

УДК 581.4 : 504.05 (477.6)

© Л. М. Осипова, А. Н. Рабокоть
**ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОПЫТНЫХ И КОНТРОЛЬНЫХ
РАСТЕНИЙ *PINUS SYLVESTRIS* L. И *PINUS PALLASIANA* D. DON
В ТЕХНОГЕННЫХ УСЛОВИЯХ Г. ДОНЕЦКА**

Донецкий национальный университет; 83050, г. Донецк, ул. Щорса, 46
e-mail: nastya-rabokon@rambler.ru

Осипова Л. М., Рабокоть А. Н. Цитоморфологические особенности опытных и контрольных растений *Pinus sylvestris* L. и *Pinus pallasiana* D. Don в техногенных условиях г. Донецка. – Получены экспериментальные данные в результате изучения биологических особенностей видов *P. sylvestris* и *P. pallasiana* в техногенных условиях. Исследования растений проводились на морфологическом и цитологическом уровнях. Анализ полученных экспериментальных данных показал, что *P. pallasiana* обладает меньшей чувствительностью к загрязнению воздуха, чем *P. sylvestris*. Результаты исследований позволяют рекомендовать сосну обыкновенную в качестве биоиндикатора окружающей среды.

Ключевые слова: митоз, митотический индекс, семенное размножение, всхожесть, энергия прорастания, прирост побега, биоиндикатор.

Введение

Решение экологических проблем в регионах с высоким промышленным потенциалом стало неотложной задачей общегосударственной и межгосударственной значимости. Концентрация производства в индустриальных центрах неизбежно приводит к росту урбанистических тенденций и ухудшению качества окружающей человека среды. Загрязнение атмосферного воздуха здесь отрицательно влияет на флору, фауну, почвенные комплексы и здоровье населения [3].

Значение древесных насаждений в крупных индустриальных центрах неизмеримо возрастает, возникает настоятельная необходимость создания эффективно действующей системы городских культур дендроценозов и санитарнозащитных насаждений.

В Донбассе, расположенном на юго-востоке Украины, сложилась специфическая техногенная среда с постоянным увеличением антропогенных нагрузок на природные экосистемы. Это создает напряженный экологический баланс и дискомфортность среды обитания на прилегающих к источникам загрязнения территориях, приводит к снижению стабильности и эффективности защитно-декоративных насаждений [6].

Роль древесных насаждений в городах велика – это поглощение из воздуха избытка диоксида углерода, выделение кислорода, выделение листьями и цветами деревьев фитонцидов.

Неспособность растений к активным оперативным перемещениям в пространстве делает их очень удобными объектами для картирования загрязненных территорий на основе оценок изменения у них отдельных биоиндикационных показателей или в целом жизненного состояния. Наиболее удобными биоиндикаторами атмосферного загрязнения среды являются именно хвойные деревья, т. к. они отличаются высокой чувствительностью к повышенным концентрациям токсических веществ в окружающей среде, а также возможностью проведения исследований в течении всего года [7].

Повреждающие эффекты воздействия поллютантов доступны для визуального учета. В степной зоне Украины, где подавляющее число видов древесных растений – интродуценты, для биоиндикации пригодны те виды, которые не только отличаются хорошей чувствительностью на действие поллютантов, но и имеют широкое распространение. Данному критерию отвечают сосна крымская (*Pinus pallasiana* D. Don) и сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.) [8], активно используемые во второй половине XX века в лесоразведении, мелиорации и озеленении индустриальных городов степной зоны. Сосна является не только хорошим биоиндикатором окружающей среды, но и имеет важное значение в зелёном строительстве отдельных регионов благодаря высокой декоративности и

долговечности, а также высоким санитарно-оздоровительным качествам и благотворному эмоциональному влиянию на человека [2].

В связи с этим цель нашей работы – анализ цитоморфологических особенностей растений сосны крымской (*P. pallasiana*) и сосны обыкновенной (*P. sylvestris*) в техногенных условиях г. Донецка.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования стали деревья сосны крымской возрастом 8-10 лет, произрастающие вблизи проезжей части в Ворошиловском районе г. Донецка (опыт) и на территории дендрария Донецкого ботанического сада НАН Украины (контроль). Основные исследования проводили в октябре – ноябре 2010 г.

Морфологические исследования сосны обыкновенной проводились согласно методике «Определения состояния окружающей среды по комплексу признаков хвойных» [4]. Ветви сосны срезались на высоте 2-х метров с определенной части кроны, примыкающей к зонам загрязненным воздухом. В ходе исследований измеряли длину хвои на побеге прошлого года. Повторность 10-кратная, так как биометрические признаки довольно изменчивы. Вычисляли вес 1000 шт. абсолютно сухих хвоинок сосны. Для этого отсчитывали 2 раза по 500 шт. хвоинок, они высушивались в термостате и взвешивались. Также вычисляли количество хвоинок на 10 см бокового побега. Для этого брали 10 см побега прошлого года и подсчитывали число хвоинок. Измеряли длину прироста каждого года, начиная от последнего, двигаясь по междоузлиям от года к году. Продолжительность жизни хвои контрольных и опытных растений устанавливали визуально.

Возможность семенного размножения зависит от качества продуцируемых семян, которое оценивали при помощи единых методик, принятых в системе семенного контроля и сформулированных в ряде ГОСТов.

Вес 1000 шт. семян вычисляли пропорционально их общему числу. Для этого производили отсчет и взвешивание двух проб по 100 семян в каждой и умножали суммы массы на 5.

Процент всхожести устанавливали отношением проросших семян к общему их количеству, взятому для проращивания. Энергия прорастания – дружность прорастания семян за определенный срок, установленный для каждой культуры.

Для анализа на всхожесть брали 3-4 пробы чистых семян по 25-50 с последующим пересчетом. Каждую пробу закладывали в чашку Петри. По результатам проращивания устанавливали средний арифметический процент энергии прорастания и всхожести семян [1].

Для изучения опытных и контрольных растений на цитологическом уровне использовали модифицированную методику приготовления давленных препаратов из кончиков корешков проростков и из меристемы молодых чешуй [5].

Семена проращивали в термостате при 25-26°C. Затем кончики корешков фиксировали в уксусно-спиртовой смеси (1 : 3) в течении суток и хранили до окрашивания в 70°C спирте. Материал окрашивали реактивом Шиффа по Фельгину.

Из фиксатора корешки или молодые чешуи помещали на 5 минут в 1н раствор HCl, затем для гидролиза переносили на 30 минут в 50% раствор соляной кислоты. Время гидролиза должно быть предельно точным. Далее материал помещался в реактив Шиффа на 50-60 минут до окрашивания в малиновый цвет. После окрашивания корешки или чешуи отмывали в проточной воде. Из них готовились давленные препараты.

На препаратах под микроскопом изучали процесс митоза. Определение митотического индекса проводится следующим образом: подсчитывается количество делящихся клеток и общее количество клеток в поле зрения (повторность десятикратная) – отношение делящихся клеток к их общему количеству умноженное на 1000⁰/₁₀₀ и будет митотическим индексом. Определение относительной продолжительности каждой фазы митоза

определяется в процентах как соотношение клеток, находящихся на определённом этапе деления, к количеству всех делящихся клеток.

Вся математическая обработка данных проводилась с помощью программного обеспечения MS Excel 2007.

Результаты и обсуждение

Исследование морфометрических параметров.

Были изучены длина хвои, количество хвоинок на 10 см побега, вес сухой 1000 хвоинок, а также продолжительность жизни хвои. Данные приведены в табл. 1 и 2.

Таблица 1

Морфометрические особенности хвои контрольных и опытных растений *P. sylvestris*

№ п/п	Варианты опыта	Длина хвои, см		Количество хвои на 10 см побега		Вес сухой хвои (1000 шт.), г	
		M±m	t	M±m	t	M±m	t
1	Контроль	64,33±1,78	-	46,50±0,83	-	16,40±0,5	-
2	Опыт	51,60±1,17	5,98	53,60±1,71	3,74	21,27±0,4	7,61

Таблица 2

Морфометрические особенности хвои контрольных и опытных растений *P. pallasiana*

№ п/п	Варианты опыта	Длина хвои, см		Количество хвои на 10 см побега		Вес сухой хвои, г (1000 шт.)	
		M±m	t	M±m	t	M±m	t
1	Контроль	138,33±1,03	-	77,67±1,51	-	43,72±0,70	-
2	Опыт	129,87±1,19	5,39	82,13±1,27	1,15	54,31±0,90	9,29

Как видно из табл. 1, длина хвои контрольных растений *P. sylvestris* достоверно превышает длину опытных, что составляет соответственно 64,33±1,78 см и 51,60±1,17 см. Количество хвоинок на 10 см побега у опытных растений (46,50±0,83) достоверно меньше, чем у контрольных (53,60±1,71).

Анализ экспериментальных данных морфометрических особенностей хвои *P. pallasiana* показывает незначительное уменьшение длины хвои опытных растений (контроль: 138,33±1,03 см; опыт: 129,87±1,19 см) и незначительное увеличение количества хвоинок на 10 см побега (контроль: 77,67±1,51; опыт: 82,13±1,27). Разница данных опыта и контроля не достоверна.

По литературным данным [3], при неблагоприятных условиях отмечается увеличение веса хвои и количества ее на побеге (в результате ухудшения роста побега в загрязненной зоне пучки хвоинок более сближены и на 10 см побега их больше, чем в чистой зоне), т. е. это может быть результатом адаптации к неблагоприятным условиям обитания. Результаты наших исследований согласуются с данными выводами.

Интересной особенностью полученных результатов является значительное увеличение веса сухой абсолютно сухой хвои у опытных растений и *P. sylvestris*, и *P. pallasiana* сравнительно контроля. Разница является достоверной.

Что касается продолжительности жизни хвои, то у контрольных растений она составляет два года, а у опытных – всего один год. Это свидетельствует о том, что среда, в которой произрастают опытные деревья, сильно загрязнена. Однако следует отметить и то, что продолжительность жизни хвои контрольных растений составляет всего 2 года, хотя в относительно чистой среде произрастания хвоя у сосны живёт до четырёх лет. Данный факт свидетельствует о фоновом загрязнении среды обитания контрольных растений.

Исследование динамики роста побегов сосны.

В задачу наших исследований входило изучение интенсивности роста боковых побегов опытных и контрольных растений сосны обыкновенной и сосны крымской за период с 2006 г. по 2010 г. включительно. Результаты исследований приведены в табл. 3 и 4, а также на рис. 1 и 2.

Таблица 3

Прирост побега опытных и контрольных растений *P. sylvestris*

№	Варианты опыта	2010 г.		2009 г.		2008 г.		2007 г.		2006 г.	
		X±m	t	X±m	t	X±m	t	X±m	t	X±m	t
1	Контроль	41,9± 0,29	-	47,4± 0,25	-	20,9± 1,5	-	22,9± 1,5	-	18,1± 1,9	-
2	Опыт	15,2± 1,6	8,39	30,6± 0,96	3,62	44,8± 0,65	9,5	50,4± 11,45	8,41	63,0± 1,19	15,6

Таблица 4

Прирост побега опытных и контрольных растений *P. pallasiana*

№	Варианты опыта	2010 г.		2009 г.		2008 г.		2007 г.		2006 г.	
		X±m	t	X±m	t	X±m	t	X±m	t	X±m	t
1	Контроль	44,8± 1,6	-	37,6± 1,76	-	20,0± 1,5	-	19,0± 1,78	-	16,4± 1,82	-
2	Опыт	32,0± 0,82	2,56	31,8± 1,0	0,59	33,73± 1,80	4,1	29,87± 1,80	4,56	33,07± 3,53	7,02

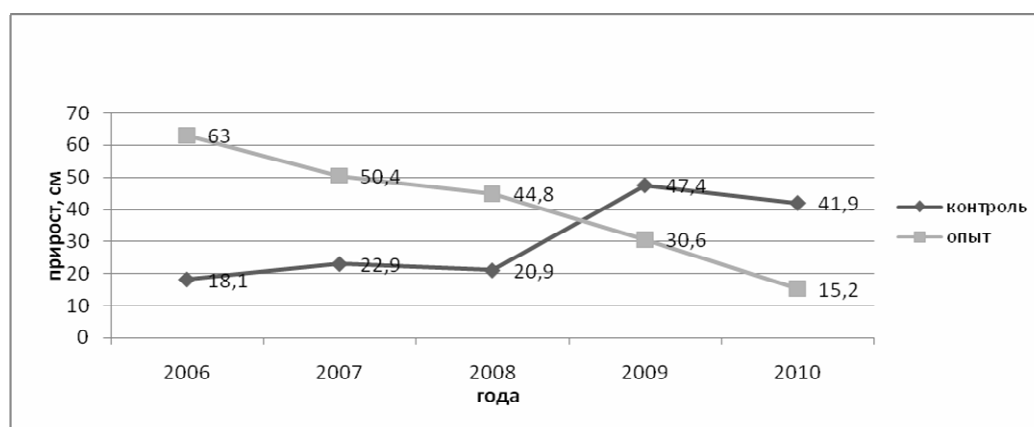


Рис. 1. Прирост побега опытных и контрольных растений *P. sylvestris*.

Сравнительный анализ параметров, характеризующих прирост *P. sylvestris* и *P. pallasiana*, показал, что опытные растения данного вида сосны начиная с 2006 г. существенно уменьшают величину прироста вплоть до 2010 г. Что касается контрольных растений, то начиная с 2006 г. прирост начинает значительно увеличиваться. С 2007 г. по 2008 г. заметных изменений величины данного показателя не обнаружено, т.е. остаётся на уровне 2007 г. Начиная с 2008 г. прирост контрольных растений резко возрастает и приблизительно на таком же уровне остаётся и до 2010 г.

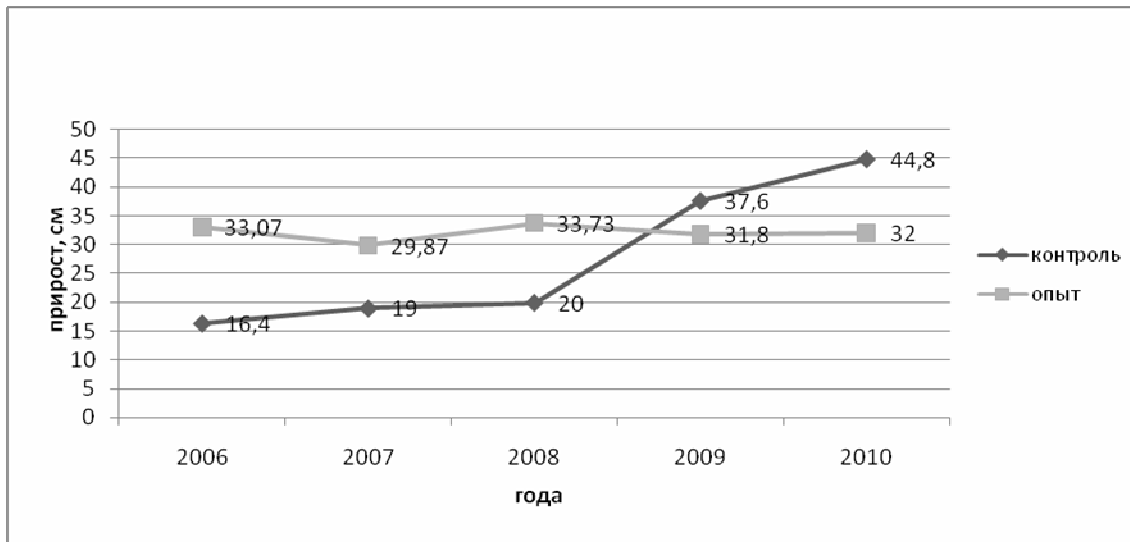


Рис. 2. Прирост побега опытных и контрольных растений *P. pallasiana*.

Результаты анализа прироста контрольных и опытных растений сосны крымской позволили установить, что у опытных растений с 2006 г. по 2007 г. величина данного показателя незначительно уменьшается. Затем возрастает до уровня 2006 г. и приблизительно на таком же уровне остается до 2010 г., т. е. резких изменений в величине данного показателя не обнаружено. У контрольных растений величина этого показателя с 2006 г. по 2008 г. остаётся приблизительно на одном и том же уровне, с 2008 г. по 2009 г. резко возрастает и небольшой подъём величины показателя наблюдается до 2010 г.

Характерной особенностью опытных и контрольных растений данных видов сосны является то, что абсолютная величина прироста опытных растений с 2006 г. по 2008 г. значительно выше контроля, а начиная с 2008 г. у обоих видов сосны контрольные растения по величине данного параметра значительно превышают опытные.

Анализ экспериментальных данных позволил установить, что опытные растения сосны крымской по величине изучаемого параметра более стабильны, а у сосны обыкновенной величина прироста с 2008 г. по 2010 г. резко падает.

Определение параметров массы, всхожести и энергии прорастания семян.

Для более полной характеристики исследуемых растений нами были определены такие параметры, как масса 1000 семян, всхожесть и энергия прорастания. Результаты приведены в табл. 5 и 6.

Таблица 5

Параметры массы, всхожести и энергии прорастания семян опытных и контрольных растений *P. sylvestris*

№ п/п	Вариант опыта	Масса 1000 семян, г	Всхожесть, %		Энергия прорастания, %	
			X±m	t	X±m	t
1	Опыт	9,07	90±1,78	1,4	60±1,85	0,6
2	Контроль	10,00	90±1,74	-	60±2,10	-

Таблица 6

Параметры массы, всхожести и энергии прорастания семян опытных и контрольных растений *P. pallasiana*

№ п/п	Вариант опыта	Масса 1000 семян, г	Всхожесть, %		Энергия прорастания, %	
			X±m	t	X±m	t
1	Опыт	22,53	80±2,10	1,6	60±2,40	1,2
2	Контроль	25,37	80±1,56	-	60±0,99	-

Масса семян, всхожесть и энергия прорастания у опытных растений и сосны обыкновенной, и сосны крымской совпадают с величиной данных параметров контрольных растений. Однако стоит отметить, что масса семян у *P. pallasiana* превышает данный параметр у *P. sylvestris*, а всхожесть и энергия прорастания семян, наоборот, выше у растений вида *P. sylvestris*.

Изучение на цитологическом уровне.

Для более глубоко анализа адаптивных особенностей опытных растений сосны в задачу наших исследований входило изучение данного процесса на цитологическом уровне.

Нами были определены митотический индекс и продолжительность каждой фазы митоза опытных растений относительно контрольных (табл. 7).

Таблица 7

Митотический индекс и продолжительность фаз митоза у *P. sylvestris*

№ п/п	Варианты опыта	Продолжительность фаз митоза, ‰ (X+m)				Митотический индекс, ‰	
		профаза	метафаза	анафаза	телофаза	X±m	t
1	Опыт	66,39±2,10	7,6±0,91	2,94±0,41	7,2±0,32	336,8±3,20	5,3
2	Контроль	85,71±3,60	7,4±0,29	3,84±0,21	7,6±1,90	406,2±2,69	-

Таблица 8

Митотический индекс и продолжительность фаз митоза у *P. pallasiana*

№ п/п	Варианты опыта	Продолжительность фаз митоза, ‰ (X+m)				Митотический индекс, ‰	
		профаза	метафаза	анафаза	телофаза	X±m	t
1	Опыт	83,36±1,56	6,06±0,78	3,03±0,25	6,06±0,78	298,3±1,85	2,25
2	Контроль	86,88±2,51	5,6±1,10	5,6±0,59	9,36±1,02	349,8±1,45	-

Анализ полученных экспериментальных данных показал у растений недостоверное уменьшение митотического индекса у опытных растений сосны крымской (298,3±1,85‰) по сравнению с контрольными (349,8±1,45‰). Изучение продолжительности фаз митоза позволило установить, что наиболее продолжительной у опытных и контрольных растений была профаза (соответственно 83,36 и 86,88‰), а наиболее короткой – анафаза (соответственно 3,03 и 5,6‰).

Анализ аналогичных параметров у опытных и контрольных растений сосны обыкновенной показал достоверное уменьшение митотического индекса у опытных растений (336,8±3,2‰) относительно контроля (406,2±2,69‰). Относительная продолжительность фаз митоза у опытных и контрольных растений данного вида согласуется с литературными данными (наиболее продолжительной является профаза (66,39±2,1; 85,71±3,6‰), короткой – анафаза (7,20±0,32; 7,60±1,9‰) [5].

Сравнительное изучение величин митотического индекса и интенсивностью роста побегов опытных и контрольных растений позволил установить корреляционную связь между данными параметрами. С увеличением скорости роста побегов увеличивается значение митотического индекса.

Выводы

1. Анализ морфометрических особенностей хвои у опытных и контрольных растений *P. sylvestris* позволил установить достоверное уменьшение длины хвои, а также увеличение количества и веса сухой хвои у опытных растений. У опытных растений *P. pallasiana* достоверно увеличивается вес сухой хвои.

2. Цитологический анализ показал уменьшение величины митотического индекса у опытных растений сосны обыкновенной относительно контрольных растений. Величина данного параметра у опытных растений сосны крымской остается на уровне контроля.

3. Цитоморфологический анализ опытных и контрольных растений сосны показал, что деревья *P. pallasiana* обладают малой чувствительностью к действию аэрополлютантов, и их нельзя использовать в качестве биоиндикатора. Однако данный вид может быть использован в озеленении городов.

4. Сосна обыкновенная (*P. sylvestris*) отличается более повышенной чувствительностью к загрязнению воздуха, что дает возможность рекомендовать её в качестве объективного биоиндикатора окружающей среды.

Список литературы

1. Зорина М. С. Определение семенной продуктивности и качества семян интродуцентов / М. С. Зорина, С. П. Кабанов // Бот. журн. – 1985. – № 1. – С. 75-85.
2. Коршиков И. И. Адаптация растений к условиям техногенно загрязненной среды / И. И. Коршиков. – К.: Наук. думка, 1996. – 359 с.
3. Коршиков И. И.. Взаимодействие растений с техногенно загрязненной средой / И. И. Коршиков, В. С. Котов, И. П. Михеенко. – К.: Наук. думка, 1995. – 427 с.
4. Осипова Л. М. Сборник лабораторных работ по экологии и охране окружающей среды / Л. М. Осипова. – Донецк: ДонНУ, 2000. – 49 с.
5. Паушева З. П. Практикум по цитологии растений / З. П. Паушева. – М.: Агропромиздат, 1988. – 226 с.
6. Поляков А. К. Хвойные на юго-востоке Украины / А. К. Поляков, Е. П. Сусллова. – Донецк: Альфа, 2009. – 356 с.
7. Правдин Л. Ф. Сосна обыкновенная / Л. Ф. Правдин. – М.: Наука, 1964. – 242 с.
8. Шостаковский С. А. Систематика высших растений / С. А. Шостаковский. – М.: Высш. шк., 1971. – 351 с.

Осипова Л. М., Рабок А. М. Цитоморфологічні особливості дослідних і контрольних рослин видів *Pinus sylvestris* L. та *Pinus pallasiana* D. Дон в техногенних умовах м. Донецька. – Отримані експериментальні дані в результаті вивчення біологічних особливостей видів *P. sylvestris* і *P. pallasiana* в техногенних умовах. Дослідження рослин проводилися на морфологічному і цитологічному рівнях. Аналіз отриманих експериментальних даних показав, що *P. pallasiana* має меншу чутливість до забруднення повітря, ніж *P. sylvestris*. Результати досліджень дозволяють рекомендувати сосну звичайну як біоіндикатор довкілля.

Ключові слова: мітоз, мітотичний індекс, насінне розмноження, схожість, енергія проростання, приріст пагону, біоіндикатор.

Osipova L. M., Rabokon A. M. Cytomorphological features of *Pinus sylvestris* L. and *Pinus pallasiana* D. Don experimental and check plants in technogenic conditions of Donetsk. – Obtained experimental data as a result of studying biological characteristics of *P. sylvestris* and *P. pallasiana* species in the terms of technogenic conditions. Plant researches were held both at morphological and cytologic levels. The analysis of received experimental data has shown the fact that *P. pallasiana* is much less sensitive to air pollution, than *P. sylvestris* is. Research results permit to recommend *P. sylvestris* as an environment bioindicator.

Key words: mitosis, mitotic index, seed reproduction, energy of germination, a gain of runaway, the bioindicator.