

МЕТАЛЛОУСТОЙЧИВОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ *LYCHNIS FLOS-CUCULI* ИЗ ЗОН С РАЗНЫМИ УРОВНЯМИ ПРОМЫШЛЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

Известно, что представители семейства гвоздичных способны заселять территории с высоким содержанием тяжелых металлов техногенного происхождения, а также являются представителями серпентинитовой флоры. (Verkleij et al., 1985; Deng et al., 2006; Genetic diversity ... , 1999; Cytogenetic variation ... , 1999; Genetic diversity ... , 2001; Enhanced copper tolerance ... , 2001 и др.). Однако результаты исследований токсикотолерантности металлофитов противоречивы – показана как повышенная, так и сходная металлоустойчивость растений из загрязненных местообитаний по сравнению с природными популяциями. Работ на тему металлоустойчивости горницевидного обыкновенного *L. flos-cuculi* среди опубликованной литературы пока не обнаружено.

Согласно предыдущим исследованиям, обилие *L. flos-cuculi* возрастает в исследуемом градиенте загрязнения (Трубина, Дуля, 2007). Так как горнецевидное – растение с низкой конкурентоспособностью (Does interspecific competition ... , 2004), то вероятно, что увеличению его обилия на загрязненной территории отчасти способствует уменьшение конкуренции вследствие изреживания растительности за счет выпадения естественных луговых видов, а также закрепление генотипов горницевидного, адаптированных к избытку тяжелых металлов в среде.

Цель данной работы – сравнение зависимостей доза – эффект, построенных для отдельных материнских растений *L. flos-cuculi*, изъятых из зон с разными уровнями промышленного загрязнения.

Материал и методика

Исследуемые популяции населяют окрестности Среднеуральского медно-плавильного завода (СУМЗ, Ревдинский район, Свердловская обл.). В состав выбросов входят SO₂, HF, NO_x, Cu, Zn, As и Pb. Среди тяжелых металлов приоритетный поллютант – медь. Соотношение между концентрациями наиболее биодоступных (обменных) форм меди в образцах корнеобитаемого слоя фоновой и буферной почвы – 66, фоновой и импактной – 589 раз. В результате технических работ, а также эрозии почвенного покрова верхние горизонты почвы на некоторых участках загрязненной территории удалены. С приближением к заводу биоразнообразие и обилие луговой растительности уменьшается, видовой состав изменяется. Территория исследования условно разделена на три зоны загрязнения (фоновую – 30; буферную – 4, импактную – 1–1,5 км от завода).

Lychnis flos-cuculi L. [= *Silene flos-cuculi* (L.) Clairv., *Coronaria flos-cuculi* (L.) Braun] (Caryophyllaceae) – вид-космополит, характерный для сырых лугов. Растения способны размножаться половым и вегетативным путем. Преимущественно перекрестное опыление осуществляется насекомыми (Biere, 1996).

В августе – сентябре 2008 г. из популяций, произрастающих в трех зонах загрязнения, были собраны материнские растения горлицевидного потомства (28 материнских растений) было получено в процессе культивирования в теплице при естественном освещении в садовой почвосмеси («ТerraVita», Украина) в условиях выровненного экотона.

В ноябре 2008 г. каждую особь отделили от материнского растения и поместили в отдельный полипропиленовый стакан с питательным раствором (75 мл, среда Хогланда, производство Sigmaaldrich, США, разбавление 1:6), корни предварительно тщательно отмыли от частиц почвы в дистиллированной воде. На 3-, 8- и 13-й дни эксперимента у каждой особи измеряли максимальную длину корня с точностью 1 мм и максимальный радиус розетки с точностью 1 мм, общую сырую биомассу с точностью 0.1 мг (на аналитических весах KERN-120, производство Германия), а также обновляли посуду и питательный раствор. Эксперимент проводили в три этапа: *Первый этап* (подготовительный) – изъятые из почвы растения выращивали в течение трех дней в питательной среде. *Второй этап* (период до экспонирования с третьего по восьмой день) – рост на питательной среде. *Третий этап* (период экспонирования с восьмого по 13-й день) – параллельное экспонирование разными концентрациям $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ в питательном растворе (диапазон концентраций: 0,006 (контроль), 0,08, 0,10, 0,13, 0,18 и 0,26 мг/л в пересчете на Cu^{+2}). Эксперимент проводили при освещении лампами дневного света (16 ч/сут.); относительной влажности воздуха 60 %, температуре 22 °C.

Анализ отличий между параметрами в разных популяциях проводили с помощью процедур одно- и многофакторного параметрического и непараметрического дисперсионного, а также ковариационного анализа, выбирая в качестве ковариаты начальную биомассу растения. Кроме линейной модели для учета влияния биомассы на рост корня использована простая аллометрическая зависимость вида: $E(r)' = E(r) \cdot bm_0^{-1/3}$, где bm_0 – биомасса растения в начале периода экспозиции, $E(r)$ – прирост корня, а $E(r)'$ – прирост корня, приходящийся на единицу начальной биомассы растения.

Для характеристики металлоустойчивости использован модифицированный индекс толерантности в параллельном тесте (МИТ) для потомства каждого материнского растения, рассчитанный по формуле: $\text{МИТ} = (m[E(r)'_{\text{Cu}}]) / (m[E(r)'_{\text{ctrl}}]) \cdot 100 \%$, где $m[E(r)'_{\text{Cu}}]$ и $m[E(r)'_{\text{ctrl}}]$ – средний для потомства каждой семьи прирост корня, приходящийся на единицу начальной биомассы растения, в растворе с добавлением и без токсиканта, соответственно (Wilkins, 1978).

Зависимость «концентрация – прирост корня» для каждого клона аппроксимировали к следующим четырем видам зависимости общего вида: $E(r) = a + b \cdot [\text{Cu}]^c$, где a – свободный член, b – коэффициент регрессии, $[\text{Cu}]$ – концентрация иона меди в растворе, c – показатель степени аргумента, который приравнивали к 0,5, 1, 2 или 4. В каждом случае наиболее подходящее уравнение выбрано по максимальному коэффициенту детерминации. В качестве меры устойчивости клона принята половинная эффективная концентрация (EC50, концентрация, при которой рост корня угнетен наполовину по сравнению с ростом в отсутствие токсиканта), которая подсчитана с помощью полученного уравнения регрессии следующим образом: $EC50 = (-0,5 \cdot a/b)^{1/c}$. Чувствительность растения – скорость снижения роста с увеличением дозы токсиканта – стандартизированный коэффициент регрессии β .

Результаты и их обсуждение

Прирост корня за второй этап эксперимента на чистой питательной среде у растений буферной зоны был значимо больше, чем у остальных популяций $F(2; 25) = 9,6$ $p = 0,004$, однако отличия между зонами обуславливают всего 7 % общей дисперсии. По приросту биомассы и розетки листьев исследуемые популяции сходны ($F(2; 25) = 0,21$, $p = 0,82$ и $H(2; 28) = 0,58$ $p = 0,75$, соответственно).

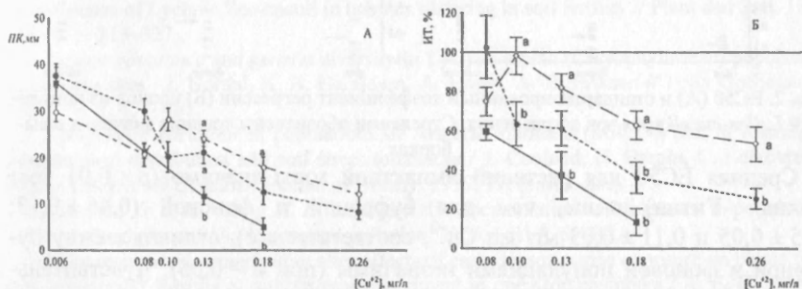


Рис. 1. Абсолютный прирост корня (А) и ИТ (Б)

(среднее значение \pm стандартная ошибка; учетная единица – семья):

■ – фоновая ($N = 7$), ● – буферная ($N = 10$) и ○ – импактная ($N = 11$) популяции

Влияние фактора «концентрация» значимо для всех признаков (прирост корня $F(3; 121) = 35,7$ $p < 0,0001$; прирост биомассы $F(3; 120) = 4,21$, $p = 0,007$; прирост розетки листьев $\chi^2(3) = 12,39$, $p = 0,006$). Прирост розетки листьев и общей биомассы за пять дней экспонирования раствором токсиканта не различался между популяциями (влияние взаимодействия факторов «зона происхождения» \times «концентрация» обусловило $\chi^2(8) = 11,36$, $p = 0,18$ и $F(8; 120) = 1,14$, $p = 0,34$, соответственно). Значимые отличия между реакцией растений из трех популяций на разные уровни токсиче-

ской нагрузки выявлены при анализе прироста корня: влияние взаимодействия факторов «концентрация» × «зона происхождения» значимо только для этого признака. При оптимальной, а также невысоких концентрациях иона меди (0,006–0,08 мг/л) скорость роста корня возрастает в ряду импакт – фон – буфер. Однако при 0,10 мг/л токсиканта и выше ряд трансформируется в следующий: фон – буфер – импакт (рис. 1А).

Средние значения МИТ всех популяций при минимальной токсической концентрации сходны (рис. 1Б). С увеличением концентрации токсиканта отличие МИТ растений из популяции импактной территории от буферной и фоновой возрастает. Значимых отличий между особями из умеренно загрязненной и природной зон не обнаружено. Тем не менее, при высоких дозах токсиканта значения МИТ у растений из буферной зоны занимают промежуточное положение между клонами импактной и фоновой территорий.

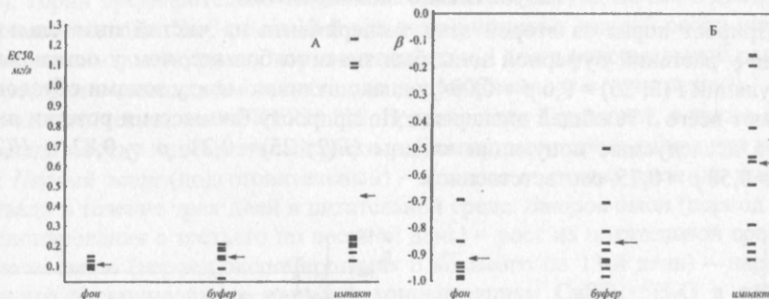


Рис. 2. EC50 (А) и стандартизованный коэффициент регрессии (Б) клонов из популяций *L. flos-cuculi* трех зон загрязнения. Стрелками обозначены средние значения в выборках

Средняя EC50 для растений импактной зоны значимо ($p < 0,01$ тест Манна – Уитни) выше, чем для буферной и фоновой ($0,46 \pm 0,13$; $0,15 \pm 0,05$ и $0,11 \pm 0,03$ мг/мл Cu^{+2} , соответственно), отличия между буферной и фоновой популяциями незначимы (при $\alpha = 0,05$). Чувствительность растений импактной популяции хуже, чем буферной и фоновой, – средние значения стандартизованного коэффициента регрессии в этой популяции значимо отличаются от представителей фоновой и буферной зон ($\alpha < 0,05$) и наиболее близки к нулю. Уровни чувствительности фоновой и буферной популяций сходны (рис. 2).

Заключение

На основе представленного анализа можно сделать вывод, что жизнеспособность растений, происходящих из популяций разных зон влияния медеплавильного завода, сходна. Сравнение популяций по наиболее информативному параметру – приросту корня – позволяет предположить, что металлоустойчивость в популяции из природной зоны ниже, чем в популяциях с загрязненных территорий, однако сравнима с металлоустойчивостью популяции из зоны умеренного загрязнения. Максимальный уровень металлоустойчивости обнаружен у растений из зоны наибольшего загрязнения. Вариабельность ЕС50 и β в популяциях загрязненных территорий велика настолько, что в них обнаружены как чрезвычайно устойчивые, так и чувствительные к избытку меди растения наравне с фоновыми представителями.

Работа завершена при финансовой поддержке программы развития ведущих научных школ (НШ-1022.2008.4) и научно-образовательных центров (контракт 02.740.11.0279), а также молодежного гранта УрО РАН.

Список литературы

Трубина М. Р., Дуля О. В. Особенности изменения численности локальных популяций и характера размещения особей луговых видов в окрестностях медеплавильного завода // Биологическая рекультивация и мониторинг нарушенных земель. Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 2007. С. 639–649.

Biere A. Intra-specific variation in relative growth rate: Impact on competitive ability and performance of *Lychnis flos-cuculi* in habitats differing in soil fertility // *Plant and Soil*. 1996. 182. 2. P. 313–327.

Copper resistance and genetic diversity in *Lychnis alpina* (Caryophyllaceae) populations on mining sites / I. Nordal, K. B. Haraldsen, A. Ergon, A. B. Eriksen // *Folia Geobotanica*. 1999. 34. P. 471–481.

Cytogenetic variation in populations of *Armeria maritima* (Mill.) Willd. in relation to geographical distribution and soil stress tolerances / J. Coulaud, N. Barghi, C. Lefebvre, S. Siljak-Yakovlev // *Canadian Journal of Botany*. 1999. 77. P. 673–685.

Deng H., Ye Z. H., Wong M. H. Lead and zinc accumulation and tolerance in populations of six wetland plants // *Environmental pollution*. 2006. 141. P. 69–80.

Does interspecific competition alter effects of early season ozone exposure on plants from wet grasslands? Results of a three-year experiment in open-top chambers / A. E. G. Tonneijck, J. Franzaringb, G. Brouwer, K. Metselaar, T. A. Dueck // *Environmental pollution*. 2004. 131. P. 205–213.

Enhanced copper tolerance in *Silene vulgaris* (Moench) Garcke populations from copper mines is associated with increased transcript levels of a 2b-type metallothionein gene / N. Van Hoof [et al.] // *Plant Physiology*. 2001. 126. P. 1519–1526.

Genetic diversity of heavy metal-tolerant populations in *Silene paradoxa* L. (Caryophyllaceae): a chloroplast microsatellite analysis / A. Mengoni, C. Barabesi, C. Gonnelli, F. Galardi, R. Gabbriellini, M. Bazzicalupo // *Molecular Ecology*. 2001. 10. P. 1909–1916.

Verkleij J. A. C., Bast-Cramer W. B., Levering H. Effects of heavy metal stress on the genetic structure of populations of *Silene cucubalul*. Structure and Functioning of Plant Populations. Amsterdam: Noord-Holland, 1985. P. 355–365

Wilkins D. A. The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root growth // *New Phytologist*. 1978. 80. P. 623–633.

Федеральное агентство по образованию
Нижегородская государственная социально-педагогическая академия

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ: УСТОЙЧИВОСТЬ, ПРИНЦИПЫ И МЕХАНИЗМЫ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ

Сборник материалов III Всероссийской научно-практической конференции
с международным участием
1–5 марта 2010 года

Часть I



Нижний Тагил
2010