

УДК 582.55 : 581.4

*A. M. НУРУШЕВА\*, Н. Ж. КАДЫРОВА\*\*, Н. А. ХАЙЛЕНКО\*\*\*, Б. М. СУЛТАНОВА\**

## **ИССЛЕДОВАНИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО ПОКРОВА БЫВШЕГО СЕМИПАЛАТИНСКОГО ИСПЫТАТЕЛЬНОГО ПОЛИГОНА: I – ПРОЦЕСС ФОРМИРОВАНИЯ ПЫЛЬЦЕВЫХ ЗЕРЕН У *FESTUCA VALESIACA GAUDIN***

(\*ДГП «Институт ботаники и фитоинтродукции растений» РГП «ЦБИ» МОН РК,

\*\*ДГП «Институт радиационной безопасности и экологии» РГП НЯЦ РК,

\*\*\*ДГП «Институт биологии и биотехнологии растений» РГП «НЦБ РК» КН МОН РК)

Приведены данные по изучению формирования пыльцевых зерен у типчака – овсяницы валлийской (*Festuca valesiaca Gaudin*). Установлено, что на процессы формирования пыльцевых зерен оказывает влияние радиация, а также отсутствие воды в период формирования мужского гаметофита.

Процесс индуцированного, в данном случае радиационного мутагенеза, является очень сложным и тесно связанным, прежде всего, с клеточным метаболизмом. Степень поражения радиацией генетического аппарата основывается на трех взаимосвязанных процессах: а) физических особенностях разных видов ионизирующих излучений, дающих разную микрогометрию энергии в клетке и в первую очередь разную линейную потерю энергии; б) условиях в момент и после облучения; в) эволюционных, видовых и индивидуальных различий в системе естественной защиты (Дубинин, 1976).

Важны также и системы репарации в клетках, как соматических, так и в половых, которые у высших растений начинают работать сразу же, как только клетки вида попадают под излучение, т.е. с одной стороны, воздействие ионизирующего излучения на хромосомный и клеточный аппараты клетки, а с другой стороны, мощные системы репарации.

К сожалению, по Семипалатинскому полигону практически нет публикаций по цитогенетическим исследованиям, посвященным изучению воздействия хронического ионизирующего излучения на растительный покров, по которым можно было бы провести сравнительный анализ данных, полученных 30-40 лет назад, и современных данных. Но такие данные есть по Чернобылю, в основном, по лесным массивам. Лес может задерживать, аккумулировать и перераспределить по своим компонентам поглощенные им радионуклиды, но сам по себе не способен нейтрализовать поглощенную им радиоактивность. Ее

можно частично блокировать специально построенной для этой цели динамической «биологической перегородкой» (Ипатьев В.А., 2003).

Белорусские ученые работают не только с дикорастущей флорой, но и с сельскохозяйственными угодьями, подвергшимися радионуклидному заражению. Такая работа ведется, главным образом, для практических целей: подбираются и всесторонне изучаются виды растений, способные противостоять радиоактивному загрязнению (Самошкин, Глазун, 2003); разрабатываются специальные агротехнологии и агромелиоративные мероприятия возделывания лесных культур на радиоактивно загрязненных сельскохозяйственных землях (Ратников, Жигарева, Попова, Петров, Шаповалов, 2002; Копытов, Рудаковская, 2003; Жигарева, Ратников, Алексахин, Попова, Петров, Белоус, Куриленко, 2003; Глазун, Алешин, 2003 и др.). Во всех работах четко прослеживаются действие двух лимитирующих факторов – радиации и воды.

Однако работы по цитогенетическому изучению растений в зоне загрязнений Чернобыльской АЭС также единичны. По мере возрастания концентрации радионуклидов в почве и семенах прослеживается тенденция к увеличению частоты хромосомных aberrаций, нагруженности клеток, в основном фрагментами, и возрастанием частоты отставания хромосом при расхождении их к полюсам делящихся клеток. Для всех исследуемых видов дикорастущих растений из состава флоры Полесского государственного радиационно-экологического заповедника отмечено достоверное увеличение выхода aberrантных

клеток по сравнению с контрольными популяциями (Гончарова, 2000). На основании проведенных исследований автор этой работы предполагает, что выбранные виды растений могут выступать в качестве **биосферных тест-систем**, которые могут обеспечивать слежение за темпом мутирования в растительных популяциях и приносить информацию о степени риска для фитоценозов, подвергшихся экологическому загрязнению.

В настоящее время предполагают, что и у низших, и у высших организмов существуют системы эпигенетического контроля за проявление тех или иных признаков, как в клетке, так и в организме, в том числе и признака устойчивости к определенному виду воздействия на живой организм. Однако механизмы проявления такого эпигенетического контроля пока весьма спорны.

### Материал и методы исследований

Для цитогенетических исследований был собран материал на территории бывшего Семипалатинского испытательного ядерного полигона (СИП) и контрольные пробы в Карагандинской и Семипалатинской областях. К сожалению, в колосках и метелках, собранных после созревания семян, не оказалось семян даже у растений, собранных на контрольных (чистых) площадках, не говоря уже о площадках загрязненных, у растений, собранных с таких площадок, женский и мужской гаметофиты оказались плохо развитыми, а в некоторых цветках отсутствовали и другие части цветка, или же они были вrudиментарном состоянии. Поэтому исследования проводили на молодых колосках и метелках, не вышедших из влагалища верхнего листа, а у шиповника – на отдельных цветках.

Координаты мест отбора проб и радиометрия приведены в табл. 1.

Материалом для исследований послужили следующие виды: шиповник гололистный (*Rosa glabrifolia* C.A. Mey), житняк гребенчатый (*Agropyron cristatum* (L) Beauv.), ковыль сарептский (*Stipa sareptana* Besk.), овсянница валлийская – типчак (*Festuca valesiaca* Gaudin.), тонконог гребенчатый (*Koeleria cristata* (L) Pers.).

Материал – молодые колоски и метелки, не вышедшие из влагалища верхнего листа, а у шиповника – отдельные цветки – фиксировали в

утренние часы в свежеприготовленном реактиве Карнуса (3 части 96 %-го этилового спирта: 1 часть ледяной уксусной кислоты), где и хранили 12–24 часа. Затем материал промывали в 96 %-ом этиловом спирте – 1 час, 80%-ом этиловом спирте I – 1 час, 80 %-ном этиловом спирте II – 1 час, 70 %-ом этиловом спирте I – 1 час, 70 %-ом этиловом спирте II – 1 час, 70 %-ом этиловом спирте III – 1 час и оставляли на хранение в свежей порции 70 %-го этилового спирта.

Окрашивание материала – цветков и пыльников с микроспороцитами – проводили в 2 %-ом растворе ацетокармина, приготовленном по стандартной методике для окраски микроспороцитов у злаков (Паушева, 1978). При анализе учитывали интенсивность окраски всех структур цветков и пыльников, а также подсчитывали количество клеток микроспороцитов с нормальным течением мейоза и с различными нарушениями процессов мейоза. Кроме этого, подсчитывали количество нормально окрашенных (фертильных) пыльцевых зерен и неокрашенных (стерильных) пыльцевых зерен в 100 полях зрения микроскопа «MICROS».

Все картины мейоза, а также цветки, пыльники и пыльцевые зерна фотографировали с помощью видеокамеры YONGXIN OPTICS CAM V200 и обрабатывали с помощью компьютерной программы YONGXIN OPTICS ScopePhoto версии 2.4.

### Результаты исследований

В настоящей работе приведены данные по типчаку – овсяннице валлийской (*Festuca valesiaca* Gaudin.).

**Код ИРБЭ (К-IV-10-0-28), МЭД г-излучения 10 мкР/ч – контроль.** В одном пыльнике находится до 600 пыльцевых зерен. В некоторых пыльцевых зернах были видны треугольные спермии. Даже в самых маленьких цветках отмечается зрелая одно- и двухядерная пыльца.

В соответствии с рис. 1–5 наблюдали нормально развитые пыльцевые зерна у вида *Festuca valesiaca*, растущего на контролльном участке «Чайковка» в предгорьях Семей-тау Семипалатинской области. По данным табл. 1 процент фертильных пыльцевых зерен достигает 95 %, а стерильных – 6 %, что является нормой для любого вида растений, растущего на естественном

Таблица 1. Пробы растений, отобранных на цитогенетический анализ на бывшем Семипалатинском испытательном полигоне и на контроле

Вид растения	КОД ИРБЭ -2006	Значения МЭД γ-излучения, мкР/ч	Плотность β-частиц/мин на см <sup>2</sup>	Координаты		Место отбора
				N	E	
<i>Rosa glabrifolia</i> C.A.Mey – Шиповник гололистный	Д-I-17-0-4	6200	347	49°45'19,5"	78°06'06,6"	Дегелен, район штольни 104
	Д-II-17-0-3	2300	187	49°45'17,2"	78°06'07,2"	Дегелен, район штольни 104
	Д-III-17-0-5	16	<10	49°45'49,6"	78°05'55,6"	Дегелен, район штольни 104
	К-IV-17-0-53	10	<10	49°43'34,6"	76°26'49,6"	Карагандинская область, Горы Күй
<i>Stipa sareptana</i> Beck. – Ковыль сарептский	Б-I-15-0-16	4000	332	50°01'46,9"	78°55'31,8"	Балапан, район скважины 1301
	Б-II-15-0-29	2450	301	50°01'45,7"	78°55'31,2"	Балапан, район скважины 1301
	Б-III-15-0-30	14	<10	50°01'46,9"	78°55'31,8"	Балапан, район скважины 1301
	К-IV-15-0-24	13	<10	50°12'24,7"	79°29'11,3"	Семипалатинская обл., предгорья Семей-тау
<i>Festuca valesiaca</i> Gaudin. – Овсянница валлийская (Тигчак)	Б-I-10-0-19	1600	102	50°00'06,2"	78°52'00,3"	Балапан, район скважины 1080
	Б-II-10-0-20	595	364	49°56'15,9"	79°00'19,6"	Балапан, отвалы Атомного озера
	Б-III-10-0-15	12	<10	49°59'57,1"	78°55'31,2"	Балапан, обширная межсопочная равнина
	К-IV-10-0-28	13	<10	50°12'24,7"	79°29'11,3"	Семипалатинская обл., предгорья Семей-тау
<i>Agropyron cristatum</i> (L) Beauv. – Житняк гребенчатый	Б-I-16-0-12	985	370	49°56'12,7"	79°00'19,1"	Балапан, отвалы Атомного озера
	Б-II-16-0-24	595	364	49°56'15,9"	79°00'19,6"	Балапан, отвалы Атомного озера
	Б-III-16-0-9	12	<10	49°52'14,2"	78°42'34,8"	Балапан, долина реки Шаган
	К-IV-16-0-25	13	<10	50°12'24,7"	79°29'11,3"	Семипалатинская обл., предгорья Семей-тау
<i>Koeleria cristata</i> (L) Pers. – Тонконог гребенчатый	Б-I-19-0-22	985	370	49°56'12,7"	79°00'19,1"	Балапан, отвалы Атомного озера
	Б-II-19-0-23	500	367	49°56'11,3"	79°00',15,8"	Балапан, отвалы Атомного озера
	Б-III-19-0-14	12	<10	49°52'49,4"	78°52'14,9"	Балапан, предгорная равнина у Койтаса
	К-IV-19-0-27	13	<10	50°12'24,7"	79°29'11,3"	Семипалатинская обл., предгорья Семей-тау

радиационном фоне планеты Земля. Однако у небольшой части пыльцевых зерен наблюдается плазмолиз, что, на наш взгляд, является действием второго лимитирующего фактора в той зоне – отсутствию или недостаточному присутствию воды (рис. 1–5).

**Код ИРБЭ (Б-II-10-0-20), МЭД г-излучения 525 мкР/ч – средний уровень.** При среднем

уровне МЭД наблюдали недоразвитие женского и мужского гаметофита в цветках, а также незначительное снижение количества фертильных пыльцевых зерен, по сравнению с контролем – до 90 %, и увеличение количества стерильных пыльцевых зерен – до 10 % (см. табл. 1), что никак не доказывает влияние радиации на процессы формирования пыльцы, скорее всего это опять действие второго лимитирующего фактора –

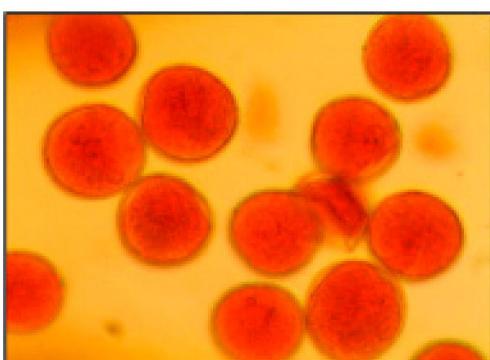


Рис. 1. Фертильные пыльцевые зерна у *Festuca valesiaca*

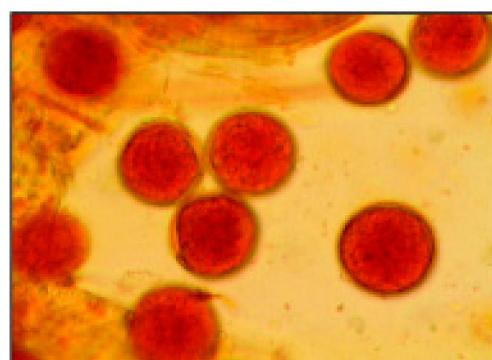


Рис. 3. Фертильные пыльцевые зерна у *Festuca valesiaca*

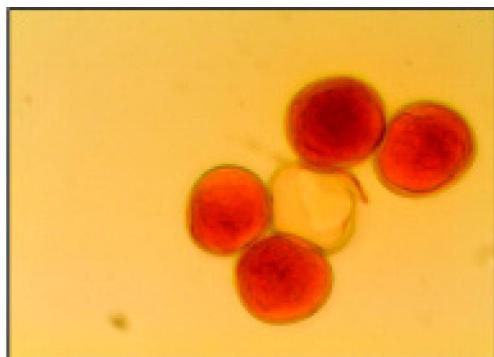


Рис. 2. Фертильные и стерильные пыльцевые зерна у *Festuca valesiaca*



Рис. 4. Фертильные пыльцевые зерна с плазмолизом у *Festuca valesiaca*



Рис. 5. Фертильные пыльцевые зерна со спермиями у *Festuca valesiaca*

отсутствие воды в период формирования пыльцевых зерен. Спермиогенез в фертильных пыльцевых зернах идет нормально – наблюдали пыльцевые зерна со спермиями (рис. 6–8).

#### **Код ИРБЭ (Б-І-10-0-19), МЭД г-излучения 1600 мкР/ч – высокий уровень**

При высоком уровне МЭД наблюдали развитие не только стерильных пыльников, но и недоразвитие завязей, т.е. женского гаметофита (рис. 9). Фертильных и стерильных зерен также было

незначительное количество (см. табл. 1) (рис. 11), однако процент фертильных пыльцевых зерен падал до 80 %, а стерильных возрастал до 20 % в первом варианте опыта, а во втором варианте составлял 14 % фертильных и 86 % стерильных пыльцевых зерен. Наблюдали также и плазмолиз в некоторых пыльцевых зернах (рис. 10). В этом случае можно предположить, что на процессы формирования мужского гаметофита оказывает влияние оба лимитирующих фактора, как радиация, так и вода, а вернее, ее отсутствие.

Таблица 2. Характеристика пыльцевых зерен типчака (*Festuca valesiaca* Gaudin),  
с территории СИП и на контроле

Код пробы ИРБЭ -2006	Значения МЭД г-излучения, мкР/ч	Место отбора	Координаты		Вариант опыта	Количество пыльцевых зерен				
			N	E		общее количество	фертильных	стерильных	количество	
K-IV-10-0-28	10	Контроль, Семипалатинская область, Чайковка, предгорья Семей-тау	50°12'24,7"	79°29'11,3"	1	5508	5218	94,74	290	5,27
Б-П-10-0-20	595	СИП, средний уровень г-излучения, Балапан отвалы Атомного озера	49°56'15,9"	79°00'19,6"	1	1841	1657	90,01	184	9,99
Б-І - 10-0-19	1600	СИП, высокий уровень г-излучения, Балапан, район скважины 1080	50°00'06,2"	78°52'00,3"	1	4910	3940	79,28	1030	20,72
Б-І - 10-0-19	1600	СИП, высокий уровень г-излучения, Балапан, район скважины 1080	50°00'06,2"	78°52'00,3"	2	2492	357	14,33	2135	85,67



Рис. 6. Фертильные и стерильные пыльцевые зерна у *Festuca valesiaca*



Рис. 7. Клетки тапетума у *Festuca valesiaca*



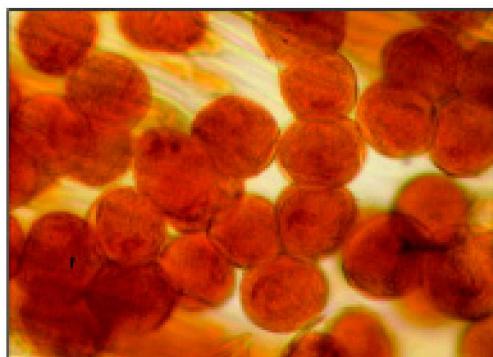
Рис. 8. Фертильное пыльцевое зерно у *Festuca valesiaca*



**Рис. 9.** Пыльник с фертильными и стерильными пыльцевыми зернами у *Festuca valesiaca*



**Рис. 10.** Фертильные пыльцевые зерна с плазмолизом у *Festuca valesiaca*



**Рис. 11.** Фертильные пыльцевые зерна со спермиями у вида *Festuca valesiaca*

Таким образом, проанализировав образование определенного количества фертильных и стерильных пыльцевых зерен у вида *Festuca valesiaca*, можно предположить, что при высоких уровнях МЭД, семена **всех** вызревающих растений просто погибают, и следующей весной происходит занос семян этого вида с других площадок и растут уже другие генотипы.

Генотипы же видов растений, как общеизвестно, обладают разной устойчивостью к действиям внешних факторов.

Проанализировав даже такие данные, можно считать, что вид *Festuca valesiaca* является умеренно устойчивым к действию радиации, либо за 40 лет, прошедших после ядерных взрывов, у вида накопилось значительное количество изменений или мутаций, отрицательно действующих на жизнеспособность не только мужского и женского гаметофитов отдельных растений, но и целого сообщества растений. В таком случае возможно формирование *нового вида* или *разновидности* *Festuca valesiaca*, приуроченных к произрастанию на землях бывшего Семипалатин-

ского ядерного полигона. Однако можно предположить, что генотипы растений *Festuca valesiaca* были неодинаковыми по составу генов, отвечающих за адаптивность растений к стрессовым условиям среды, т.е. здесь растет популяция растений вида *Festuca valesiaca* с разными генотипическими признаками, и не только по адаптивности растений, но и по другим признакам. Скорее всего, здесь, да и у других растений, под действием ионизирующего облучения и других сопутствующих факторов, идет накопление каких-то новых признаков в так называемом «фенотипическом окне генома», что относится уже к области исследований эпигенетики.

Можно также предположить, что как раз идет **эпигенетический контроль** адаптивных признаков растений, но в таком случае для изучения этого явления выборка из популяции должна быть значительной, а исследования должны включать в себя как изучение морфологических и видовых признаков вида *Festuca valesiaca* в растительной популяции, так и биохимическое, цитогенетическое, биоинформационическое изучение.

**Выводы:**

1. Лимитирующими факторами для развития растений и восстановления естественного растительного покрова на площадках бывшего Семипалатинского ядерного полигона являются **ионизирующее излучение, а также отсутствие воды.**

2. Вид *Festuca valesiaca* Gaudin является умеренно устойчивым к стрессовым условиям площадок бывшего Семипалатинского ядерного полигона.

3. Созревания семян у вида *Festuca valesiaca* Gaudin при средних и высоких уровнях МЭД не происходит, вследствие недостаточного развития или гибели мужского и женского гаметофитов в цветках растений.

4. При средних и высоких уровнях МЭД происходит, вероятно, **ежегодное обновление** растительного покрова злаковых растений, за счет заноса жизнеспособных семян из других районов произрастания исследуемого вида *Festuca valesiaca* Gaudin.

5. У вида *Festuca valesiaca* Gaudin, под действием ионизирующего облучения и других сопутствующих факторов, идет накопление каких-то новых признаков в так называемом **«фенотипическом окне генома».**

6. Генотипические различия в системе естественной защиты вида играют, несомненно, **главную роль** в процессах восстановления естественного растительного покрова бывшего Семипалатинского ядерного полигона.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Дубинин Н.П. Общая генетика. М.: Наука, 1976. 590 с.
2. Ипатьев В.А. Радиоэкологический «феномен» леса // Лес в жизни восточных славян от Киевской Руси до

наших дней: сборник научных трудов. Гомель, 2003. Вып. 57. С. 155-156.

3. Самошкин Е.Н., Глазун И.Н. О вариабельности посевных качеств семян сосны в течение последних 11 лет после аварии на ЧАЭС // Селекция, генетические ресурсы и сохранение генофонда лесных древесных растений (Вавиловские чтения): сборник научных трудов. Гомель, 2003. Вып. 59. С. 239-242.

4. Ратников А.Н., Жигарева Т.Л., Попова Г.И., Петров К.В., Шаповалов В.Ф. Влияние агромелиоративных мероприятий на урожайность сельскохозяйственных и кормовых культур и накопление цезия-137 // Бюллетень ВИУА. 2002. № 116. С. 496-499.

5. Копытков В.В., Рудаковская Л.В. Опыт создания лесных культур различными способами на радиоактивно загрязненных сельскохозяйственных землях // Проблемы лесоведения и лесоводства: сборник научных трудов. Гомель, 2003. Вып. 56. С. 23-31.

6. Жигарева Т.Л., Ратников А.Н., Алексахин Р.М. и др. Влияние технологических приемов возделывания сельскохозяйственных культур на накопление <sup>137</sup>Cs в урожае // Агрохимия. 2003. № 10. С. 67-74.

7. Глазун И.Н., Алешин И.В. Посевные качества семян ели европейской и радиоактивно загрязненных насаждениях Брянской области // Селекция, генетические ресурсы и сохранение генофонда лесных древесных растений (Вавиловские чтения): сборник научных трудов. Гомель, 2003. Вып. 59. С. 189-192.

**Резюме**

Валлия бетегесінің тозан ұрықтары түзілуі зерттеу нәтижесі көрсетілген. Тозан ұрықтарының түзілуі процесінде аталық жыныстың үрпак түзілу кезеңіне радиация мен ылғалдылықтың болмауы әсер ететіндігі анықталған.

**Summary**

In present paper data of study forming pollen grains *Festuca valesiana* Gaudin are adduced. It was placed, radiation and drying habitats in period forming of male gametophyte influenced on processes forming pollen grains *Festuca valesiana*.