

КАЧЕСТВО СЕМЕННОГО ПОТОМСТВА ЯЧМЕНЯ СОРТА «ЗАЗЕРСКИЙ 85» ВЫРАЩЕННОГО НА ТОРФЯНОЙ БОЛОТНОЙ НИЗИННОЙ ПОЧВЕ С ПОВЫШЕННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ ЦИНКА.

Васильев Д.В.

В настоящее время происходит значительный рост содержания тяжелых металлов в почвах сельскохозяйственных угодий и их площадь в России уже составляет 3,6 млн. га. (Технологические, 2010). Рост количества доступных для живых организмов форм тяжелых металлов делает актуальным изучение их биологического влияния. Особенно важны такие исследования в отношении сельскохозяйственных растений, поскольку без качественных и безопасных для здоровья продуктов питания нельзя обеспечить стабильное развитие общества.

Для оценки последствий воздействия ионов металлов на растения в качестве интегральных критериев оценки токсичности используют показатели нарушения роста растений либо замедления митотической активности клеток меристем. При изучении индуцированного металлами мутагенеза наиболее адекватными признаны цитогенетические тест-системы растений. Они дают мало заведомо ложных результатов, позволяя получать воспроизводимые данные об уровне загрязнения среды при мониторинге *in situ*, обнаруживать ранние и в то же время наиболее серьезные последствия техногенного воздействия (Ma et al, 1995; Steinkellner et al, 1998; Kovalchuk et al, 2001; Grant, Owens, 2001, 2002). Выявление закономерностей возникновения цитогенетических повреждений и изменений ростовых процессов растений при действии металлов является, таким образом, важным этапом исследований, результаты которых требуются для обоснования решений в природоохранной деятельности и сельском хозяйстве.

В связи с этим нами была проведена оценка качества семенного потомства (всхожесть и энергия прорастания) а также частоты цитогенетических эффектов в проростках семян ячменя, выращенного на торфяной почве с повышенным содержанием цинка. За счет высоких темпов накопления в окружающей среде

цинк считается одним из наиболее значимых загрязнителей (Ильин 1991), и по классификации Дж. Вуда (Wood 1974) отнесен к очень токсичным химическим элементам.

Материалы и методы

Изучали цитогенетические эффекты, митотическую активность, всхожесть и энергию прорастания у семян ячменя сорта «Зазерский 85», выращенного в вегетационном эксперименте на торфяной болотной низинной почве, в которую был внесён водный раствор нитрата Цинка в концентрациях 250, 500 и 1000 мг/кг воздушно-сухой почвы (варианты T250, T500 и T1000 соответственно, контроль T0).

Семена проращивали в термостате при 21°C в чашках Петри на смоченной дистиллированной водой фильтровальной бумаге. Энергию прорастания и всхожесть определяли на 3 и 7 сутки соответственно.

Для фиксации клеток в первом митозе использовали корешки длиной 1-1,5 см, которые фиксировали в ацето-алкоголе (1:3). Временные давленные препараты окрашивали ацетоорсеином.

В препаратах изучали митотическую активность и количество клеток с цитогенетическими нарушениями (анализировали все ана-телофазные клетки, в среднем 3 - 6 тысяч ана-телофаз на вариант). Анализ спектра нарушений проводили с выделением хроматидных (одиночных) и хромосомных (двойных) мостов и фрагментов, многополюсных митозов, а также отставаний хромосом. Клетки со сложными, (неподдающимися распознаванию) абберациями из анализа были исключены. Отметим, что анафазным методом в клетках корневой меристемы проростков регистрируются нарушения, возникшие в период от образования гамет до созревания и сбора семян, поскольку индуцированные на вегетативной стадии (до цветения) хромосомные перестройки элиминируются в мейозе за исключением не регистрируемых этим методом симметричных транслокаций и инверсий.

Статистический анализ проводился методами вариационной статистики с использованием MS Excel. Для определения оптимального объема выборки, необходимого для получения оценок изучаемых параметров с фиксированной относительной погрешностью при заданной доверительной вероятности, применяли методику статистического анализа эмпирических распределений (Гераськин и др., 1994). Экспериментальные данные были проверены на наличие выбросов, которые исключали из дальнейшего рассмотрения. Достоверность отличий оценивали с помощью критерия Стьюдента.

Результаты

Одним из эффектов воздействия тяжелых металлов на семена растений является снижение их всхожести и энергии прорастания (Munzuroglu 2002). В нашем исследовании было установлено, что энергия прорастания и всхожесть семян ячменя выше контрольных значений при концентрации цинка в почве – 250 мг/кг, причем всхожесть выше статистически значимо. Однако при дальнейшем увеличении концентрации цинка в почве всхожесть и энергия прорастания семян имеют тенденцию к снижению (рис.1).

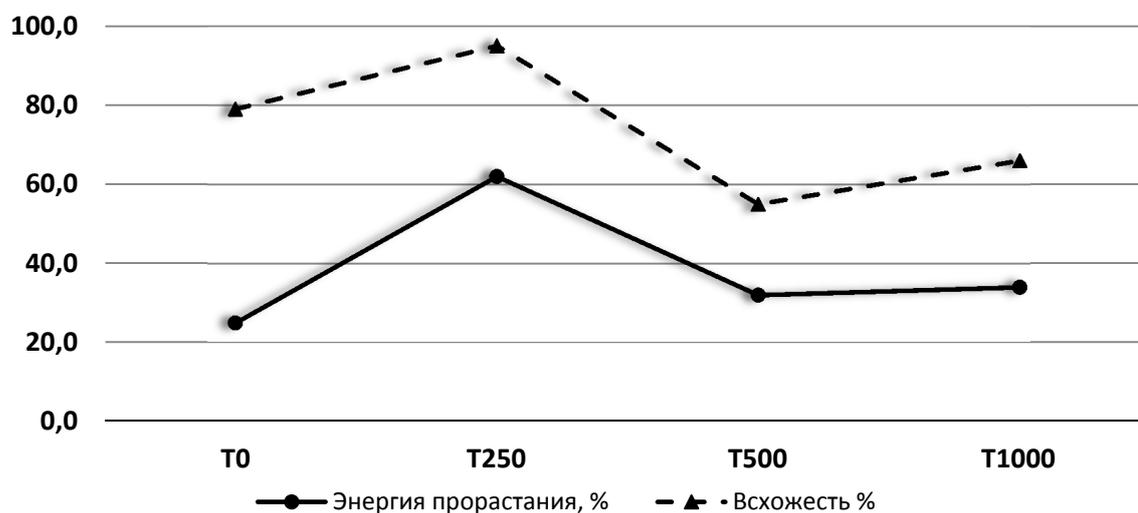


Рисунок 1. Энергия прорастания и всхожесть семян ячменя, выросшего на болотной низинной почве.

Митотическая активность также имеет тенденцию к росту при концентрации цинка в почве 250 мг/кг. При более высоких концентрациях цинка в почве митотическая активность снижается (рис 2).

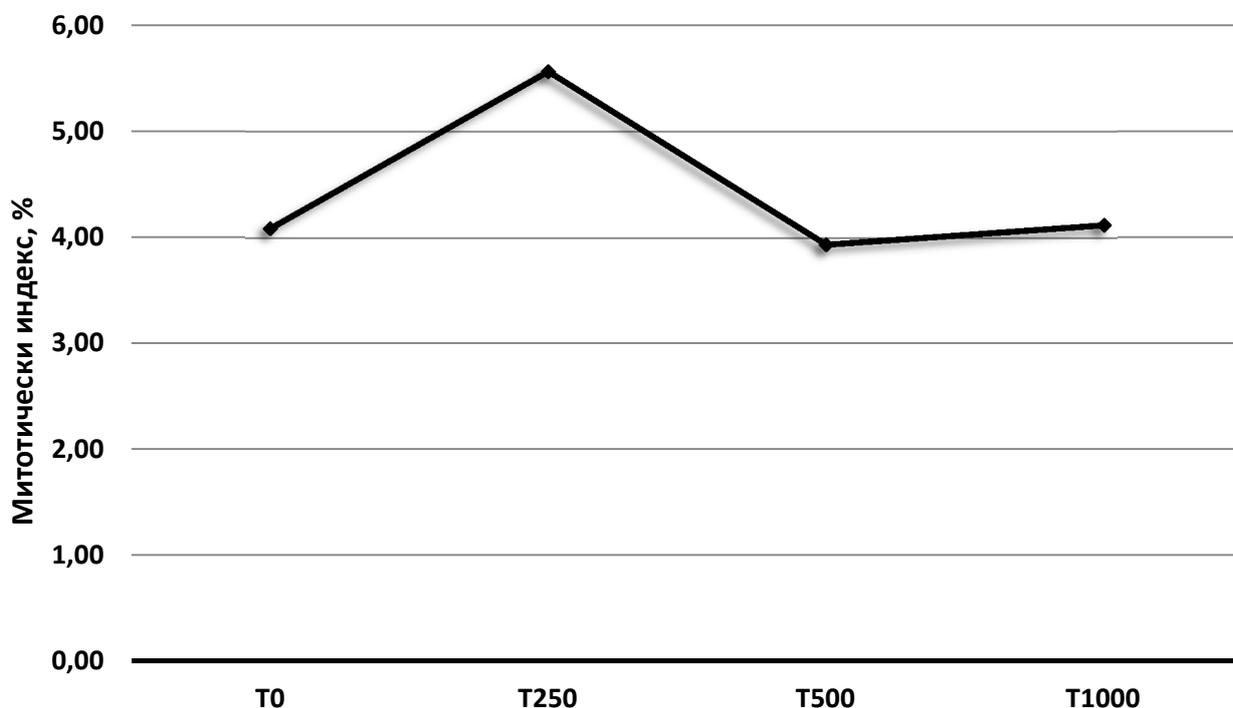


Рисунок 2. Митотическая активность клеток корневой меристемы проростков семян ячменя.

Цитогенетический анализ выявил статистически значимый рост числа хромосомных нарушений в клетках корневой меристемы проростков семян при концентрации цинка в почве 1000 мг/кг (табл. 1).

Таблица 1. Частота и спектр цитогенетических нарушений в корневой меристеме проростков семян ячменя

Вариант	ВК	АК, %	Относительный вклад разных типов аберраций, %		
			f'+m'	f''+m''	g+mp
T0	9451	0,77±0,09	17,11±0,06	36,84±0,07	46,05±0,07
T250	7177	0,78±0,07	17,91±0,07	28,36±0,06	53,73±0,07
T500	5941	0,90±0,09	25,00±0,06	19,12±0,07	55,88±0,08
T1000	4385	1,07±0,10*	15,79±0,07*	24,56±0,07	59,65±0,07

ВК – число просмотренных ана-телофазных клеток; АК – аберрантные клетки;

f', m' – хроматидные (одиночные) фрагменты и мосты; f'', m'' – хромосомные (двойные) фрагменты и мосты; g – отставания хромосом; mp – многополюсные митозы * - отличие от контрольного участка статистически значимо: * - p <5%, ** - p <1%, *** - p <0,1%

Анализ спектра цитогенетических нарушений выявил небольшую тенденцию к росту геномных нарушений с ростом концентрации цинка в почве. Однако достоверные отличие от контроля отмечено только для хроматидных нарушений при концентрации цинка 1000 мг/кг.

На основании полученных результатов можно сказать, что нитрат цинка способен оказывать влияние на качество семенного потомства ячменя и частоту цитогенетических нарушений в их проростках только при достаточно высоких концентрациях в почве. Отсутствие эффектов при меньших концентрациях может быть объяснено тем, что цинк хоть и является очень токсичным элементом (Дж. Вуд, 1974), в тоже время является и важным микроэлементом, влияющим на метаболизм растений. Поэтому при низких концентрациях, порядка 250 мг/кг нитрата цинка в торфяной болотной низинной почве, может наблюдаться даже некоторая стимуляция всхожести и энергии прорастания семян, а также рост митотической активности клеток корневой меристемы.

Литература

1. Munzuroglu O. Geckil H. Effects of metals on seed germination, root elongation and coleoptile and hypocotyl growth in *Triticumaestivum* and *Cucumissativus* // Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 2002. V. 43. P. 203-213.
2. Sharma R. K., Agrawal M. Biological effects of heavy metals: An overview // J. Environ. Biol. 2005. V. 26, N 3/4. P. 1-13.
3. Villiers F., Ducruix C., Hugouvieux V. et al. Investigating the plant response to cadmium exposure by proteomic and metabolomic approaches // Proteomics. 2011. V. 11. P. 1650-1663.

4. Wood J. M. Diologicalcicles for toxic elements in the invironment // Science 1974. Vol. 183. P. 1049-1059

5. Гераськин С.А., Фесенко С.В., Черняева Л.Г., Санжарова Н.И. Статистические методы анализа эмпирических распределений коэффициентов накопления радионуклидов растениями // Сельскохозяйственная биология. 1994. № 1. С. 130-137.

6. Ильин В.Б. Тяжелые металлы в системе почва – растение. / Новосибирск: Наука. Сиб. Отд-ние, 1991. 151с.

7. Технологические приёмы,обеспечивающие повышение устойчивости агроценозов, восстановление нарушенных земель, оптимизацию ведения земледелия и получение соответствующей нормативам сельскохозяйственной продукции. Под ред Н.И. Санжаровой. – Обнинск: ВНИИСХРАЭ, 2010. 180с.