

Биология

УДК 575.224.2

С. Г. ЕРВАНДЯН, А. А. НЕБИШ, Р. М. АРУТЮНЯН

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ
МИКРОГАМЕТОФИТА ДЛЯ ИНДИКАЦИИ ЗАГРЯЗНЕНИЯ СРЕДЫ

Представлены результаты исследования морфометрических показателей мужского гаметофита некоторых видов и сортов семейств *Rosaceae Juss.* и *Vitaceae Juss.* Выявлены его генотипические особенности. Генотипы, характеризующиеся оптимальными показателями микрогаметофита (персик, слива, виноград сортов Меграбуйр и Неркарат), могут представлять интерес в вопросах биоиндикации. По изученным параметрам не зарегистрировано существенных различий между контрольным и опытным вариантами.

Введение. Микрогаметофитный анализ широко применяется для индикации гаметоцидного действия загрязнения среды токсическими и мутагенными веществами [1, 2]. Интенсивная микрогаметофитная конкуренция позволяет устранять из популяции вредные аллели, что способствует участию в процессе оплодотворения наиболее приспособленных гаметофитов и обеспечивает высокую скорость эволюции [3, 4]. Выявление закономерностей отклика чувствительной генеративной сферы на воздействие различных факторов и расшифровка наблюдаемых эффектов представляют не только несомненный научный интерес, но и являются необходимым этапом оценки состояния окружающей среды, особенно в зонах размещения АЭС [5–7]. Из-за особенностей жизненного цикла семенных растений в спорофитных поколениях не может сохраняться генетический груз [8]. Задача настоящего сообщения – анализ микрогаметофитного гаплоидного поколения ряда представителей растений сортов семейств *Vitaceae Juss.* и *Rosaceae Juss.*, произрастающих в зоне размещения Армянской атомной электростанции (ААЭС).

Материал и методика. Исследования проведены на растениях, выращенных в окрестности ААЭС (опытный пункт) и в двух контрольных пунктах: для плодовых – биостанция ЕГУ (Норагюх), а для винограда – научный центр “Виноградоплодовиноделия” МСХ РА (Мердзаван), оба на расстоянии около 30 км от ААЭС. В качестве анализируемого материала использована зрелая пыльца следующих образцов: 1) сорта винограда культурного *Vitis vinifera L.* ($2n=38$): Шаумяни, Чаренци, Меграбуйр, Неркарат, Бурмунк; 2) таксоны плодовых: сорт Шалах абрикоса обыкновенного *Armeniaca vulgaris L.*

($2n=16$), сорт Нариндж персика обыкновенного *Persica vulgaris* Mill. ($2n=16$), сорта Малача и Дзмернук груши обыкновенной *Pyrus communis* L. ($2n=34, 51, 68$), слива домашняя *Prunus domestica* L. ($2n=16, 24, 32, 48, 64$). Оценка гаметофитного поколения проведена по следующим морфометрическим параметрам пыльцевых зерен: диаметр, объем, число пор прорастания (апертур), форма, гомогенность. В каждом варианте и для каждого признака подсчитано по 100 клеток. Диаметр пыльцевых зерен определяли с помощью окуляр-микроскопа, а объем – по формуле $D = \frac{1}{6} \pi d^3$ [9], где d – средний диаметр.

Цитологическое исследование проведено на ацетокарминовых препаратах по общепринятой методике [10].

Результаты и обсуждение. При формировании полноценного мужского гаметофита важное значение имеет его морфометрическая характеристика, от которой в существенной степени зависит микрогаметофитная конкуренция и оплодотворяющая способность цветочной пыльцы. Варьирование любых параметров, в том числе и морфометрических, в основном зависит от генотипа. Они могут быть больше или меньше среднепопуляционных показателей, которые следует рассматривать как эталоны при оценке качества исследуемой системы (в данном случае мужского гаметофита).

Морфометрические показатели пыльцевых зерен у представителей семейств Vitaceae Juss. (виноград) и Rosaceae Juss. (плодовые)

Название таксона (вид, сорт)	Средний диаметр d , мкм	Средний объем D , мкм ³	Число вариантов вариации ряда	Коэффициент вариации C_v , %	Средний диаметр d , мкм	Средний объем D , мкм ³	Число вариантов вариации ряда	Коэффициент вариации C_v , %
Виноград	Мердзаван (контроль)				ААЭС (опыт)			
Шаумяни	29,92±3,32	14534,01±±4951,37	3	10,10	29,27±1,83	13279,71±±2446,37	5	6,25
Чаренци	25,58±1,68	8899,08±±1765,91	4	6,57	26,27±1,65	9646,88±±1845,10	3	6,28
Меграбуыр	24,69±2,17	8074,94±±2241,90	4	8,79	25,30±2,18	8680,13±±2377,75	4	8,62
Неркарат	26,74±3,06	10429,26±±3396,66	4	11,44	27,91±3,33	11888,98±±3998,32	5	11,92
Бурмунк	24,91±2,90	8439,69±±2885,38	4	11,64	26,58±2,18	10075,34±±2555,0	4	8,2
Плодовые	Норагох (контроль)				ААЭС (опыт)			
абрикос, с.Шалах	54,15±2,54	83667,07±±12204,91	6	7,89	54,32±2,54	84429,4±±11684,67	7	11,08
персик	57,24±4,03	99616,95±±21847,42	4	17,37	59,77±2,81	112478,2±±15830,37	7	12,25
груша, с.Малача	35,19±3,60	23066,21±±6119,07	8	21,40	39,50±3,98*	31379,13±±14351,92	7	22,93
груша, с.Дзмернук	37,50±4,26	28247,06±±9953,48	7	25,18	41,14±6,04	29103,1±±16925,66	7	16,92
слива	41,47±5,59	28400,12±±15151,45	9	17,05	38,17±3,63*	29915,57±±8331,50	7	23,53

* – Различия между контролем и опытом достоверны.

Микрогаметофитный анализ подопытных таксонов выявил определенный полиморфизм как в пределах разных семейств, так и внутри видов. При этом следует отметить, что по сравнению с более варьирующим показателем – стерильностью пыльцы – колебания по морфометрическим показателям ограничены. Это особенно заметно для сортов винограда. При сопоставлении данных видно, что различия в размерах пыльцевых зерен (диаметр и объем) у разных сортов винограда незначительны (см. таблицу). Средний диаметр пылинки колеблется от 24,69 до 29,92 *мкм*, объем – от 8074,94 до 14534,01 *мкм*³. При этом в опытном пункте (у ААЭС) зарегистрировано некоторое укрупнение пылинки. У сортов Неркарат и Шаумяни и в опытном, и в контрольном пунктах средний диаметр пыльцевых зерен больше и колеблется в пределах от 26,74 до 29,92 *мкм*, объем – от 10429,26 до 14534,01 *мкм*³. Согласно литературным данным [11], сорта винограда с пылинками больше 27 *мкм* можно считать полиплоидными. В этом аспекте указанные генотипы соответствуют подобной характеристике.

Приведенные в таблице морфометрические параметры показывают, что характерный для плодовых спорофитный полиморфизм проявляется и в гаметофитном поколении: у исследуемых образцов наблюдается определенный уровень вариабельности параметров пыльцы. Крупными размерами в обоих пунктах отличается пыльца персика и абрикоса: диаметр меняется от 54,15 до 59,77 *мкм*, объем – от 83667,07 до 112478,2 *мкм*³. У остальных таксонов – два сорта груши и слива – величина пылинки оказалась почти в полтора раза меньше: диаметр меняется от 35,19 до 41,47 *мкм*, объем – от 23066,21 до 31379,13 *мкм*³. При этом для сливы отмечено некоторое увеличение среднего диаметра пылинки в контроле, а для сортов груши – в опыте. Несмотря на это, как и для сортов винограда, в основном резких колебаний по данному параметру в обоих пунктах исследования не зарегистрировано.

Морфометрическая оценка гаметофита пополняется также данными по частоте изменчивости признака (в каждом варианте – пылинки определенного размера, *мкм*). Из таблицы видно, что у сортов винограда число вариантов составляет от трех до пяти, а у плодовых – от четырех до девяти с преобладанием средних размеров. Для исследуемых форм, вне зависимости от пункта выращивания растений, превалируют пылинки средних размеров, а отмеченные отклонения (слишком мелкие и гигантские пыльцевые зерна) не столь существенны. Динамика варьирования с некоторым колебанием находится почти на одинаковом уровне для обоих пунктов исследования. Применяя коэффициент вариации (*Cv*), можно проследить за динамикой изменчивости признака. У разных таксонов цветковых растений определены три основные шкалы: варьирование считается слабым, если *Cv* не превышает 10%, средним – при 11–25% и значительным – при *Cv* >25% [12]. В природных популяциях различие в размерах отдельных пылинки даже в пределах одного цветка зависит от множества факторов. Размах вариации зависит от генотипа и внешних условий и свойственен чувствительной генеративной сфере.

Сопоставление коэффициентов вариации размеров пыльцевых зерен свидетельствует, что имеются определенные межвидовые и внутривидовые различия (см. таблицу). У сортов винограда в опытных вариантах отмечены

более низкие значения C_v , следовательно, размеры пылинки относительно равнозначны. Коэффициенты вариации находятся на уровне слабого варьирования. У изученных видов семейства *Rosaceae* Juss. коэффициенты вариации лежат в шкале среднего варьирования (11–25%).

Одной из характеристик качества пыльцевых зерен является число пор прорастания или апертур, при помощи которых обеспечивается связь с окружающей средой и развитие зрелой пыльцы. В большинстве случаев у цветковых растений встречаются трехпорные пылинки. Из рисунков 1 и 2 видно, что у изученных объектов преобладают пылинки с тремя апертурами, которые в опытных вариантах составляют 80–90%, а в контроле – 65–70%. У сортов груши наблюдаются пылинки с заметной долей других значений – с 1, 2 и 4 апертурами, их число составляет около 30–40%. У изученных образцов основная форма пыльцевых зерен треугольная, хотя в общей массе немало других форм: круглой, овальной, грушевидной, трапецевидной, цилиндрической, булавовидной и др.

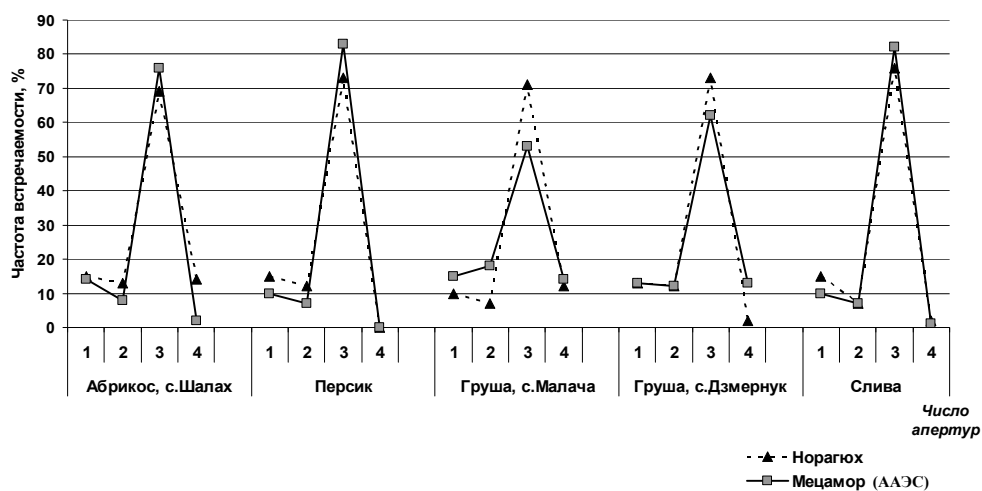


Рис. 1. Соотношение числа апертур у представителей плодовых культур.

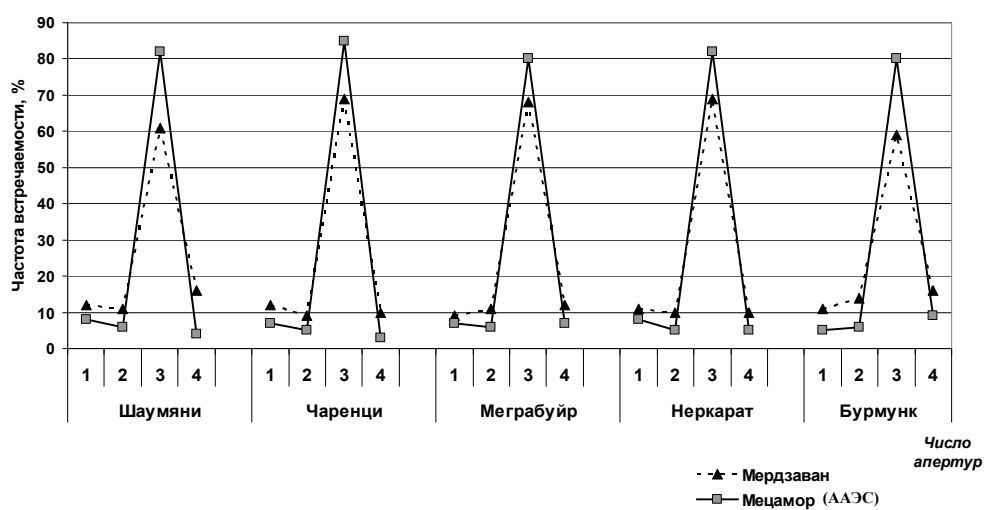


Рис. 2. Соотношение числа апертур у ряда сортов винограда.

Полученные коэффициенты вариации размеров пыльцевых зерен с учетом уровня фертильности, числа апертур и форм пыльнок могут считаться определяющими показателями для более убедительной характеристики мужского гаметофитного поколения. Комплексное исследование данного поколения может считаться ценным в теоретическом аспекте, а также при выборе тест-объектов и тест-систем.

Таким образом, сопоставление вышеизложенных данных дает основание считать, что для исследуемых таксонов основные морфологические параметры пыльцевых зерен (размер, форма, число апертур) относительно постоянны и определяются генотипом. У большинства подопытных форм, особенно у сортов винограда, сформировалась гомогенная пыльца с относительно высоким уровнем фертильности и оптимальными морфометрическими параметрами. Предпочтительнее в качестве биоиндикаторов любых видов растений, в том числе и подопытных генотипов, использовать образцы с лучшими биологическими параметрами (фертильность пыльцы, гомогенность). Следовательно, микрогаметофит генотипов винограда сортов Меграбуыр и Неркарат и плодовых (персик, слива) может служить в качестве материала для биоиндикации. Из вышеприведенных данных следует, что нет резких различий по пунктам исследования, при этом в опытных вариантах в отдельных случаях наблюдалось некоторое увеличение размеров пыльцевых зерен и числа нормальных (трехапертурных) пыльнок. По анализу морфометрических показателей не выявлено отрицательного воздействия ААЭС.

*ЕГУ, кафедра генетики и цитологии,
лаборатория общей биологии*

Поступила 24.01.2008

ЛИТЕРАТУРА

1. **Куринный А.И.** Цитология и генетика, 1983, т. 17, № 4, с. 32–35.
2. **Yervandyan S., Nebish A., Aroutiounian R.** Korean J. Environ. Biol., 2006, v. 24, № 4, p. 368–371.
3. **Голубинский И.Н.** Биология прорастания пыльцы. Киев: Наукова думка, 1974, 368 с.
4. **Лях В.Д.** Цитология и генетика, 1995, т. 29, № 6, с. 76–82.
5. **Кальченко В.А., Спирина Д.А.** Генетика, 1989, т. 25, № 6, с. 1059–1064.
6. **Гераськин С.А., Дикарев В.Г., Дикарева Н.С., Удалова А.А.** Генетика, 1996, т. 32, № 2, с. 272–278.
7. **Буторина А.К., Калаев В.Н., Миронов А.Н., Смородинова В.А., Мазурова И.Э., Дорошев С.А., Сенькевич Е.В.** Экология, 2001, № 3, с. 216–220.
8. **Constantin M.S.** Plant genetic systems with potential for the detection of atmospheric mutagens. In.: Genotoxic Effect Airborne systems with potential for the detection of atmospheric mutagens. Oak Ridge, TN, USA, 1984, p. 159–177.
9. **Плохинский И.М.** Математические методы в биометрии. М.: Изд-во МГУ, 1978, с. 250–254.
10. **Паушева В.П.** Практикум по цитологии растений. М.: Агроиздат, 1988, с. 256.
11. **Топалэ Ю.Г.** Полиплоидия у винограда. Кишинев: Штиинца, 1983.
12. **Лакин Г.Ф.** Биометрия. М.: Высшая школа, 1990, 352 с.

Ս. Գ. ԵՐՎԱՆԴՅԱՆ, Ա. Ա. ՆԵԲԻՇ, Ռ. Մ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ

ՄԻԿՐՈԳԱՄԵՏՈՖԻՏԻ ՄՈՐՖՈՄԵՏՐԻԿ ՉԱՓԱՆԻՇՆԵՐԻ
ԿԻՐԱՌՈՒՄԸ ԱՐՏԱՔԻՆ ՄԻՋԱՎԱՅՐԻ ԱՂՏՈՏՎԱԾՈՒԹՅԱՆ
ԻՆԴԻԿԱՑԻԱՅԻ ՀԱՍԱՐ

Ամփոփում

Ներկայացվել են *Rosaceae Juss.* և *Vitaceae Juss.* ընտանիքների որոշ տեսակների և սորտերի արական գամետոֆիտի մորֆոմետրիկ չափանիշների հետազոտության տվյալները: Բացահայտվել են նրա գենոտիպային առանձնահատկությունները: Միկրոգամետոֆիտի լավագույն չափանիշներով բնութագրվող գենոտիպերը (դեղձենի, սալորենի, խաղողի Մեղրաբույր և Ներկառատ սորտերը) կարող են հետաքրքրություն ներկայացնել կենսաինդիկացիայի առումով: Ուսումնասիրվող հատկանիշներով էական տարբերություններ ստուգիչ և փորձնական տարբերակներում չեն գրանցվել:

S. G. YERVANDYAN, A. A. NEBISH, R. M. ARUTYUNYAN

ANALYSIS MICROGAMETOPHYTE VARIABILITY OF PLANTS
IN TECHNOGEN LOADING CONDITIONS

Summary

The morphometric parameters of male gametophyte of some species and sorts of *Rosaceae Juss.* and *Vitaceae Juss.* families are investigated. The obtained results indicate that the registered variations are caused by specificity of a genotype. The taxons with the best parameters of pollen (peach, plum, vine sorts Meghrabuyr and Nerkarat) are of interest for bioindicational researches. Differences of pollen quality in control and experiment are not registered.