

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ  
Центральный ботанический сад  
Научно-практический центр по биоресурсам  
Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича  
Институт леса



## **Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов**

Материалы III Международной конференции,  
посвященной 110-летию со дня рождения академика Н.В. Смольского  
(7–9 октября 2015 г., Минск, Беларусь)

**В двух частях  
Часть 1**

**Секция 1. Ресурсы и биоразнообразие растительного мира:  
современное состояние, воспроизводство, охрана  
и устойчивое использование**

**Секция 2. Современные направления изучения  
ботанических коллекций для сохранения  
и рационального использования  
биоразнообразия растительного мира**

Минск  
«Конфидо»  
2015

УДК 502.174:574.1(082)  
ББК 20.18я43  
П78

**Редакционная коллегия:**

*д.б.н., чл.-кор. НАН Беларуси В.В. Титок (ответственный редактор),*  
*д.б.н. Е.И. Анисимова,*  
*к.б.н. Б.Ю. Аношенко,*  
*к.б.н. Д.Б. Беломесецева,*  
*к.б.н. П.Н. Белый,*  
*д.б.н. Е.И. Бычкова,*  
*к.б.н. Т.В. Волкова,*  
*к.б.н. Л.В. Гончарова,*  
*д.б.н. С.А. Дмитриева,*  
*к.б.н. Е.Я. Куликова,*  
*к.б.н. А.В. Пугачевский,*  
*д.б.н., чл.-кор. НАН Беларуси В.П. Семенченко,*  
*к.б.н. В.А. Цинкевич*

Материалы печатаются в авторской редакции.  
Иллюстрации предоставлены авторами публикаций.

П78 **Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов:** материалы III Международной научно-практической конференции, посвященной 110-летию со дня рождения академика Н.В. Смольского. (7–9 октября 2015, Минск, Беларусь). В 2 ч. Ч. 1 / Нац. акад. наук Беларуси [и др.]; редкол.: В.В. Титок [и др.]. – Минск: Конфидо, 2015. – 514 с.

ISBN 978-985-6777-74-8.

В сборнике представлены материалы III Международной научно-практической конференции «Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов», посвященной 110-летию со дня рождения академика Н.В. Смольского. Часть 1: секция 1 «Ресурсы и биоразнообразие растительного мира: современное состояние, воспроизводство, охрана и устойчивое использование» и секция 2 «Современные направления изучения ботанических коллекций для сохранения и рационального использования биоразнообразия растительного мира».

**УДК 502.174:574.1(082)**  
**ББК 20.18я43**

**ISBN 978-985-6777-74-8**

© ГНУ «Центральный ботанический сад  
Национальной академии наук Беларуси», 2015  
© Оформление. ЗАО «Конфидо», 2015

## Использование цитогенетических показателей *Allium cepa* для оценки экологического состояния территории Полесского государственного радиационно-экологического заповедника

Исаченко Е.В., Лозинская О.В.

Международный государственный экологический университет имени А.Д.Сахарова, Минск, Беларусь, [isachenko-lena@mail.ru](mailto:isachenko-lena@mail.ru)

**Резюме.** Использование метода *Allium*-тест позволило провести оценку экологического состояния территории Полесского государственного радиационно-экологического заповедника. Показано, что загрязненность тестируемых почв тяжелыми металлами влияет на такие цитогенетические показатели, как митотический индекс корневой меристемы *Allium cepa*, а также на нарушения митотического деления. Для расчета частоты хромосомных aberrаций применяли метод ана-телофазного анализа.

**Summary.** Isachenko E.V., Lozinskaya O.V. Using cytogenetic indicators of *Allium cepa* to assess the ecological state of the Polesye State Radiation Ecological Reserve Using the *Allium* test method allowed to assess the ecological state of the Polesye State Radiation Ecological Reserve. It was shown that soil with heavy metals affects the cytogenetic indicators such as the mitotic index of root meristem of *Allium cepa*, as well as violations of mitotic division. To calculate the frequency of chromosome aberrations of ana-telophase method was used.

Окружающая среда подвержена комбинированному техногенному загрязнению. Увеличение количества выбросов опасных химических веществ в окружающую среду повлияло на баланс природных экосистем. Также огромный вред наносят радионуклиды, оставшиеся на территориях после экологических катастроф. Разнообразные соединения естественного и антропогенного происхождения, накапливаясь в почве, обуславливают ее загрязненность и токсичность и способны привести к повреждению морфологических, физиологических, биохимических характеристик организма, в том числе и цитогенетических [1].

Полесский государственный радиационно-экологический заповедник (ПГРЭЗ) расположен на территории Беларуси, которая больше всего подверглась радиации после аварии на Чернобыльской атомной электростанции. В настоящее время на исследуемой территории отсутствует любой вид антропогенной деятельности. Ввиду повышенного радиационного фона, население данной территории было отселено. На данный момент почвы ПГРЭЗ по-прежнему загрязнены цезием-137, стронцием-90, изотопами плутония, америцием-241.

Загрязнение почвы различными неорганическими соединениями не всегда сопровождается повышенным риском для биологических объектов. Если потенциально вредный элемент входит в состав биологически неактивного соединения, то риск его воздействия минимален. В то же время даже в небольших концентрациях биологически подвижные (доступные) соединения могут представлять большую угрозу для существования объекта.

Дисбаланс солей металлов в почвах оказывает повреждающее действие на клеточные структуры организмов, в частности на деление клеток. Индуцированные в растениях хромосомные аномалии включают в себя изменения в структуре хромосом: фрагментации, инверсии, дефекты веретена деления и др. Воздействие солей металлов ведет к изменению клеточной активности, хромосомным aberrациям и снижению митотического индекса (МИ) [2]. Тесты на клеточном и генетическом уровнях позволяют оценить чувствительность организмов и опасность данного воздействия на самых ранних этапах.

С целью выявления хромосомных нарушений, вызываемых воздействием элементного состава водных вытяжек почв и хроническим влиянием повышенного радиационного фона, была применена растительная тест-система (*Allium*-test). Данный тест позволяет оценить мутагенный, митомодифицирующий и генотоксический эффект почв. В качестве предмета исследования использовали лук *Allium cepa*. Корешки лука проращивали на почвах, собранных на территории ПГРЭЗ.

Для исследования была отобрана почва в таких населенных пунктах зоны отчуждения, как: д. Дроньки (пробы № 1–9), д. Масаны (№ 10–12), станция дезактивации (№ 14–16).

Для определения микроэлементного состава почв использовали рентгенофлуоресцентный анализатор СЕР-01. Также проводили оценку влияния элементного состава почвенных вытяжек на величину МИ, для расчета частоты хромосомных аберраций применяли метод ана-телофазного анализа, позволяющий выявить определенные типы хромосомных аберраций [3, 4].

Корешки лука проращивали в исследуемых вытяжках при комнатной температуре, фиксировали уксусным алкоголем на холоде. Мацерацию проводили 10%-ным раствором соляной кислоты. Для окраски корни помещали в ацетокармин, окрашивание проводили с кипячением на водяной бане в течение 10 мин; затем готовили давленные препараты, определяли митотическую активность, проводили анализ хромосомных аберраций [5].

В результате проведенных измерений с помощью рентгенофлуоресцентного анализа был определен элементный состав изучаемых образцов. Для анализа отобрали семь достоверно определяющихся элементов: медь, марганец, железо, кадмий, свинец, цинк, никель. В ходе исследования выявлен дисбаланс таких химических элементов, как железо, кадмий и цинк, никель, что негативно сказалось на цитогенетических показателях. Несмотря на то, что ПДК не всегда превышает норму, практически все исследуемые точки испытывают нехватку или избыток микроэлементов.

Оценку загрязненности почв тестируемых пунктов тяжелыми металлами выполняли с помощью митотической активности. По результатам тестирования, элементный состав почвенных вытяжек индуцировал различные хромосомные нарушения, а также значительные изменения показателя митогенности относительно контроля. МИ характеризует пролиферативную активность клеток корневой меристемы, которая, в свою очередь, может подавляться или стимулироваться за счет компонентов, находящихся в почвенных вытяжках. Важным является наличие непосредственного контакта клеток корня с почвенными экстрактами.

Отмечено, что показатель митотической активности варьируется в зависимости от общего содержания микроэлементов. Это подтверждает значимость суммы соотношения концентраций элементного состава. На рис. 1 представлены результаты анализа цитотоксичности вытяжек исследуемых почв ПГРЭС.

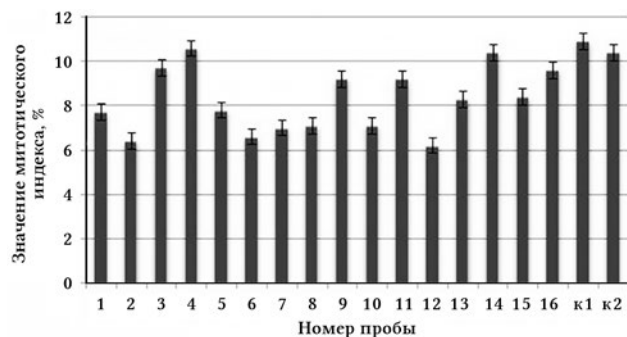


Рис. 1. Значения МИ в клетках корневой меристемы лука *Allium cepa*, проращиваемого на вытяжках из почв ПГРЭС

Полученные значения МИ носят неравномерный характер в сравнении с контролем. Только в точках № 4 и 14 значения митотической активности приближаются к K1 и K2 ( $p > 0,05$ ). Наименьшая митотическая активность наблюдается в точках № 2, 6 и 12 относительно обоих контролей ( $p < 0,001$ ). Снижение митотической активности может быть вызвано репаративными процессами в клеточном цикле и его остановкой в контрольной точке, связанными с микроэлементным дисбалансом. По данным Гариповой (2009), именно сочетанное действие микроэлементов, даже в минимальных количествах, способно ингибировать митотическое деление. Это связано с неблагоприятным соотношением, например таких элементов, как Cu/Ni, и накоплением Zn в исследуемых почвах.

Цитотоксичность проб воды оценивали по частоте aberrantных клеток на различных стадиях митоза в корневой меристеме *Allium cepa*. Полученные данные по исследуемым территориям приведены на рис. 2. В ходе эксперимента выявлены различные аберрации.

В результате исследования клеток апикальной меристемы *Allium cepa*, проросших на вытяжках из почв ПГРЭЗ, были зафиксированы также все виды хромосомных aberrаций. Опережение хромосом – наиболее часто встречаемая хромосомная aberrация во всех исследуемых точках. Максимальное количество и разнообразие хромосомных aberrаций установлено в пробе № 13 (Дроньки 9). В данной точке выявлены: опережение (33 %), отставание (14 %), мосты (19 %), микроядра (25 %), фрагмент (5 %) и свободные хромосомы (5 %). В точке № 11 (Дроньки 7) выявлены: опережение (66 %) и отставание хромосом (7 %), мосты (7 %), фрагмент (7 %) и ядерные протрузии (5 %). В почве Дроньки 7 присутствует дисбаланс по таким элементам, как Cu, Fe, Zn – ниже нормы, а Cd превышает допустимую концентрацию. Медь входит в состав медьсодержащих белков и ферментов, которые участвуют в окислительных реакциях, азотном обмене, дыхательной цепи, а также медь повышает устойчивость к неблагоприятным факторам среды. Недостаточное содержание железа, цинка и повышенная концентрация кадмия приводят к задержке формирования и роста корней.

На рис. 3а–3д представлены примеры aberrаций, наблюдаемых в клетках *Allium cepa*.

По данным рентгенофлуоресцентного анализа в исследуемых почвах изучали содержание микроэлементов: меди, марганца,

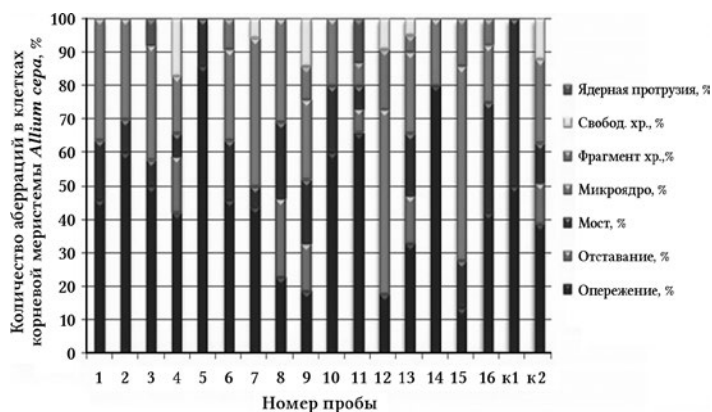


Рис. 2. Количество aberrаций разного типа в клетках корневой меристемы *Allium cepa*, проросших на вытяжках из почв ПГРЭЗ

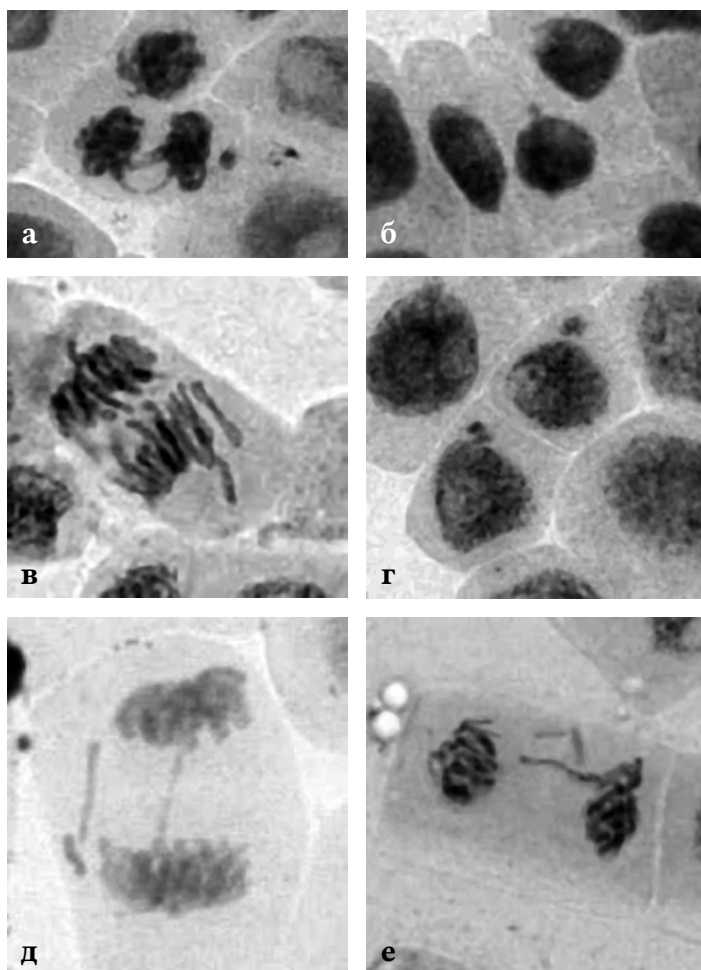


Рис. 3. Aberrации, наблюдаемые в ПГРЭЗ: а – двунилевой мост; б – ядерная протрузия; в – опережение и свободные хромосомы; г – микроядра; д – мост и свободные хромосомы; е – отставание и свободные хромосомы (краситель кармин, x400)

железа, кадмия, свинца, цинка. В ходе исследования отмечено, что изучаемая экосистема обладает разным уровнем дисбаланса как макро-, так и микроэлементов. На основании цитологических и цитогенетических показателей оценивали загрязненность почв тестируемых пунктов тяжелыми металлами. На исследуемой почве максимальный показатель митотической активности составил 10,6 % для точки № 4 – это значение, максимально приближенное к контрольным К1 (10,9 %) и К2 (10,4 %). Минимальное значение выявлено в точке № 12 (6,2 %). В препаратах апикальной корневой меристемы проросших семян *Allium cepa* на почвенных вытяжках опережение – наиболее часто встречаемая хромосомная аберрация во всех исследуемых точках.

По результатам цитогенетического анализа сделан вывод, что *Allium cepa* чувствителен к нарушению элементного гомеостаза исследуемых почв. Реакция *Allium cepa* на содержание тяжелых металлов в почвах и их синергического эффекта проявилась в ингибировании митотической активности клеток апикальной меристемы.

В результате исследования отмечено увеличение числа и разнообразия хромосомных аномалий в клетках апикальной меристемы лука (*Allium cepa*), связанное с наличием элементного дисбаланса, а также с хронически повышенным радиационным фоном исследуемой территории относительно контроля.

#### Список литературы

1. Калаев, В.Н. Цитогенетический мониторинг: методы оценки окружающей среды и состояния генетического аппарата организма: учеб. пособие / В.Н. Калаев, С.С. Карпова. – Воронеж: Воронежский гос. ун-т, 2003. – 80 с.
2. Heck, J.D., Biol. Trace Element. Res, Heck J.D., Costa M. – 1982. – Vol. 4, No 3. – P. 319–330.
3. Rank, J. The method of *Allium* anaphase-telophase chromosome aberration assay / J. Rank // *Ecologija* (Vilnius). – 2003. – Vol. 1. – P. 38–42.
4. White, P.A Mutagens in contaminated soil: a review / P.A. White, L.D. Claxton // *Mutat Res.*– 2004. – No 567 (2–3). – P. 227–345.
5. Паушева, З.П. Практикум по цитологии растений / З.П. Паушева. – М.: Колос, 1988. – 120 с.