

УДК 577.344+581.162

ПАЛИНОТОКСИЧНОЕ ДЕЙСТВИЕ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ БИ-58 НА ГЕНЕРАТИВНЫЕ ОРГАНЫ *ALLIUM SEPA* L.

Эмирова Д.Э., Ибрагимова Э.Э.

*РВУЗ «Крымский инженерно-педагогический университет», Симферополь, Украина
E-mail: evelina_biol@mail.ru*

Исследовалось влияние различных концентраций БИ-58 на генеративную систему *Allium sepa* L. Установлено, что низкие концентрации (0,05 и 0,1 мл/л) палинотоксического эффекта не оказывали. Высокие концентрации (0,2 и 0,4 мл/л) оказывали среднетоксичное действие на генеративные органы *Allium sepa* L., проявляющееся в достоверном увеличении продукции стерильных пыльцевых зерен с нарушенной морфоструктурой.

Ключевые слова: пыльца, генеративные органы, БИ-58, *Allium sepa* L., палинотоксичность, стерильность, фертильность.

ВВЕДЕНИЕ

Загрязнение окружающей природной среды токсикантами техногенного происхождения за последние десятилетия приобрело угрожающие масштабы. Поступление в окружающую среду нехарактерных для нее веществ несет прямую угрозу для представителей биоценозов и экосистем в целом. К числу антропогенных источников загрязнения окружающей среды относится современное сельское хозяйство [1], где используется широкий арсенал средств защиты растений [2]. Несомненно, использование пестицидов имеет значительную экономическую выгоду [3], однако возникает реальная угроза влияния этих соединений не только на вредителей сельскохозяйственных растений, но и на возделываемые культуры [4-6]. В связи с этим изучение влияния пестицидов на культурные растения представляет значительный научный интерес и является одним из самых востребованных направлений современных экологических исследований. Множество работ посвящено изучению влияния различных пестицидов на урожайность культур [7-11]. Однако данный показатель напрямую зависит от функционирования генеративных органов растений, поэтому изучение влияния ксенобиотиков на генеративную функцию культурных растений весьма актуально.

В экологических исследованиях довольно часто исследуется мужская генеративная сфера растений в качестве тест-системы для определения негативного влияния техногенных факторов [12], так как показатели репродуктивной функции являются индикатором состояния генофонда и ухудшение некоторых из них может свидетельствовать о важных и порой необратимых изменениях в популяции в целом. Основной целью системы мер, направленных на предупреждение вредного

воздействия ксенобиотиков на функцию размножения, является идентификация возможного токсического для репродуктивной функции влияния допускаемого в окружающую среду химического агента, а также оценка и минимизация риска, связанного с его применением [13].

Под влиянием неблагоприятных внешних условий, искусственного воздействия различными реагентами нормальное развитие пыльцы может нарушиться, что приводит к ее стерильности [14]. Наиболее чувствительными стадиями онтогенеза к пестицидному воздействию являются бутонизация и цветение [15]. В связи с этим в наших исследованиях мы использовали генеративные органы сельскохозяйственных растений для индикации палинотоксического действия ксенобиотиков.

Цель работы – определение палинотоксического действия различных концентраций БИ-58 на генеративные органы *Allium cepa* L.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В своих исследованиях мы использовали БИ-58 новый (40% концентрат эмульсии) с рекомендуемой нормой расхода 10 мл на 20 л воды – препарат фирмы ВАСФ ОАО ВИРТАН-ПРОМЭКС, (Россия 2008 г.), имеющий широкое применение в агропромышленном комплексе Крыма [16] как контактный и системный инсектоакарицид [17].

В качестве объекта исследования использовали проростки семян *Allium cepa* L. сорта Халцедон, которые выращивали в открытом грунте в условиях обработки различными концентрациями БИ-58. Контрольные растения выращивали без обработки. Грунт экспериментальных делянок – чернозем, рН нейтральное. Рабочие концентрации готовили непосредственно перед применением. Обработку растений проводили однократно в фазу закладки и формирования соцветий при помощи пульверизатора. Повторность эксперимента четырехкратная. У указанной культуры изучали стерильность мужского гаметофита. Материалом для исследований служили генеративные органы *Allium cepa* L., обработанные 0,05; 0,1 (рекомендуемая доза); 0,2 и 0,4 мл/л концентрациями БИ-58.

Собранные соцветия фиксировали в уксуснокислом спирте (3:1), а затем, после промывки в 70%-ном спирте, переносили в 80%-ный этиловый спирт, где хранили до цитологического анализа при $t = -2^{\circ}\text{C}$. Фертильность пыльцевых зёрен определяли йодным методом на временных давленных препаратах [20]. В каждом экспериментальном варианте исследовали не менее 2000 штук пыльцевых зёрен. Для сравнения полученные данные приводили к интенсивным показателям [21]. Изучение морфологической структуры пыльцевых зёрен проводили при помощи системы анализа изображений, включающей микроскоп “LEICA DME” (объектив x4, x10, x40, x100 коэффициент увеличения тубусной линзы x0.10, x0.22, x0.65, x1,25), видеокамеру “CANON S80” и персональный компьютер.

Для скрининга палинотоксического влияния различных концентраций БИ-58 использовали тест на стерильность мужского гаметофита. Палинотоксический эффект тестируемого препарата выявляли путем анализа частот встречаемости разных типов аномалий пыльцевых зёрен (палиноморфологическая оценка) [18]. Были рассмотрены следующие параметры: количество фертильных и стерильных

пыльцевых зерен, проценты клеток с нарушениями, рассчитанные из общего количества продуцируемых генеративными органами гамет; индекс стерильности (ИС), представляющий собой величину, показывающую во сколько раз частота индуцированного уровня стерильности, вызванная действием поллютантов, выше уровня спонтанной стерильности (контроль).

Палинотоксический эффект различных концентраций БИ-58 – ПЭ (%) по показателям фертильности пыльцы тест-растения рассчитывали по формуле [19]:

$$ПЭ = \frac{\Phi_o - \Phi_x}{\Phi_o} \cdot 100,$$

где Φ_o – интенсивный показатель величины спонтанной фертильности генеративной системы растений контрольной зоны, Φ_x – интенсивный показатель величины индуцированной фертильности растений, обработанных различными концентрациями БИ-58.

Полученные данные были ранжированы по классификации EC_{10-90} : инициальное (слаботоксичное), эффективное (среднетоксичное) и сублетальное (высокотоксичное) действие токсических концентраций исследуемого препарата – соответственно EC_{10} , EC_{50} и EC_{90} , при которых наблюдалось ингибирование продукции фертильной пыльцы генеративными органами тест-растения на 10, 50 и 90% по сравнению с контролем

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ “Microsoft Excel 2000”. Достоверность различий полученных данных определяли с помощью t-критерия Стьюдента [22].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенных исследований показали, что между растениями, обработанными различными концентрациями исследуемого препарата имеются определенные различия. Следует отметить, что мужская генеративная сфера *Allium cepa* L. характеризуется высоким показателем фертильности пыльцы (табл. 1).

Таблица 1.

Влияние различных концентраций БИ-58 на показатели фертильности (Ф), стерильности (С), палинотоксичности (ПЭ) и индекса стерильности (ИС) генеративной системы *Allium cepa* L. по сравнению с контролем

№	Вариант	Ф, %	С, %	ИС	ПЭ, %	EC_{10-90}
1.	К	99,15±0,37	0,85±0,37	–	–	–
2.	0,05 мл/л	97,17±0,80	2,82±0,80	3,32	2,06	EC_{10}
3.	0,1 мл/л	97,25±0,51*	2,75±0,51*	3,23	1,95	EC_{10}
4.	0,2 мл/л	85,62±0,98***	14,38±0,98***	16,92	13,71	EC_{10-50}
5.	0,4 мл/л	83,15±1,40***	16,85±1,40***	19,82	16,31	EC_{10-50}

Примечание: отличия от контроля достоверны при * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$; *** – $p \leq 0,001$ ($t_{ст} = 2,8 - 4,6 - 8,6$).

В частности, фертильность контрольного варианта в наших исследованиях достигала 99,2% при спонтанном уровне стерильности 0,8%. Обработка опытных растений 0,05 мл/л дозой тестируемого препарата существенного влияния на органы репродукции не оказывала, о чем свидетельствует высокий уровень фертильности мужского гаметофита (97,2%) и отсутствие достоверных отличий по сравнению с контрольным вариантом.

Дальнейшее увеличение концентрации БИ-58 достоверно снизило продукцию фертильной пыльцы *A. sepa* L. Использование рекомендуемой к применению дозы (0,1 мл/л) практически не повлияло на показатель фертильности, величина которого достигла 97,2%.

При увеличении концентрации БИ-58 до 0,2 мл/л было отмечено снижение фертильности пыльцы в 1,16 раза ($p < 0,001$) по сравнению с контрольным вариантом, при 0,4 мл/л – в 1,19 раза ($p < 0,001$) соответственно. Таким образом, мужской гаметофит *A. sepa* L. характеризуется высоким показателем фертильности, который достоверно снижается при высоких концентрациях БИ-58 (0,2 и 0,4 мл/л).

Параллельно была рассчитана величина индекса стерильности по всем вариантам исследования. При концентрации препарата 0,05 и 0,1 мл/л его величина колебалась в пределах 3,23–3,32. При повышенных концентрациях (0,2 и 0,4 мл/л) индекс стерильности резко увеличился в диапазоне 16,92–19,82. Следовательно, повышенные концентрации препарата БИ-58 вызывали увеличение индекса стерильности.

При палиноморфологической оценке пыльцевых зерен было установлено, что практически вся пыльца имела идентичную морфоструктуру и нарушений морфологии обнаружено не было (рис. 1).

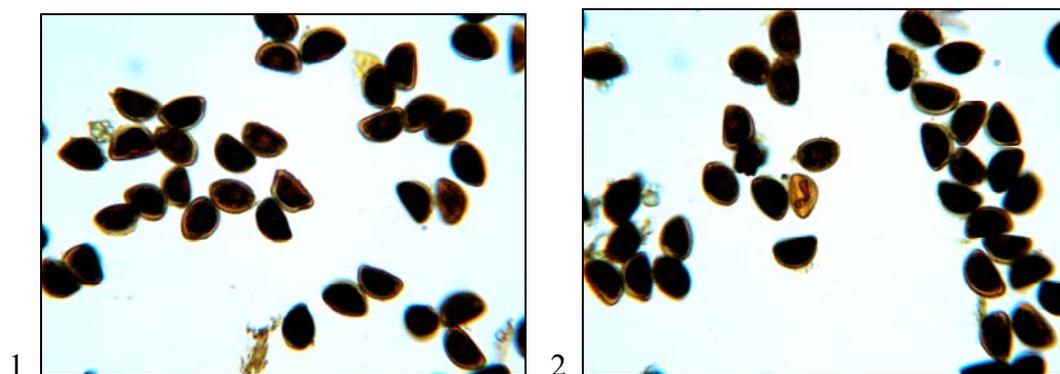


Рис. 1. Пыльцевые зерна *Allium sepa* L. (увел. 10x0.22): 1) обработка 0,05 мл/л БИ-58; 2) обработка 0,1 мл/л (фертильная пыльца – окрашенная, стерильная – бесцветная).

В 4 и 5 вариантах исследования (0,2 и 0,4 мл/л) были обнаружены крупные abortивные пыльцевые зерна (рис. 2), что может быть результатом нарушения расхождения тетрад микроспор при микроспорогенезе [12]. Количество крупных пыльцевых зерен составило 18% от общего количества abortивной пыльцы в 4 варианте исследования (0,2 мл/л) и 25% в 5 варианте (0,4 мл/л) соответственно.

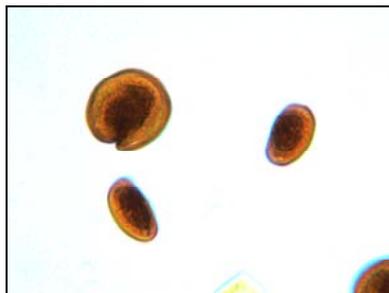


Рис. 2. Гипертрофированное пыльцевое зерно *Allium cepa* L. (увел. 10x0.22, обработка 0,2 мл/л БИ-58).

Изменение фенотипа пыльцы, продуцируемой растениями, обработанными высокими концентрациями БИ-58, может свидетельствовать об их токсичном действии на органы мужской репродукции тест-растения. Данное предположение подтверждает расчет показателя палинотоксического эффекта (*ПЭ*) различных концентраций БИ-58. Низкие концентрации (0,05 мл/л), в том числе и рекомендуемая к применению доза (0,1 мл/л), палинотоксического эффекта на мужскую генеративную систему *A. cepa* L. не оказывали. Концентрации 0,2 и 0,4 мл/л обладали достаточно выраженной палинотоксичностью, ранжирование полученных показателей *ПЭ* по классификации *ЕС*₁₀₋₉₀, позволило прийти к заключению, что БИ-58 в указанном диапазоне концентраций оказывает среднетоксичное действие на мужскую генеративную сферу *A. cepa* L. Таким образом, низкие концентрации тестируемого препарата (0,05 и 0,1 мл/л) палинотоксическим и модифицирующим действием на мужской гаметофит *A. cepa* L. не обладали, высокие дозы БИ-58 оказывали среднетоксичное действие, проявляющееся в повышенной продукции стерильной пыльцы с нарушенной морфоструктурой.

ВЫВОДЫ

1. Концентрации БИ-58 (0,05 и 0,1 мл/л) палинотоксическим эффектом на мужскую генеративную систему не обладают, в связи с чем могут быть рекомендованы к применению.
2. Высокие концентрации БИ-58 (0,2 и 0,4 мл/л) оказывали среднетоксичное действие на генеративную сферу *Allium cepa* L.
3. Повышенные концентрации БИ-58 вызывали нарушение морфоструктуры пыльцевых зерен *Allium cepa* L., проявляющееся в повышенной продукции крупной пыльцы.
4. Мужская генеративная сфера *Allium cepa* L. характеризуется высоким показателем фертильности, в силу чего может использоваться для скрининга палинотоксичного действия поллютантов.

Список литературы

1. Kookana R.S. Pesticide fate in farming systems: Research and monitoring / R.S. Kookana, B.W. Simpson // Abstr. International Symposium in Soil and Plant Analysis „Opportunities for the 21st Century: Expanding the Horizons for Soil, Plant and Water Analysis”, Brisbane, March 22-26, 1999. – Commun. Soil Sci. and Plant Anal. – 2000. – Vol. 31, № 11–14. – P. 1641–1659.
2. Эмирова Д.Э. Анализ пестицидной нагрузки на сельскохозяйственные почвы Крыма / Д.Э. Эмирова, Э.Р. Алиев // Materiały IV Międzynarodowej naukowo-praktycznej konferencji «Strategiczne pytania światowej nauki – 2008». – Тум 8. Rolnictwo. Weterynaria. Chemia I chemiczne technologie. Ekologia. Geografia i geologia: Przemysł. – Nauka i studia, 2008. – S. 63–66.
3. Лісовий М.П. Інтегровані методи захисту рослин і можливості альтернативного (біологічного) землеробства в Україні / М.П. Лісовий // Вісн. аграр. науки. – 1997. – № 9. – С. 37–40, 97, 99.
4. Kerecki B. Effects of herbicides on some maize inbred lines / B. Kerecki, L. Stefanonovic, L. Zaric // Abstr. 11th Congress of the Federation of European Societies of Plant Physiology, Varna, 7-11, Sept., 1998. – Bulg. J. Plant Physiol. – 1998. – Spec. issue. – P. 313.
5. Anoxic treatment of trifluralincontaminated soil / M.J. McFarland, M. Beck, S. Harper [et al.] // J. Hazardous Mater. – 1996. – Vol. 50. – № 2–3. – P. 129–141.
6. Метод биологической пробы оценки чувствительности некоторых сельскохозяйственных культур к хлорсульфону и его применение при определении остаточных количеств / S.-z. Yuan, S.-z. Liu, G.-c. Li [et al.] // Jiangsu nongye yanjiu = Jiangsu Agr. Res. – 2000. – Vol. 21, № 2. – P. 62–66.
7. Долженко В.И. Дифезан в Краснодарском крае / В.И. Долженко // Защита и карантин раст. – 2001. – № 5. – С. 3.
8. Коломийцев Ф.Б. Гербициды в посевах сои / Ф.Б. Коломийцев // Защита и карантин раст. – 2001. – № 2. – С. 20–21.
9. Милаванова З.Г. Гербициды в посевах гороха / З.Г. Милаванова // Защита и карантин раст. – 2001. – № 4. – С. 22–23.
10. Blackshaw R.E. Dry bean (*Phaseolus vulgaris*) tolerance to imazethapyr / R.E. Blackshaw, G. Saindon // Can. J. Plant Sci. – 1996. – Vol. 76, № 4. – P. 915–919.
11. Rola H. Wpływ herbicydów na wzrost, rozwój i planowanie mieszańców *Kykyrdyzy* / H. Rola // Ref. 38. Sec. nauk. Inst. ochr. rosl., Poznan, 1998 // Post. ochr. rosl. – 1998. – Vol. 38, № 1. – P. 73–78.
12. Ібрагімова Е.Е. Екологічна оцінка дії техногенних хімічних забруднень на цитогенетичні показники вищих рослин в умовах Криму: Автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.16 / Е.Е. Ібрагімова– КНУ. – Київ, 2008. – 20 с.
13. Шепельская Н.Р. Некоторые аспекты методических подходов к классификации пестицидов по степени опасности для репродуктивной функции (обзор) / Н.Р. Шепельская // http://www.medved.kiev.ua/arhiv_mg/stat_99/99_1_7.htm.
14. Цаценко Л.В. Фитотестирование загрязнения агролашафта / Л.В. Цаценко, О.Д. Филипчук // Вест. акад. с.-х. наук. – 1997. – № 3. – С. 39–41.
15. Жумашев Ж.А. Морфо-физиологические особенности кормовых бобовых видов растений, произрастающих на загрязненной пестицидами почве / Ж.А. Жумашев // III-ий Международный конгресс студентов и молодых ученых “Мир Науки”, посвященный 75-летию КазНУ им. Аль-Фараби (28-30 апреля 2009 г., г. Алматы): Материалы III-го Международного конгресса студентов и молодых ученых “Мир Науки”. – Алматы: Казахский Национальный университет им. Аль-Фараби, 2009. – С. 103–104.
16. Эмирова Д.Э. Анализ пестицидной нагрузки на агроценозы Крыма / Д.Э. Эмирова // Ученые записки Крымского инженерно-педагогического университета. Выпуск 15. Биологические науки. – Симферополь: НИЦ КИПУ, 2008. – С. 69–71.
17. Пестициды: Справочник. / [Мартыненко В.И., Промоненко В.К. и др.] – М.: Агропроиздат, 1992. – 307 с.
18. Ібрагімова Э.Э. Палиноморфологическая оценка техногенного химического загрязнения среды на примере пыльцы *Artemisia vulgaris* / Э.Э. Ібрагімова // Экосистемы Крыма, их оптимизация и охрана. – Вып. 17. – 2007. – С. 211–217.

19. Пат. 32513 України на корисну модель, МПК (2006) G01N 33/00 G01N 1/00 Спосіб визначення палінотоксичності техногенних хімічних забруднювачів нав-колишнього середовища / Д.В. Балічева, Е.Е. Ібрагімова, Д.Е. Емірова – № u200711625; заявл. 22.10.2007; опубл. 26.05.2008, Бюл. № 10.
20. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений / Паушева Зоя Петровна. – М.: Колос, 1980. – 304 с. – (Учебники и учебные пособия для высших сельскохозяйственных учебных заведений).
21. Мерков А.М. Санитарная статистика / А.М. Мерков, Л.Е. Поляков – М.: Медицина, 1974. – 384 с.
22. Плохинский Н.А. Биометрия / Плохинский Н.А. – М.: МГУ, 1970. – 367 с.

Емірова Д.Е. Палінотоксична дія різних концентрацій БІ-58 на генеративні органи *Allium cepa* L. / Д.Е. Емірова, Е.Е. Ібрагімова // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2010. – Т. 23 (62). – № 2. – С. 186-192.

Досліджувався вплив різних концентрацій БІ-58 на генеративну систему *Allium cepa* L. Встановлено, що низькі концентрації (0,05 і 0,1 мл/л) не мають палінотоксичного ефекту. Високі концентрації (0,2 і 0,4 мл/л) мають середньотоксичну дію на генеративні органи *Allium cepa* L., що виявляються в достовірному збільшенні продукції стерильних пилоквих зерен з порушеною морфоструктурою.

Ключові слова: пилок, генеративні органи, БІ-58, *Allium cepa* L., палінотоксичність, стерильність, фертильність.

Emirova D.E. Palynotoxic influence of different concentrations of BI-58 on generative organs of *Allium cepa* L. / D.E. Emirova, E.E. Ibragimova // Scientific Notes OF Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2010. – V.23 (62). – № 2. – P. 186-192.

Influence of different concentrations of BI-58 on the generative system of *Allium cepa* L. was investigated. It is set that low concentrations (0,05 and 0,1 ml/l) do not possess a palynotoxic effect. High concentrations (0,2 and 0,4 ml/l) the medium toxic made influence on the generative organs of *Allium cepa* L., bringing to the reliable increase of products of sterile pollen with broken morphologic structure.

Keywords: pollen, generative organs, BI-58, *Allium cepa* L., palynotoxic, sterility, fertility.

Поступила в редакцію 19.04.2010 г.