к проводящим элементам. Остальными стенками они смыкаются со стенками клеток камбия. Клетки функционирующего камбия делятся периклинально. Один слой инициалей делится постоянно, а производные клетки способны поделиться еще несколько раз и переходят к дифференциации. Из клеток, откладываемых внутрь, возникают элементы ксилемы, наружу – элементы флоэмы. Причем отложение клеток ксилемы происходит быстрее в 3–4 раза, чем флоэмы, поэтому ксилема занимает больший объем в стволе древесных и других растений. По мере утолщения стебля объем вторичной ксилемы увеличивается, а камбий растягивается на ее поверхности, т. к. его клетки иногда делятся радиально, увеличивая диаметр камбия [31].

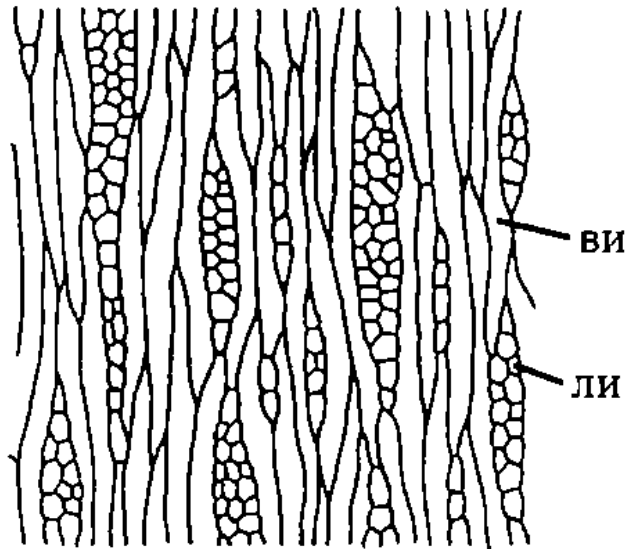
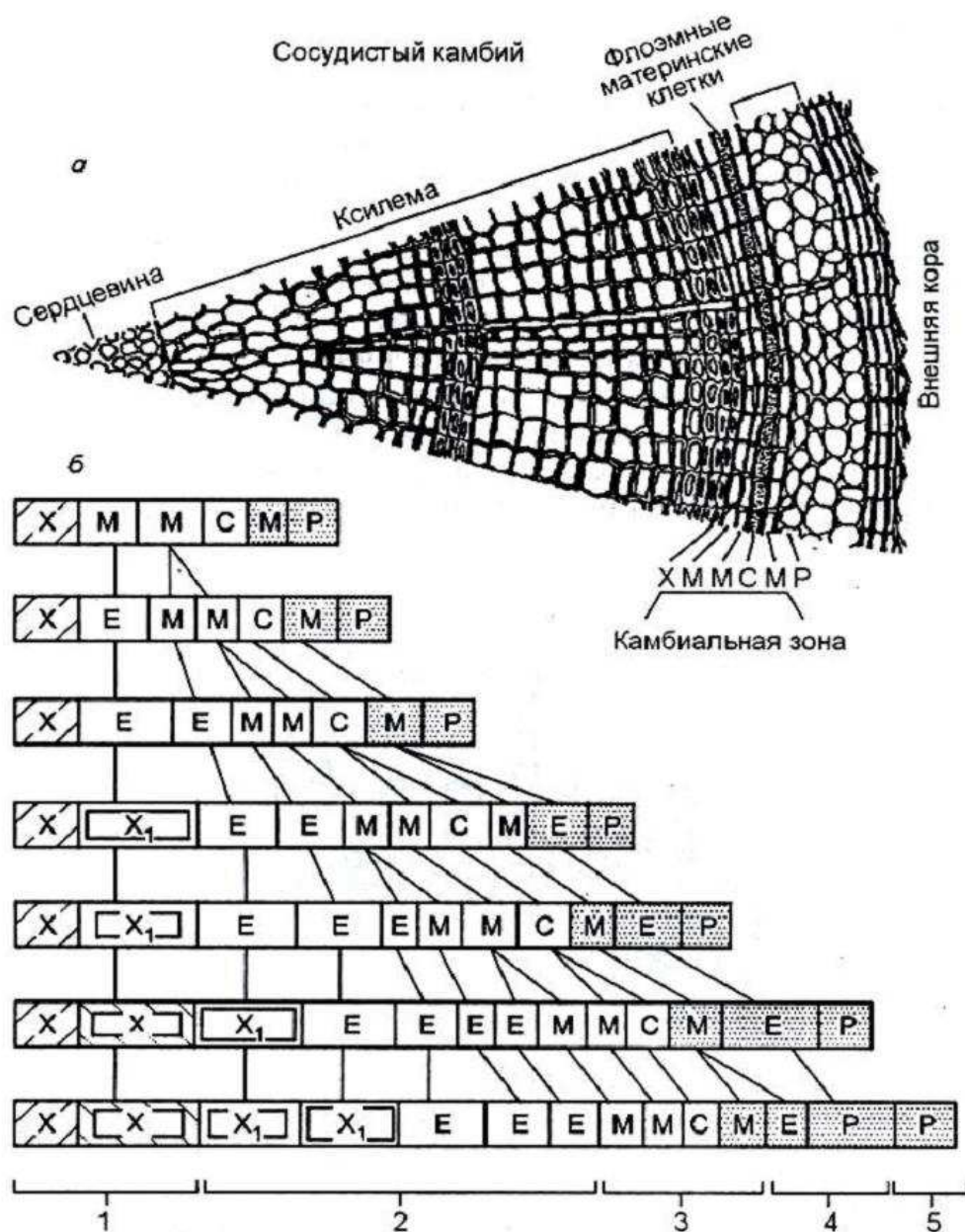


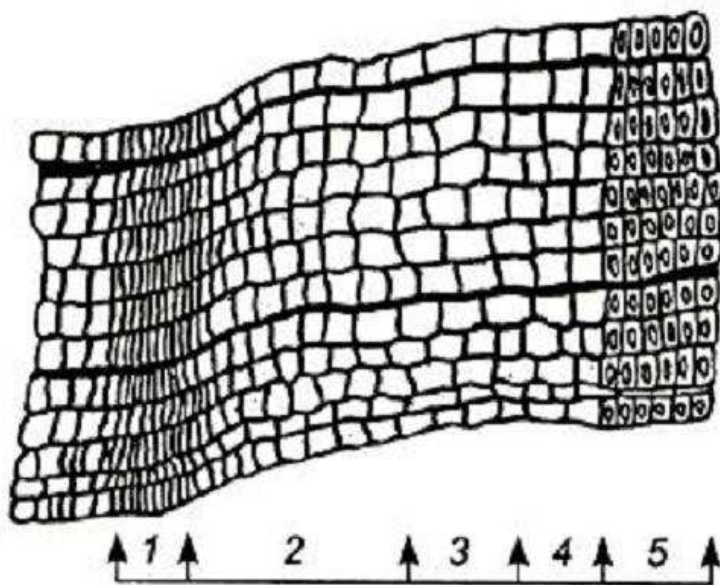
Рисунок 1.1 – Веретеновидные (ВИ) и лучевые (ЛИ) инициали камбия [18]

После потери способности к делению клетка перемещается в зону радиального растяжения, а затем в зону формирования вторичной клеточной стенки, где происходит аутолиз протоплазмы, синтез полимерных веществ и лигнификация [12]. На рисунках 1.2 и 1.3 изображен процесс формирования годичного кольца.



С – камбиальная инициаль; М – материнские клетки ксилемы и флоэмы; Х – зрелые клетки ксилемы; Р – зрелые клетки флоэмы; Е – клетки в фазе растяжения; 1 – 5 – зоны

Рисунок 1.2 - Фрагмент поперечного среза стволика сосны (а) и схема, иллюстрирующая продукцию клеток камбиальной зоной (б) [5]



1 – камбиальная зона; 2 – зона растяжения; 3 – зона утолщения вторичной клеточной стенки; 4, 5 – зрелые трахеиды текущего года

Рисунок 1.3 - Формирующееся годичное кольцо [5]

В голосеменных растениях ксилема состоит из двух типов клеток. К первому типу относятся трахеиды, которые представляют больше чем 90% общего количества клеток; выполняют механическую функцию и водную проводимость. Второй тип - клетки паренхимы, которые отвечают за хранение и транспортировку различных веществ [40].

В начале вегетационного периода наблюдается высокий уровень содержания ауксинов в клетках. В это время у хвойных деревьев продуцируются крупные и тонкостенные клетки ксилемы, а у лиственных, кроме того, и крупные сосуды. Этот слой клеток годичного кольца получил название ранняя или весенняя древесина. Снижение уровня ауксинов в связи с сокращением ростовых процессов приводит к формированию узких и толстостенных клеток. Эту часть кольца называли поздней или летней древесиной. Увеличение толщины клеточной оболочки в поздней древесине объясняется усилением синтеза полисахаридных материалов оболочки за счет фотосинтеза текущего вегетационного периода [7; 35].

Переход между клетками ранней и поздней древесины обычно постепенный, но между клетками поздней древесины предыдущего кольца и ранней древесины последующего кольца - резкий. Это обусловлено формированием на внешней (более близкой к коре дерева) границе кольца так называемой терминальной древесины, состоящей из тонкого слоя толстостенных клеток, часто сплюснутых в радиальном направлении [4; 21].

Наличие ранней и поздней древесины соответствует изменению физиологических функций древесины в разные периоды года. В условиях умеренного климата весной необходимо пропустить вместе с восходящим потоком в максимальном количестве воду и растворенные в ней минеральные вещества. Поэтому в начале сезона роста камбий развивает элементы с большими полостями и тонкой оболочкой, обладающей большей пропускной способностью. В конце сезона роста, наоборот, требуется образование механических элементов с толстой оболочкой, с тем, чтобы ствол смог удержать тяжелую крону. Поэтому камбий образует позднюю древесину после того, когда листья достигнут наибольших размеров [17; 18].

1.1.2 Сроки формирования годичного кольца

Сроки начала и прекращения роста существенно варьируют у разных древесных пород в разные годы, в различных лесорастительных условиях. Кроме того, величина прироста неодинакова в разные месяцы вегетационного периода [17].

Обширные исследования сезонного роста хвойных и лиственных пород в Швеции произведены К.Ладефогеном. Им выделены три группы древесных пород по скорости, с которой закладывается годичное кольцо:

1. Группа ясеня – характеризуется очень быстрым образованием кольца (более половины формируется в мае-июне, после июля прирост резко сокращается);

2. Группа ели и лиственницы – довольно быстрое образование годичного кольца (около половины формируется в мае и июне, после июля активность роста снижается);

3. Группа березы – треть древесины годичного кольца прирастает в мае и июне и около трети в августе и в начале сентября, интенсивный рост происходит в июле [17].

В лесоводстве начало вегетационного периода обычно связывают с ростом вегетативных органов. Распускание почек и рост побегов, сосущих и ростовых окончаний корня, прирост ствола по диаметру начинаются почти одновременно и приблизительно совпадают с установлением среднесуточной температуры воздуха около $+10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Лишь в притундровой полосе эти процессы начинаются раньше благодаря высокой продолжительности светового дня. Окончание вегетационного периода (пожелтение листвы) также совпадает со временем, когда среднесуточная температура воздуха снижается и переходит тот же рубеж $+10\text{ }^{\circ}\text{C}$ [15].

Неравномерность сезонной интенсивности солнечной радиации обуславливает значительное меридиальное различие в распределении тепла и влаги. В соответствии с этими изменениями макроклиматических характеристик увеличивается длительность сезонного роста древесных растений от 35-40 суток для полярного предела леса; до 95-105 суток в зоне лесостепи. Еще большая продолжительность сезонного роста деревьев наблюдается в субтропической зоне - до 150-160 суток. В тропических условиях при очень малых сезонных колебаниях температуры и достаточном увлажнении рост становится непрерывным в течение года [9].

1.2 Влияние внешних факторов на структуру годичных колец хвойных

На изменение структурных элементов годичных колец оказывают влияние многие экологические факторы, такие как температура, количество

осадков, солнечное излучение и продолжительность дня. Факторы регулируют скорость и степень камбиального роста, контролируют формирование годичных колец, а так же влияют на качество древесины [43; 47].

1.2.1 Влияние температуры

Температура является наиболее важным фактором инициации роста. В естественных условиях после зимнего покоя начало активности камбия происходит в относительно узком диапазоне суточной минимальной температуры воздуха (от +2°C до + 7°C). Кроме того, возобновление активности камбия может быть вызвано в конце зимы путем искусственного нагрева стволов деревьев. Прекращение деления клеток происходит в конце лета или осенью при значительно более мягких температурах (от + 5°C до + 13°C), но прекращение может быть ускорено искусственным охлаждением. Эта неоднозначная роль температуры приводит в отсутствие четких границ в сроках прекращения деятельности камбия [44].

От температуры почвы и скорости снеготаяния напрямую зависит начало формирования годичного кольца путем регулирования доступности воды. Например, при температуре почвы менее 6°C сильно тормозится активность корней и поглощение воды в различных хвойных породах[38].

Изучение таких видов как *Cryptomeria japonica*, *Chamaecyparis obtusa*[47]. *Pinus huon*[41] показало, что снижение температуры оказывает непосредственное влияние на утолщение клеточной стенки, на скорость деления клеток камбия (сокращает продолжительность камбиальной активности и ингибирует деление клеток). При снижении температуры с 25°C до 8-10°C приводит к образованию поздней древесины [41; 47].

Средняя температура (или сумма температур) в течение вегетационного периода является одним из основных факторов, определяющих ширину годичных колец. Чем выше средняя температура

вегетационного периода некоторого года, тем шире соответствующее этому году кольцо [6].

Отрицательное влияние на формирование годичного кольца оказывают поздние весенние и ранние осенние заморозки в период активного деления клеток камбия и растяжения клеток. Годичное кольцо с наличием полосы поврежденных заморозком клеток называют *морозобойным*, изображенным на рисунке 1.4. У хвойных видов подобное повреждение обычно состоит из следующих трех зон: зоны деформированных трахеид, слоя аморфного вещества, состоящего из разрушенных клеток, и зоны ненормальных по форме и величине трахеид [4; 5].

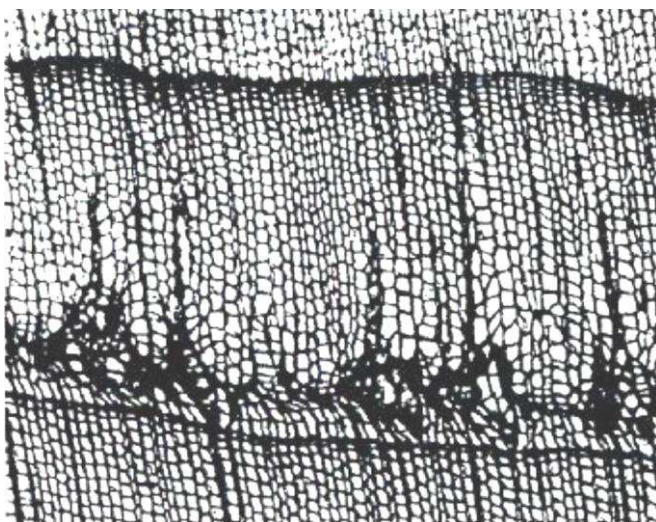


Рисунок 1.4 – морозобойное кольцо [4]

В холодные вегетационные периоды и при раннем наступлении холодов в конце лета клетки поздней древесины не успевают одревеснеть, в результате чего формируются *светлые кольца*, у которых слой поздней древесины состоит из тонкостенных и слабо лигнифицированных клеток и по цвету почти не отличается от слоя ранней древесины. Такие кольца чаще всего встречаются у деревьев и кустарников, которые произрастают на верхнем и полярном пределах произрастания древесной растительности [4; 5].

1.2.2 Влияние количества осадков

Сезонные колебания содержания влаги в почве или водного дефицита оказывают влияние на скорость и формирование древесины в годичных кольцах [12].

Избыточное увлажнение оказывает неблагоприятное воздействие на рост. Например, у сосны на болоте формируются не только узкие годичные кольца (низкая продукция клеток), но и малая зона поздней древесины [12].

На уменьшение числа клеток в радиальном ряду годичного кольца оказывает не только избыток влаги, но и засуха. Влияние засухи проявляется в тенденции к изменению программы работы камбия на формирование годичного кольца. Древесина, образовавшаяся во время засухи, отличается от нормальной меньшими размерами клеток и люменов и большей толщиной клеточных стенок [16; 32; 37].

В засушливые периоды может сформироваться одно или несколько ложных колец или потемнений, которые представляют собой слои более мелких, более толстостенных и темноокрашенных клеток в пределах годичного кольца. Ложное кольцо отличается от истинного отсутствием резкой границы между слоями поздней и ранней древесины, а также тем, что оно обычно прослеживается не по всей окружности годичного слоя прироста. Однако у некоторых видов древесных растений, произрастающих в районах субтропиков или полупустыни, в один год может сформироваться несколько ложных колец, которые ничем не отличаются от настоящих. В таких случаях определение границ между истинными годичными приростами затруднено, а порой и невозможно [4; 39]. Такие специальные анатомические особенности широко документированы в дендрохронологических исследованиях и их существование свидетельствует о том, что деревья могут проявлять быструю акклиматизацию в процессе формирования годичного кольца [46].

1.3 Измеряемые параметры годичных колец и связи между ними

1.3.1 Параметры годичного кольца

В дендрохронологии основными измеряемыми параметрами слоев прироста являются ширина годичных колец (TRW), плотностные характеристики, клеточные параметры: радиальный размер люмена – Lu, радиальный размер клетки – D, тангентальный размер клетки – T, толщина клеточной стенки – W, толщина двойной клеточной стенки – WW, представленные на рисунке 1.5 [26; 45].

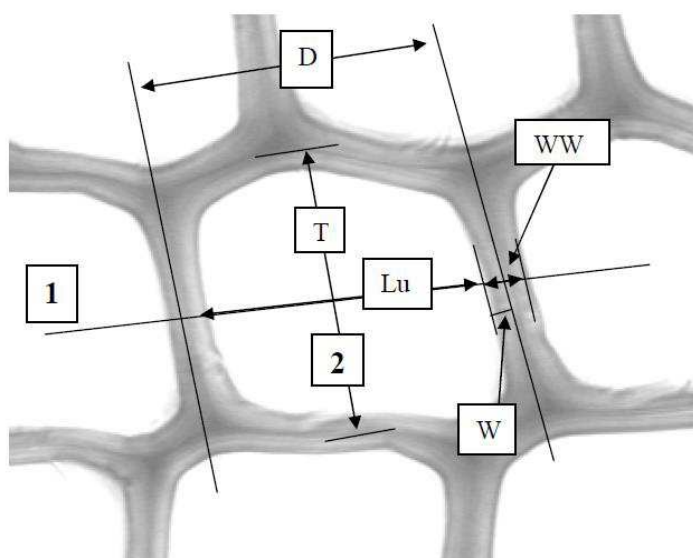


Рисунок 1.5 - Измеряемые структурные элементы трахеид годичных колец хвойных [26]

Диапазон изменчивости ширины годичных слоев зависит от породы, возраста, условий произрастания, а в одном и том же дереве - от положения в стволе. Среднее значение этого диапазона – это так называемая «энергия роста дерева». Дерево, у которого ширина кольца колеблется от 0,3 до 1, 0 мм характеризуется меньшей энергией роста, чем дерево с диапазоном радиального прироста 1,5-4,0 мм. [24; 34]. Внутри одного годичного слоя вариации радиального размера трахеид, радиального размера люмена и

толщины клеточной стенки значительны: в среднем от 8 до 70 микрон у радиального размера трахеиды, от долей микрона до 10 микрон у толщины клеточной стенки, от 1 (или даже долей микрона) до 50 микрон для люмена [23].

1.3.2 Связи между параметрами годичного кольца

Влияние внутренних факторов на процесс дифференцировки наиболее явно выражается через функциональные зависимости между характеристиками древесины, фиксирующими результаты отдельных этапов этого процесса. На рисунке 1.6 (а) показана зависимость между продукцией клеток за сезон (N) и шириной годичного кольца (TRW). Зависимость между данными параметрами является результирующей характеристикой этого этапа дифференцировки клеток, судя по очень высокому уровню достоверности линейной аппроксимирующей функции [1].

Радиальный размер клеток (D) существенно зависит от ширины годичных колец (TRW) в соответствии с рисунком 1.6 (б), эта зависимость нелинейная и может быть представлена экспоненциальной функцией [1].

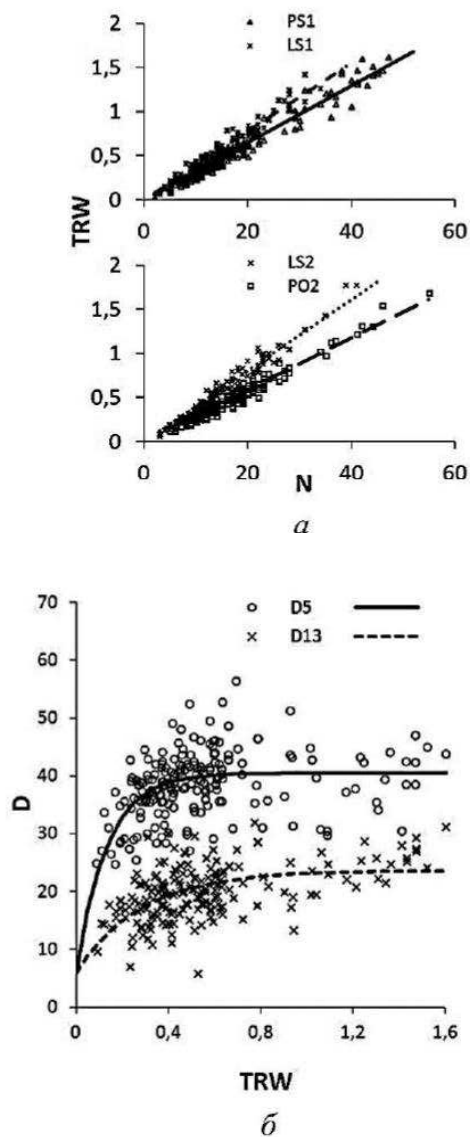


Рисунок 1.6 - Зависимости между характеристиками древесины [1]

Толщина клеточной стенки (W), как результат последнего этапа дифференцировки, зависит не только напрямую от TRW , но и от D . Установлено, что в ранней древесине значения радиального диаметра клетки (D) максимальны, затем постепенно уменьшаются. Изменчивость толщины клеточной стенки (W) имеет более сложный характер: в ранней древесине наблюдаются наименьшие значения, затем толщина стенки увеличивается, достигает максимума и вновь уменьшается в поздней древесине [1]. На рисунке 1.7 можно видеть пример такой связи для годичных колец

лиственницы на примере одного образца. Видно, что связь W с D носит линейный или близкий к линейному виду характер связи в каждой зоне годичного кольца. Разница заключается в тангенсе угла наклона этих связей. Интересно, что если в зонах ранней и поздней древесины тангенс угла наклона положительный, то в переходной зоне годичного кольца он носит отрицательный знак [28].

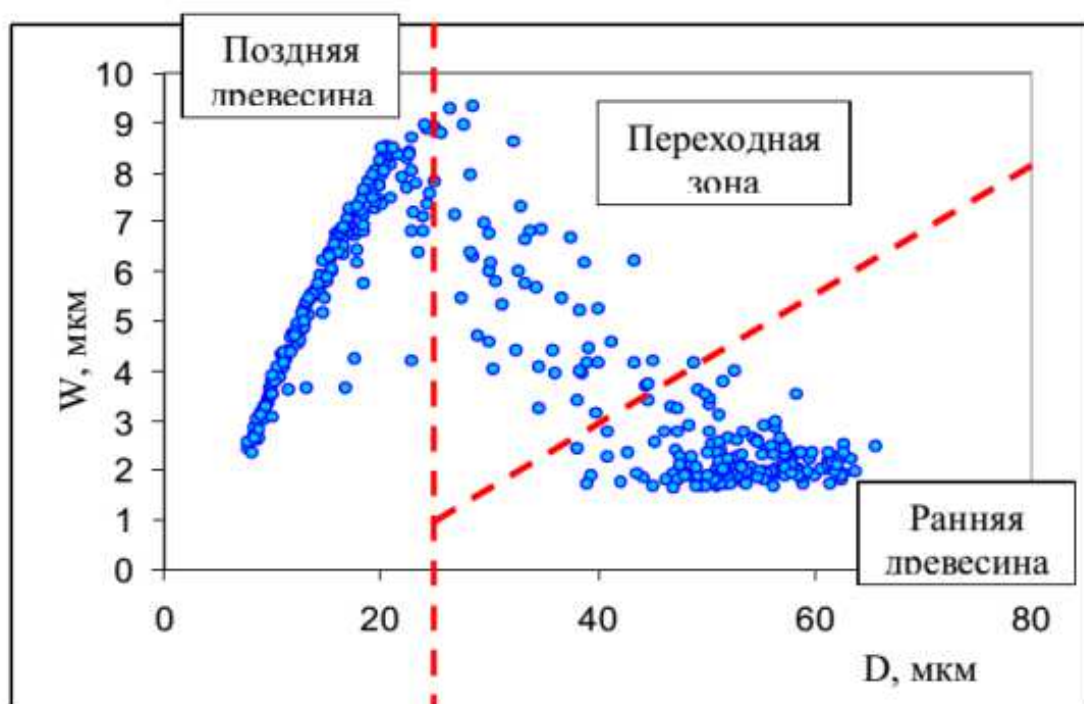


Рисунок 1.7 - Связь толщины клеточной стенки (W) с её радиальным размером (D) для годичных колец одного образца лиственницы [28]

Глава 2 Материалы и методы

2.1 Объект исследования

2.1.1 Экологическая характеристика пихты сибирской

В качестве объекта исследования были выбраны годовые кольца пихты сибирской.

Пихта сибирская – зимостойка и свободно переносит очень низкие температуры. Этому способствует слабое испарение влаги зимой и залитые смолой почки [3].

По отношению к свету пихта относится к группе теневыносливых растений [19], потому что имеет густое покрытие теневой хвоей, обладает наличием самосева в затененных местах и удовлетворительным ростом под пологом других пород. Заостренный зонтикообразный подрост пихты высотой до 0,5 м сохраняется до 50 лет и может выжить после выставления на свет. Остроконечные ее вершины покрыты световой хвоей [14].

К почве пихта сибирская требовательна. Лучше всего растет на дерново-подзолистых, суглинистых почвах. Избирает достаточно дренированные местоположения или горные склоны. Хорошо растет там, где в подпочве залегают известняки. Застойно-заболоченных и сильно подзолистых почв избегает, но переносит проточное увлажнение. На бедных песчаных почвах не растет [2].

Растет пихта в чистых и смешанных насаждениях. Произрастая вместе с елью, вытесняет сосну. Высоко в горах растет в виде приземистого кустарника, достигая верхней границы леса [3; 14].

Древесина белая, с желтоватым оттенком, без смоляных ходов. Заболонь зрительно не отличается от центральной, более спелой, древесины. Годичные кольца хорошо заметны. Древесина малопрочная, не устойчивая к гнили [14].

2.1.2 Анатомические особенности древесины

На поперечном срезе ядро отсутствует. Граница между годичными слоями отчетливая, а между ранней и поздней древесиной переход постепенный. Осевая паренхима скудная, часто отсутствует; по расположению диффузная, редко встречаются клетки терминальной паренхимы. Нормальные смоляные ходы отсутствуют; встречаются тангентальные цепочки травматических смоляных ходов [14].

На тангенциальном срезе лучи однорядные без смоляных ходов. Высота лучей обычно 1-25 клеток.

На радиальном срезе поры трахеид расположены в 1 ряд, реже – в 2 ряда супротивно. Лучевые трахеиды отсутствуют. На полях перекреста в ранней древесине таксоидиоидные поры. Стенки внутренних клеток у лучей толстые; тангентальные стенки узелковые и зубчатые, горизонтальные – гладкие и выямчато – пористые. Пограничные клетки лучей тонкостенные [14].

2.2 Сбор образцов древесины

В качестве образцов древесины использовали керны, отобранные в Томской области вблизи д.Халдеево ($56^{\circ} 38' 27''$ с.ш.; $85^{\circ} 36' 04''$ в.д.) на высоте 121 м. над уровнем моря возле р. Большой Манган и в Красноярском крае вблизи п. Минино на Караульном нагорье ($56^{\circ}02' 45''$ с.ш., $92^{\circ} 29' 40''$ в.д) на высоте 394 м. над уровнем моря. Климат районов исследования континентальный. На рисунке 2.1 представлены фрагменты карт участков сбора образцов.

Радиальные керны древесины диаметром 4-5 мм и длиной 10-30 см [4; 28; 33] отбирали с помощью возрастного бурава Haglof шведского производства [4; 28; 33].

Керны брались по одному радиусу ствола дерева на высоте 1,0-1,3 м от поверхности земли. Сверление производилось в направлении, перпендикулярном продольной оси ствола дерева [4].

Высверленные керны помещали в специально подготовленные контейнеры, внутренний диаметр которых на 2-3 мм превышает диаметр образца. На контейнере фиксировали сведения об образце: код участка или керна, вид дерева, высота, дата взятия и фамилия коллектора [4; 28; 33].



Рисунок 2.1 - Фрагменты карт участков сбора образцов

2.3 Приготовление микротомных препаратов

Для изучения клеточной структуры годовичных колец готовили микротомные препараты. Для этого образец разрезали на несколько коротких кусочков и подвергали кипячению при высоких температурах в течение часа. При кипячении удается почти полностью избавиться от пузырьков воздуха и получить ту степень твердости древесины, которая позволяет удовлетворительно работать с микротомом [6; 36]. Срезы тонких слоев древесины (20-25 мкм) получали с помощью санного микротомы MicroTome HM450 [13; 22]. Полученные срезы промывали в дистиллированной воде, окрашивали нильским синим или сафранином в течение нескольких минут, затем срезы промывались в дистилляте до прекращения окрашивания воды и помещали между предметным и покровным стеклом в глицериновую среду [6; 25; 42].

2.3 Измерение гистометрических характеристик годовичных колец

Для измерения гистометрических характеристик годовичных колец использовали Систему Анализа Изображений (Image-System). В состав данного комплекса входят современный компьютер, световой микроскоп проходящего и отражённого света AxioImager.D1, оснащенный цветной видеокамерой AxioCam MRc5, универсальная компьютерная программа AxioVision (Карл Цейс, Германия), а также специализированный пакет прикладных программ авторской разработки П.П. Силкина:

- «SuperMoment» предназначена для автоматической компиляции отдельных изображений годовичных колец в одно целое.
- «Lineyka» служит для измерения линейных размеров структурных элементов трахеид на экране монитора.
- «ProcessorKR» производит обработку измеренных величин (вычисление ширины годовичного кольца, датировку клеточных данных,

стандартизацию клеточных размеров, усреднение в пределах кольца и т.п.) [25; 26; 28].

В каждом годичном кольце пихты сибирской с помощью программы «Lineyka» было проведено измерение радиального размера (D) и толщины клеточной стенки (W) по пяти рядам [28].

2.4 Методы обработки и анализа экспериментальных данных

2.4.1 Стандартизация числа клеток в годичных кольцах

В рядах годичных приростах деревьев содержится различное количество клеток, которое не позволяет проводить усреднения между рядами и построения единой диаграммы для каждого годичного кольца.

Для решения данной проблемы применяется процедура стандартизации числа клеток в годичном кольце к заданному их количеству. Метод основывается на добавлении или удалении клеток из рядов; растягивая или сжимая диаграмму вдоль горизонтальной оси. При этом результирующая диаграмма не изменяет своей формы. Принцип работы процедуры заключается в следующем: исходную последовательность клеточных данных в радиальном ряду длиной N превращают в ряд длины M повторением каждого члена исходной последовательности Nst раз, где Nst – то количество клеток, которое должно быть в ряду после стандартизации. В получившемся ряду длиной M выделяются подпоследовательности длиной N , и для каждой из них вычисляется среднее значение клеточных размеров. В итоге получается стандартизированная диаграмма длиной Nst [26].

2.4.2 Индексация параметров клеток годичных колец

Изучение связей между параметрами клеток годичных колец, осложняется зависимостью абсолютных значений этих параметров от энергии роста деревьев. Деревья, произрастающие на одном участке, имеют

различную скорость роста и, как следствие, различные средние значения параметров клеточной структуры годовых колец [26].

Для устранения влияния индивидуальных особенностей роста между деревьями проводится индексация всех параметров клетки по формуле:

$$I_{P_i} = \frac{P_i}{P_{mR}}, \quad (2.1)$$

где I_{P_i} - индекс параметра P_i для j -й клетки; P_{mR} - среднее значение параметра P в текущем годовом кольце [26].

2.4.3 Методы оценки влияния климатических факторов на формирование годового кольца

Для оценки влияния климатических факторов на формирование годового кольца использовались данные ближайших метеостанций к местам сбора образцов. Климатические данные представляют собой ряды наблюдений с 1995 по 2005 годы ежедневных средних значений температуры и количества осадков [10]. Вегетационный период разбивали на пятидневки, представленные в таблице 2.1, и вычисляли среднее значение климатических параметров за пять дней. Данные клеточных параметров стандартизировали к единому количеству клеток [26].

Степень влияния температуры и количества осадков в течение вегетационного периода на клеточные параметры оценивалась с помощью корреляционного анализа с использованием программного обеспечения Statistica 8 [11].

Таблица 2.1 - Соответствие номера пятидневки с календарными датами

Май		Июнь		Июль		Август		Сентябрь	
Номер пятидневки	Календарное число месяца	Номер пятидневки	Календарное число	Номер пятидневки	Календарное число	Номер пятидневки	Календарное число	Номер пятидневки	Календарное число
1	16-20	4	31-4	10	30-4	16	30-3	22	29-2
2	21-25	5	5-9	11	5-9	17	4-8	23	3-7
3	26-30	6	10-14	12	10-14	18	9-13	24	8-12
		7	15-19	13	15-19	19	14-18		
		8	20-24	14	20-24	20	19-23		
		9	25-29	15	25-29	21	24-28		

Для оценки влияния климатических факторов на формирование клеточной структуры в переходной зоне годичного кольца использовали ряды средних трехдневных значений температуры и количества осадков за июль каждого года.

По климатическим данным температуры и количества осадков рассчитывали гидротермический коэффициент (ГТК) Г.Т. Селянинова для периодов роста по формуле 2.2. В таблице 2.2 представлены значения ГТК с его характеристикой [30].

$$ГТК = 10 \cdot R / \sum t, \quad (2.2)$$

где R - сумма осадков за данный период (мм); $\sum t$ - сумма температур за то же время (°C).

Таблица 2.2 - Соответствие значений ГТК с его характеристикой [20]

ГТК	Характеристика тепло - влагообеспеченности	ГТК	Характеристика тепло - влагообеспеченности
<0,2	Очень сильная засуха	0,76-1	недостаточная
0,21-0,39	Сильная засуха	1,1-1,4	оптимальная
0,4-0,6	Средняя засуха	1,41-1,5	повышенная
0,61-0,75	Слабая засуха	>1,5	избыточная

Глава 3 Результаты и обсуждения

3.1 Сравнительный анализ параметров годичных колец пихты сибирской

3.1.1 Сравнительный анализ соотношения продукции числа клеток за сезон и ширины годичного кольца

Для сравнительного анализа соотношения продукции числа клеток за сезон и ширины годичного кольца использовали образцы пихты сибирской, собранной в Томской области и Красноярском крае. За период роста с 1995 по 2005 год анализ продукции клеток показал, что в годичных кольцах пихты из Томской области, клеток образуется больше, чем у пихты из Красноярского края. Соответственно и ширина годичных колец выше у пихты из Томской области, по сравнению с Красноярским краем. Сравнительные диаграммы показаны на рисунках 3.1 и 3.2.

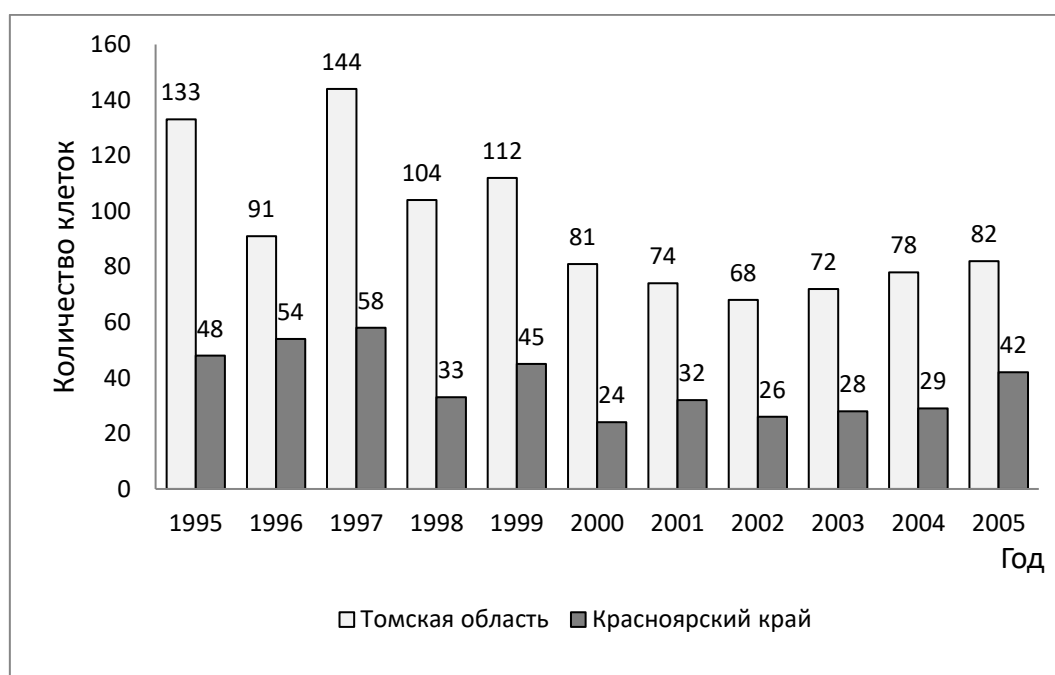


Рисунок 3.1 – Продукция клеток за период с 1995 по 2005 год у отдельных образцов пихты сибирской

ВЫВОДЫ

1. Проведен сравнительный анализ соотношения продукции числа клеток за сезон и ширины годичного кольца для пихты сибирской. Было установлено, что у пихты из Томской области в годичных кольцах клеток образуется больше, и ширина годичных колец выше по сравнению с пихтой из Красноярского края.

2. Для пихты сибирской из двух разных климатических районов, в добавление к уже имеющимся данным по сосне и лиственнице (П.П. Силкин), был выявлен подобный тип связи между индексированными значениями радиального размера трахеиды (D) и толщины клеточной стенки (W), что свидетельствует о биологическом контроле данных параметров клетки.

3. Было установлено влияние факторов внешней среды на формирование клеточной структуры годичных колец пихты. Выяснено, что на клеточные параметры в ранней древесине воздействуют температура и количество осадков июня, в переходной зоне – июня и июля, а в поздней древесине – августа. Также в работе показано, какое влияние оказывают климатические факторы на связь между D и W в годичных кольцах пихты. В период роста при сильном увлажнении происходит увеличение размеров D и W , а снижение параметра D и увеличение W вызвано недостатком влаги или засухой. Полученные данные являются важными, поскольку их можно успешно использовать в решении задач дендроэкологии и дендроиндикации.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Бабушкина Е.А. Камбиальная зона – основная мишень влияния внешних факторов на формирование годичных колец хвойных / Е.А. Бабушкина, Л.В. Белокопытова // Лесной журнал. - 2015. - № 6. С. 35-45.
2. Библиотека «Жизнь растений» [Электронный ресурс] : Пихта сибирская. - Режим доступа: <http://plant.geoman.ru>
3. Булыгин, Н. Е. Дендрология / Н. Е. Булыгин. - Ленинград, 1991. - 352 с.
4. Ваганов, Е. А., Дендрохронология. Учебное пособие / Е. А. Ваганов, В. Б. Круглов, В. Г. Васильев. - Красноярск, 2008. - 120 с.
5. Ваганов, Е. А., Методы дендрохронологии / Е. А. Ваганов, С. Г. Шиятов. - Красноярск, 2000. - 81 с.
6. Ваганов, Е. А., Экология древесных растений / Е. А. Ваганов, В. Б. Круглов В.Б. - Красноярск, 2007. - 230 с.
7. Ваганов, Е.А. Анализ роста дерева по структуре годичных колец / Е.А. Ваганов, И.А. Терсков. – Новосибирск, 1977. – 93 с.
8. Ваганов, Е.А. Гистометрический анализ роста древесных растений / Е. А. Ваганов, А. В. Шашкин, И. В. Свидерская. – Новосибирск, 1985. - 104 с.
9. Ваганов, Е.А. Экологическая биофизика / Е. А. Ваганов, А. В. Шашкин, В. И. Харук , Р. Г. Хлебопрос, Н. А. Гаевский, В. Г. Суховольский, В.Г. Губанов, А.Г. Дегерменджи. - Москва, 2002. - 360 с.
10. Всероссийский научно - исследовательский институт гидрометеорологической информации - мировой центр данных [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://meteo.ru>
11. Гржибовский, А. М. Корреляционный анализ данных с использованием программного обеспечения Statistica и SPSS / А.М. Гржибовский, С.В. Иванов, М.А. Горбатова // Наука и здравоохранение. - 2017. - №1. С. 7-36.

12. Джансеитов, Ю.К. Анализ и моделирование кинетики продукции и дифференцировки клеток ксилемы: Дис. ... канд. биол. наук : 03.00.02 / Джансеитов Юрий Карлович. – Красноярск, 2002. – 150 с.
13. Егорова, Н.Н. К методике приготовления гистологических срезов растительных тканей древесных растений / Н.Н. Егорова, А.А. Кулагин // Известия уфимского научного центра РАН. –2017.- №4 (1). С. 16-18.
14. Коровин, В.В. Введение в современную биологию и дендрологию / В.В. Коровин, С.П. Зуихина. – Москва, 2010. – 343 с.
15. Лесоведение [Электронный ресурс] : Vegetационный период пород-лесообразователей. Режим доступа: <http://industrial-wood.ru/lesovedenie/>
16. Лобжанидзе, Э. Д. Условия образования ложных колец древесины в Закавказье. Условия образования ложных колец древесины в Закавказье / Э. Д. Лобжанидзе, М. С. Чкоидзе, В. Э. Лобжанидзе, Д. К. Церцвадзе, М.Д. Габуния. Структурные и функциональные отклонения от нормального роста и развития растений под воздействием факторов среды // Ин-т леса Карел. науч. центра РАН [и др.]. - Петрозаводск, 2011. С. 155-158.
17. Матвеев, С. М., . Дендрохронология / С. М. Матвеев, Д. Е. Румянцев. - Воронеж, 2013. - 140 с.
18. Паутов А.А. Морфология и анатомия вегетативных органов растений: учебник / А.А. Паутов. – Санкт-Петербург, 2012. – 336 с.
19. Плантариум: Определитель растений on-line [Электронный ресурс] : Пихта сибирская. - Режим доступа: <http://www.plantarium.ru>
20. Поляков, Д. В. Применение кластерного анализа для оценки гидротермических условий в период активной вегетации на территории юга Западной Сибири / Д. В. Поляков. - Звенигород, 2012. - 8 с.
21. Румянцев, Д.Е. История и методология лесоводственной дендрохронологии: монография / Д. Е. Румянцев.- Москва, 2010. – 109 с.
22. Сайт практика гистолога [Электронный ресурс] : Приготовление гистологических срезов. - Режим доступа: <http://practicagystologa.ru>

23. Свидерская, И. В. Модельная оценка оптимального соотношения между толщиной клеточной стенки и размером люмена у трахеид хвойных / И.В. Свидерская, В. Г. Суховольский, Е. Ю. Радостева, А. В. Кирдянов // Вестник: Сибирский федеральный университет. Сер. Биология. - Красноярск, 2011. - №2, Т. 4. С. 183-196.
24. Свидерская, И.В. Гистометрический анализ закономерностей сезонного роста древесины хвойных: Дис. ... канд. биол. наук : 03.00.05 / Свидерская Ирина Викторовна. – Красноярск, 1999. – 171 с.
25. Силкин, П. П. Измерение клеточных параметров годичных колец хвойных / П.П. Силкин, Н. В. Екимова // Вестник: «Лесной журнал». -2011. № 5. С. 35-40.
26. Силкин, П. П. Методы многопараметрического анализа структуры годичных колец хвойных: монография / П. П. Силкин. - Красноярск: Сибирский федеральный университет, 2010. - 335 с.
27. Силкин, П.П. Коррекция измерений толщины клеточной стенки в переходной зоне годичных колец лиственницы / П.П. Силкин, А.В. Кирдянов, В.Б. Круглов, Кнорре А.А. //Экология и природопользование. Вестник КрасГУ. – 2005. С. 85-89.
28. Силкин, П.П. Методы исследования регистрирующих структур / П.П. Силкин. - Красноярск, 2007. – 92 с.
29. Силкин, П.П. Связь толщины клеточной стенки с радиальным размером трахеиды в годичных кольцах лиственницы, сосны и пихты / П.П. Силкин, Н.В. Екимова, А.Ф. Кайгородова // Труды XX Байкальской Всероссийской конференции. – 2015. С. 205-208.
30. Словари и энциклопедии на академике [электронный ресурс] : Гидротермический коэффициент Селянинова. Режим доступа: <http://academic.ru>
31. Степанов Н.В. Электронный учебно-методический комплекс по дисциплине «Ботаника» / И.Е. Ямских, Е. А. Иванова, И.П. Филиппова, О. Е. Крючкова. - Красноярск, 2009. - 285 с.

32. Судацкова Н. Е. Действие засухи на формирование древесины и антиоксидантную защиту камбиальной зона сосны обыкновенной / Н. Е. Судацкова, Л. И. Романова, И. Л. Милютина. – Сибирский лесной журнал. - 2015. - № 5. С. 54-63.
33. Тишин, Д.В. Дендрэкология/ Д. В. Тишин. - Казань, 2015. – 36 с.
34. Швамм Е.Е. строение древесины / Е.Е. Швамм. – Екатеринбург, 2010. – 36 с.
35. Эзау К. Анатомия семенных растений / К. Эзау. - Москва, 1980. - 282 с.
36. Яценко-Хмелевский, А. А. Основы и методы анатомического исследования древесины / А. А. Яценко-Хмелевский. - Москва, 1954. - 335 с.
37. Brooke A. Cassell. Reconstruction of fire history in Mexican tropical pines using tree rings / Brooke A. Cassell, Ernesto Alvarado // Forestry Chronicle. - October 2012. PP: 553-555.
38. Carlo Lupi. Xylogenesis in black spruce: does soil temperature matter / Carlo Lupi, Hubert Morin, Annie Deslauriers, Sergio Rossi // Tree Physiology. – 2011. - № 32 (1). PP: 74 - 82.
39. Chris Marion. Dendrochronology -the study of tree rings/ Chris Marion. - 2011. - 11 p.
40. Cyrille B. K. Rathgeber. Biological Basis of Tree-Ring Formation: A Crash Course / Cyrille B. K. Rathgeber, Henri E. Cuny, Patrick Fonti // Frontiers in Plant Science. – 2016.
41. David M. Drew. Wood properties in a long-lived conifer reveal strong climate signals where ring-width series do not / David M. Drew, Kathryn Allen, Geoffrey M. Downes, Robert Evans, Michael Battaglia, Patrick Baker // Tree Physiology. – 2012. - № 33 (1). PP: 37 - 47.
42. Georg von Arx. Quantitative Wood Anatomy—Practical Guidelines / Georg von Arx, Alan Crivellaro, Angela L. Prendin, Katarina Cufar, Marco Carrer // Frontiers in Plant Science. – 2016.

43. Joana Vieira. Adjustment Capacity of Maritime Pine Cambial Activity in Drought-Prone Environments / Joana Vieira , Filipe Campelo, Sergio Rossi, Ana Carvalho, Helena Freitas, Cristina Nabais // Published. - 2015.

44. Nicolas Delpierre. Temperate and boreal forest tree phenology: from organ-scale processes to terrestrial ecosystem models / Nicolas Delpierre, Yann Vitasse, Isabelle Chuine, Joannès Guillemot, Stéphane Bazot, This Rutishauser, Cyrille B. K. Rathgeber // Annals of Forest Science. – 2016. -№ 73 (1). PP: 5–25.

45. Patrick Fonti. Temperature – induced responses of xylem structure of *Larix Sibirica* (Pinaceae) from the Russian Altay / Patrick Fonti, Marina V. Bryukhanova, Vladimir S. Myglan, Alexander V. Kirilyanov, Eugene A. Vaganov // American Journal of Botany. – 2013. - № 100 (7). PP: 1332–1343.

46. Sarah Wilkinson. Biophysical modelling of intra-ring variations in tracheid features and wood density of *Pinus pinaster* trees exposed to seasonal droughts / Sarah Wilkinson, Jerome Ogee, Jean-Christophe Domec, Mark Rayment, Lisa Wingate // Tree Physiology. - 2015. - №35 (3). PP: 305-318.

47. Shahanara Begum. Localized cooling of stems induces latewood formation and cambial dormancy during seasons of active cambium in conifers / Shahanara Begum, Kayo Kudo, Yugo Matsuoka, Satoshi Nakaba, Yusuke Yamagishi, Eri Nabeshima, Md Hasnat Rahman, Widyanto Dwi Nugroho, Yuichiro Oribe, Hyun-O Jin, Ryo Funada // Annals of Botany. – 2016. - № 117. PP: 465–477.

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологий
Кафедра водных и наземных экосистем

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

 М.И. Гладышев

подпись инициалы, фамилия

« 15 » июня 20 18 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Сравнительный анализ клеточной структуры годичных колец пихты
сибирской, произрастающей в Томской области и Красноярском крае

тема

06.04.01 «Биология»

код и наименование направления

06.04.01.02 «Физиология растений»

код и наименование магистерской программы

Руководитель

 15.06.18

подпись, дата

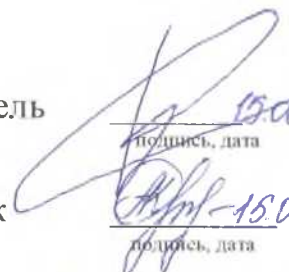
профессор, д-р биол. наук

должность, ученая степень

П.П. Силкин

инициалы, фамилия

Выпускник

 15.06.18

подпись, дата

ББ16-02М, 041625601

номер группы, номер зачетки

А.Ф. Кайгородова

инициалы, фамилия

Рецензент

 15.06.18

подпись, дата

в.н.с. д-р биол. наук

должность, ученая степень

Т.С. Седельникова

инициалы, фамилия

Красноярск 2018