

ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РЕАКЦИЯ СЕМЕННОГО ПОТОМСТВА ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ НА СТРЕСС

Т.В. Вострикова

Воронежский государственный университет, Россия

Поступила в редакцию 15 декабря 2009 г.

Аннотация: Изучена эколого-физиологическая реакция древесных растений на комплекс природно-климатических и антропогенных факторов по цитогенетическим характеристикам клеток корневой меристемы *Betula pendula* Roth and *Tuja occidentalis* L. Выявлена изменчивость митотического индекса, количества аномалий и клеток в стадии профазы, свидетельствующая о цитогенетической нестабильности материнских деревьев и их семенного потомства.

Ключевые слова: цитогенетические характеристики, антропогенное загрязнение, митотический индекс, интродуцент.

Abstract: The article studies the ecological and physiological response of woody plants to the complex of climatic and anthropogenic factors depending on the cytogenetic characteristics of the cells of root meristem of *Betula pendula* Roth and *Tuja occidentalis* L. The article reveals variability in the mitotic index, the number of anomalies and cell stage of prophase, indicating cytogenetic instability of the mother trees and their seed progeny.

Key words: cytogenetic characteristics, anthropogenic pollution, mitotic index, introducent.

В комплексе мер по решению проблемы адаптации растений к условиям существования большое значение имеет анализ состояния интродуцентов в коллекциях ботанических садов. При интродукции растения должны адаптироваться к новым ритмам, часто значительно отличающимся от ритмов на его родине. Многие хвойные интродуценты (туя западная, можжевельник казацкий и ель колючая) достаточно устойчивы к загрязнению и, в частности, газоустойчивы. Из литературы известно, что во всем комплексе действующих на растения внешних факторов решающую роль играет состояние почв, которые в последние годы все чаще характеризуются присутствием в них тяжелых металлов. Поэтому интродуценты в условиях техногенной нагрузки испытывают двойной стресс. Однако популяции, которые уже страдают от стресса, могут быть более чувствительными к дополнительным воздействиям и требуют специального внимания [4]. Следовательно необходимы исследования различных показателей зеленых растений именно на техногенно загрязненных территориях, в том числе и цитогенетических характеристик, для отбора более устойчивых к антропогенному загрязнению видов и форм, которые

можно использовать в качестве семенных маточников.

В литературе отсутствует однозначное мнение об успешности внедрения растений на новых территориях в условиях техногенного загрязнения. Некоторые авторы предполагают, что выращивание интродуцированных насаждений может иметь положительный эффект на территориях, подверженных антропогенному воздействию [7]. В условиях интродукции выживают наиболее сильные индивиды, приспособленные к климатическим и другим изменениям окружающей среды. При техногенном загрязнении стресс усиливается и адаптирующиеся интродуценты, возможно, получают более устойчивыми. Но четко ответить на вопрос об устойчивости индивидов в интродукционной популяции, стабильности генетического аппарата особей можно, изучив их цитологические характеристики.

Адекватно оценить экологическую ситуацию, состояние растений и генетического аппарата их клеток позволяет цитогенетический метод, основанный на оценке окружающей среды по состоянию соматических и генеративных клеток, их генетического аппарата и самочувствию живых организмов. Исследуя цитогенетические характерис-

тики у семенного потомства, можно определить поврежденность, стабильность или нестабильность генетического аппарата, которую дифференцируют по количеству нарушений или хромосомных aberrаций. Таким образом, выявляются мутантные формы, внешне (фенотипически) не отличающиеся от особей, обладающих нормальным генотипом. Генетические изменения в соматических клетках представляют собой интегральный показатель гомеостаза, стабильности развития. Гомеостаз – постоянство внутренней среды организма, способность обеспечивать его нормальное развитие. Изменения гомеостаза отражают базовые изменения функционирования у живых существ и находят выражение в процессах, протекающих на разных уровнях, от молекулярного до организменного и, соответственно, могут быть оценены по различным параметрам с использованием разных методов [4]. Нами применялся цитогенетический метод оценки гомеостаза.

Состояние генетического аппарата интродуцентов может быть нестабильным. В качестве тест-объекта на стресс, вызванный загрязнением, наличием тяжелых металлов в почве, лучше использовать аборигенные виды, одним из которых является береза повислая (*Betula pendula* Roth). Исследование *B. pendula* по цитогенетическим показателям позволяет быстро и достоверно оценивать интегральный эффект мутагенов окружающей среды, а также экстраполировать данные, полученные при ее изучении на человека.

Туя – долговечное, вечнозеленое растение. Это деревья и кустарники с плоскими ветвями и чешуевидной хвоей, прижатой к побегам. У юношеских форм, например, туи западной (*Thuja occidentalis* L.) вересковидной формы хвоя игло-видная. Декоративность растениям придает разнообразная окраска и форма кроны. Туя зимостойка, теневынослива, умеренно требовательна к почве, устойчива к дыму и газам [12]. Она повсеместно используется в озеленении города: жилой зоны, на территории промышленных предприятий, поэтому является удобным объектом для различных, в том числе мониторинговых исследований. Туя западная – интродуцент, что представляет интерес ее исследования и является дополнительным стрессовым фактором при выращивании этих деревьев в экологически неблагоприятных районах.

Туя с начала 20 века широко применяется для озеленения городов России, формирования живых изгородей, имеет большое разнообразие форм [5]. Однако широкому комплексному использованию

этого ценного, но недостаточно изученного в условиях Центрального Черноземья вида, должна предшествовать оценка состояния интродуцированных растений и поиск методов отбора проростков с устойчивым генотипом уже на ранних стадиях онтогенеза. Объективную оценку состояния клеток может дать цитогенетический метод.

Ботанический сад ВГУ расположен в Центральном районе г. Воронежа – районе со слабой техногенной нагрузкой. Но на фоне общего спада промышленного производства наблюдается увеличение транспортного потока. В отработанных газах автомобилей содержится около 200 компонентов, среди которых имеются канцерогенные и токсичные. На основных магистралях города, расположенных большей частью в Центральном районе отмечается превышение ПДК по NO₂ (до 1,6 ПДК), СО (до 1,8 ПДК), бензапирену (до 3 ПДК), свинцу (до 1,3 ПДК), пыли (до 2 ПДК). По данным ЦГСЭН в Воронежской области, наибольшее загрязнение почв тяжелыми металлами наблюдается в Центральном районе г. Воронежа. Количество нефтепродуктов в верхнем слое почвы (0-10 см) в 6-10 раз превышает фоновые концентрации [9].

В Центральном районе были собраны семена деревьев березы повислой и исследованы цитогенетические характеристики в клетках корневой меристемы проростков. Контрольный вариант произрастал в экологически чистом районе биостанции ВГУ «Веневетиново». Изучение цитологических показателей проводили на постоянных давленных препаратах, изготовленных по стандартной методике (5-7 препаратов по каждому варианту).

Изучалось потомство растений пирамидальной (посадка 1958 г. из материала, полученного в ЛОСС) и колонновидной (репродукции Ботанического сада ВГУ, посадка 1946 г.) форм туи, произрастающей в коллекционных посадках Ботанического сада ВГУ им. Б.М. Козо-Полянского. Семена проращивали в чашках Петри при 20-23° С. Изучали всхожесть и энергию прорастания семян. Для цитологических исследований проростки семян с длиной корня 1,0-1,5 см фиксировались в уксусном спирте (1:3). Исследование постоянных давленных препаратов проводили под микроскопом LABOVAL Carl Zeiss Jena. При анализе микропрепаратов исследовали клетки, находящиеся на всех стадиях клеточного цикла. На основании полученных данных определяли митотическую активность, показателем которой является митотический индекс (МИ – отношение числа делящихся клеток к общему числу изученных клеток в %).

Рассчитывали количество клеток с патологиями митоза от общего числа делящихся клеток в %. На отдельных препаратах подсчитывали количество клеток с разным числом ядрышек и среднее количество ядрышек в корневой меристеме.

Статистическую обработку результатов проводили на ПЭВМ типа IBM PC/AT с использованием пакета программ «Stadia».

У семенного потомства деревьев березы повислой из Центрального района г. Воронежа МИ колебался от 8,4 до 9,4 %. Отмечено увеличение доли профаз (34-42,5 %) и аномалий – патологий митоза (ПМ) и делящихся клеток с остаточными ядрышками, составляющее 3,2-5,1 %. Перечисленные цитогенетические характеристики достоверно отличались от контрольных ($P < 0,01$). Количество клеток на стадии профазы является важным мониторинговым критерием, поскольку их увеличение говорит о задержке митоза и показывает, что имеют место нарушения деления. В контроле МИ составил 7,7 % (с учетом профазы). Число клеток в стадии профазы – 28,6 %, а аномалии – 1,1 %. Проведенный нами однофакторный дисперсионный анализ показал незначительное влияние фактора генотипа на МИ. Сила влияния – 3 % по Снедекору. Это, с одной стороны, может свидетельствовать о невысокой степени гетерогенности деревьев березы повислой в указанном насаждении по МИ. Но, с другой стороны, данный факт представляет собой пример влияния индивидуальной чувствительности к слабому загрязнению у *B. pendula*, поскольку деревья были одновозрастными, нормальными по фенотипу, и произрастали на одинаковом удалении от автодороги. В спектре нарушений преобладали остаточные ядрышки. Появление в делящихся клетках остаточных ядрышек (ОЯ) под воздействием внешних факторов отражает изменение физиологического состояния организма, а не его генетической конституции. В норме, как правило, ядрышко исчезает уже в профазе и восстанавливается лишь только в поздней телофазе [11]. В стрессовых условиях подавляется функция уникальных генов и активизируется работа рибосомальных и высокоповторяющихся последовательностей. Это выражается в увеличении ядрышковой активности, в частности, повышается число делящихся клеток с ОЯ [1], что приводит к изменениям биохимического, белково-ферментного состава, т.е. резко возрастает количество вторичных (стрессовых) метаболитов. Действительно, при воздействии на растение повреждающих факторов (низкой температуры, засухи, засоления

и т.д.) выключается синтез некоторых «привычных» белков и начинается образование других, так называемых «стрессовых белков» [12]. Появление ОЯ в делящихся клетках, синтез стрессовых метаболитов – примеры адаптивной реакции на стресс.

Уровень ПМ у деревьев на данной территории значительно выше контрольного, но мало отличается от уровня спонтанного мутационного процесса, при котором допускается наличие 3 % нарушений. Таким образом, цитогенетические исследования свидетельствуют о слабой степени загрязнения в Центральном районе г. Воронежа.

Наиболее сильное отрицательное действие, по нашему мнению, на рост и развитие деревьев березы повислой в Центральном районе оказывают тяжелые металлы, что связано как с большой плотностью движения автотранспорта, так и с выбросами промышленных предприятий. В основном это медь, цинк, свинец, кадмий в концентрациях более 2 ПДК. Тяжелые металлы легко накапливаются в почве, но чрезвычайно медленно выводятся из нее [2]. Установлено, что в наибольшей степени в растения из почвы поступают кадмий, никель и цинк, включаются в метаболические процессы. Например, цинк необходим для осуществления важнейших процессов жизнедеятельности растений и животных, что связано с его каталитической функцией, которую он выполняет, входя в состав многих ферментов [10]. При дефиците этого микроэлемента происходит угнетение ростовых процессов у растений [6], а при его избытке отмечаются такие же эффекты, как при воздействии других тяжелых металлов [3].

Ранняя диагностика особенностей роста и развития растений, основанная на анализе их свойств в ранние периоды онтогенеза, установление корреляций между морфологическими признаками семян и начальным ростом выращенных из них растений, в интродукционной практике почти не разрабатываются. Однако считают, что оценка качества семян по росту и развитию растений, которые могут быть из них получены – принципиально новый критерий в интродукционной работе [8]. Определенная скорость роста растений в раннем возрасте в значительной степени обусловлена генетически. Ранний отбор перспективных растений позволяет не только сократить время процесса акклиматизации, но и может способствовать улучшению генетического фонда растений-интродуцентов. Качество создаваемых посадок интродуцентов, их устойчивость в новом климате и продуктивность (в широком смысле слова) в конеч-

ном счете определяются посевными и наследственными свойствами семян. Наиболее существенные изменения наблюдаются при хранении семян древесных растений в хромосомном аппарате [8]. Еще мало изучены вопросы изменения генетического аппарата семян при хранении. Генетическая неоднородность популяций служит теоретической предпосылкой для выделения генотипов, проявивших в условиях первичного испытания большую приспособленность к новым условиям среды. Проверка по потомству – заключительный этап изучения индивидуальной изменчивости. Неравномерность развития цветков в кроне приводит к заметной дифференциации семян по качеству, что имеет определенный приспособительный смысл. При обычном непостоянстве внешних условий в какой-то части кроны формируются семена хорошего качества, что всегда обеспечивает семенное размножение.

В онтогенезе растений важную роль играют самые ранние этапы, поскольку всхожесть семян и скорость начального роста проростков оказывают большое влияние на дальнейшее развитие растения и его продуктивность. В наших исследованиях всхожесть семян популяционного сбора у двух изученных форм оказалась неодинаковой. У пирамидальной она составила 67%, а у колонновидной – 33%. В исследуемый год вариационная кривая, характеризующая энергию прорастания, оказалась двухвершинной у пирамидальной формы и трехвершинной у колонновидной, что может свидетельствовать о гетерогенности семян. В корневой меристеме 24 изученных проростков наблюдалось широкое варьирование митотической активности. При сходной длине зафиксированных корней митотический индекс составлял от 5,7 до 17,1%. У проростков пирамидальной формы в среднем митотический индекс оказался выше, чем у проростков колонновидной ($12,7 \pm 0,8\%$ и $10,1 \pm 0,8\%$).

При анализе распределения клеток пирамидальной формы туи по фазам митоза их наибольшее число пришлось на профазу (47,3%), далее следует телофаза (24,1%), метафаза (16,0%), самая короткая – анафаза (12,7%). У колонновидной формы на стадии анафазы отмечено меньше клеток (9,6%), а на стадиях профазы и телофазы, наоборот, несколько больше, чем у пирамидальной формы (соответственно 48,4% и 26,0%). Это может свидетельствовать о более быстром прохождении стадии анафазы, но задержке процессов, связанных с реорганизацией ядра. При прохожде-

нии митоза в потомстве коллекционных растений туи западной наблюдались нарушения. Среди органических нарушений встречались мосты в анафазе и телофазе, отставание хромосом в метакинезе и при движении к полюсам в анафазе и телофазе, агглютинация хромосом. В интерфазе обнаружены микроядра, двухядерные клетки. Агглютинация хромосом в метафазе в год исследования наблюдалась нами лишь у колонновидной формы. Частота встречаемости органических нарушений составляла от 2,3% (у пирамидальной) до 2,8% (у колонновидной).

В результате проведенных исследований обнаружены различия в состоянии потомства двух форм туи западной (пирамидальной и колонновидной), произрастающих в коллекционных посадках Ботанического сада ВГУ. Различия проявились по всхожести семян и цитогенетическим характеристикам. У колонновидной формы по сравнению с пирамидальной оказались ниже всхожесть семян, митотическая активность, выше частота органических нарушений митоза. Это свидетельствует о цитогенетической нестабильности данного насаждения. Однако высокий митотический индекс и небольшое число нарушений деления, не превышающее уровня спонтанного мутагенеза (3%), свидетельствует об удовлетворительном состоянии насаждений, приспособленности туи западной к условиям произрастания и возможности использования изученных форм в качестве маточных растений для сбора семян и материала для черенкования.

Эколого-физиологическая реакция древесных растений в условиях Центрального Черноземья аборигена – березы повислой и интродукта – туи западной выражена в увеличении митотического индекса, числа органических и функциональных нарушений деления. Это свидетельствует о цитогенетической изменчивости и чувствительности изученных индивидов к стрессу, вызванному комплексом природно-климатических и антропогенных факторов, а также о слабой степени загрязнения природной среды г. Воронежа. Широкий спектр индивидуальной изменчивости, наблюдаемый нами по цитогенетическим характеристикам у семенного потомства исследованных форм туи западной, способствует ее адаптации и является потенциалом для внедрения в озеленение, городские насаждения. Применение цитогенетического метода при оценке качества семян поможет создать более устойчивые интродукционные популяции для условий города Воронежа.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ «Анализ и прогнозирование молекулярно-клеточных реакций биосистем на антропогенное загрязнение атмосферы» (№09-04-97503-р-центр-а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Буторина А.К. Пуфинг хромосом в метафазе - телофазе митотического цикла у дуба черешчатого / А.К. Буторина, Ю.Н. Исаков // Докл. АН СССР. – 1989. – Т. 308, №4. – С. 987-988.
2. Джувеликян Х.А. Экология и человек / Х.А. Джувеликян. – Воронеж: Изд-во Воронеж. ун-та, 1999. – 264 с.
3. Довгалюк А.И. Оценка фитотоксической активности соединений тяжелых металлов и алюминия с помощью корневой апикальной меристемы лука / А.И. Довгалюк, Т.Б. Калиняк, Я.Б. Блюм // Цитология и генетика. – 2001. – Т. 35, №1. – С. 3-7.
4. Захаров В.М. Мониторинг здоровья среды на охраняемых природных территориях / В.М. Захаров, А.Т. Чубинишвили. – М.: Центр эколог. политики России, 2001. – 79 с.
5. Колесников А.И. Декоративная дендрология / А.И. Колесников. – М.: Лесная промышленность, 1974. – 703 с.
6. Комплексное изучение радиоактивного и химического загрязнения водоемов в районе расположения хранилища отходов радиового промысла / Т.И. Евсеева [и др.] // Экология. – 2003. – №3. – С. 176-183.
7. Кузьмин А.В. Структурная организация и потенциальная устойчивость интродуцированных насаждений *Larix sibirica* Ledeb. в условиях Кольского полуострова / А.В. Кузьмин, Л.И. Кузьмина, Е.Ю. Полоскова // Растительные ресурсы. – 2004. – Т. 40, вып. 2. – С. 18-28.
8. Некрасов В.И. Основы семеноведения древесных растений при интродукции / В.И. Некрасов. – М.: Наука, 1973. – 280 с.
9. О состоянии окружающей и природной среды города Воронежа / под ред. пред. Гос. ком. по охране окруж. среды г. Воронежа Н.В. Стороженко. – Воронеж, 1998. – 103 с.
10. Удельнова Т.М. Цинк в жизни растений, животных и человека / Т.М. Удельнова, Б.А. Ягодин // Успехи соврем. биологии. – 1993. – Т. 113, вып. 2. – С. 176-189.
11. Ченцов Ю.С. Общая цитология / Ю.С. Ченцов. – М.: Изд-во МГУ, 1984. – 344 с.
12. Шкутко Н.С. Хвойные Белоруссии / Н.С. Шкутко. – Минск: Наука и техника, 1991. – 264 с.

Вострикова Татьяна Валентиновна
кандидат биологических наук, научный сотрудник
ботанического сада Воронежского государственного
университета, г. Воронеж, т. (4732) 51-88-03,
E-mail: botsad.vsu@mail.ru

Vostrikova Tat'yana Valentinovna
Candidate of Biology, scientific worker of the botanical
gardens of the Voronezh State University, Voronezh,
tel. (4732) 51-88-03, E-mail: botsad.vsu@mail.ru