

УДК 575.224:582.973

Мутационная активность популяции *Lonicera caerulea* в зоне активных тектонических разломов

Mutational activity of *Lonicera caerulea* population in the zone of active tectonic faults

Куликова А. И.¹, Скапцов М. В.²

Kulikova A. I.¹, Skaptsov M. V.²

¹Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, ул. Золотодолинская, 101, Новосибирск, 630090, Россия
E-mail: kulikovaai@ngs.ru

¹Central Siberian Botanical Garden SB RAS, Zolotodolinskaya St., 101, Novosibirsk, 630090, Russia

²Алтайский государственный университет, пр-т Ленина, 61, Барнаул, 656049, Россия, E-mail: mr.skaptsov@mail.ru

²Altai State University, Lenina str., 61, Barnaul, 656049, Russia

Реферат. Геофизические и геохимические аномалии в зонах активных разломов могут оказывать мутагенное воздействие на произрастающие здесь растения, являясь одним из факторов эволюционного преобразования растительных популяций. Проведена оценка мутагенной активности в природной популяции в одной из зон активных разломов Горного Алтая у *Lonicera caerulea* методом проточной цитометрии и цитогенетическим методом. Установлено влияние геологической среды (минералогический состав пород, аномалии магнитного поля) на усиление интенсивности мутационного процесса, что выражается в увеличении митотической активности и частоты встречаемости патологий митоза, в основном, за счет увеличения доли нарушений на стадии метафазы, и достоверной разнице между микропопуляциями по размеру генома. Полученные результаты говорят об усилении мутационной активности в отдельных популяциях, приводящей к увеличению полиморфизма признаков репродуктивной сферы.

Summary. Geophysical and geochemical anomalies in active fault zones can exert mutagenic effect on plants growing here, as one of the factors of the evolutionary transformation of plant populations. Evaluation of mutagenic activity in a natural population of *Lonicera caerulea* in one of the active fault zone in the Altai Mountains has been conducted by flow cytometry and cytogenetic methods. The influence of geological environment (the mineralogical composition of the rocks, the magnetic field anomalies) to enhance the intensity of the mutation process, has been established that is expressed in the increase of mitotic activity and frequency of occurrence of pathological mitosis, mainly due to the increase in the proportion of violations at metaphase, and significant differences between micropopulations on the genome size. These results suggest the strengthening of mutational activity in certain populations leading to increased polymorphism of reproductive sphere characters.

В результате сравнительной оценки изменчивости признаков репродуктивной сферы *L. caerulea* s. l. в различных районах Горного Алтая была выделена популяция в окрестности пос. Верхний Уймон (Усть-Коксинский р-н), где наблюдались значительное увеличение полиморфизма морфологических признаков цветков и аномалии в их строении. На основании результатов геомагнитной, радиационной, радоновой, геолого-геохимической и почвенно-геохимической съемок на этом участке в сходных геоботанических условиях были выбраны площадки, различающиеся по геофизическим и геохимическим характеристикам (Боярских и др., 2013). Площадка «А2+» находилась в зоне положительной магнитной аномалии, «А2-» – в зоне отрицательной магнитной аномалии, площадки «Запад» и «Восток», по данным геоморфологии, находились в зоне разлома. «Основание хребтика» – зона пересечения разломов, характеризующаяся высоким содержанием подпочвенного радона (до 3200 Бк/м³). Контрольный участок характеризовался фоновыми показателями магнитного и радиационного полей и отсутствием геохимических аномалий.

На каждой из микропопуляций с 15–20 растений были отобраны семена для проращивания и цитогенетического анализа и листья для молекулярно-генетических исследований.

Цитогенетический анализ проводился в пяти микропопуляциях по стандартной методике (Singh, 2003), модифицированной для *L. caerulea* subsp. *altaica*. На препаратах определяли следующие цито-

генетические показатели: 1) митотический индекс – показатель интенсивности деления клеток. Митотический индекс рассчитывали как долю делящихся в митозе клеток от общего числа проанализированных клеток (Ugry et al., 2013); 2) процентное соотношение количества клеток на разных стадиях митоза от общего числа просмотренных клеток – для выявления возможных отклонений в продолжительности стадий митоза и регулярности прохождения клеточного цикла (Алов, 1972); 3) долю патологических митозов меристематических клеток проростков на стадиях метафазы, анафазы и телофазы от общего количества делящихся клеток на этих же стадиях (в %). Поскольку в профазе трудно заметить какие-либо отклонения, эта стадия не учитывалась. Для сравнения микропопуляций использовали критерий согласия χ^2 (Glantz, 2012).

Относительное содержание ДНК определяли в молодых листьях при помощи техник проточной цитометрии с использованием иодида пропидия (PI). В качестве внутреннего стандарта для определения относительного содержания ДНК использовали *Zea mays* ‘СЕ-777’ (2С = 5,43 пг).

В результате цитогенетического анализа было отмечено наибольшее число делящихся клеток на разных стадиях митоза в меристемах проростков микропопуляций «Запад» и «Восток» из зоны локального разлома. Статистически значимое увеличение митотической активности и доли клеток на стадии профазы выявлено у семенного потомства растений из микропопуляции «Запад» по сравнению с контрольной микропопуляцией (табл. 1, 2). Доля клеток на стадии метафазы во всех микропопуляциях, кроме «А2-», была достоверно выше соответствующих значений микропопуляции «Контроль».

Таблица 1

Цитогенетические показатели семенного потомства *L. caerulea* subsp. *altaica* в зависимости от места произрастания

Микропопуляции	Проанализировано клеток, шт.	Митотический индекс, %	Доля клеток на стадиях, %				Патологии митоза, %
			Профаза	Метафаза	Анафаза	Телофаза	
Контроль	4474	63,3	57,9	1,7	0,8	2,9	7,6
А2-	1543	64,2	59,7	2,1	0,6	1,8**	19,2**
А2+	2686	61,1	55,0	2,4**	1,0	2,7	13,8**
«Запад»	3398	71,4**	64,8**	2,3**	1,0	3,3	9,8
«Восток»	1284	67,8	61,7	2,7**	1,3*	2,1*	13,9*

Примеч.: статистически значимые отличия между цитогенетическими показателями контрольной К и тестовых микропопуляций для $P \leq 0,05$ (*) и $0,01$ (**).

Таблица 2

Значения χ^2 -критерия между цитогенетическими показателями в меристематических клетках проростков семян из контрольной и тестовых микропопуляций

Цитогенетические показатели	Тестовые микропопуляции			
	«А2-»	«А2+»	«Запад»	«Восток»
Митотический индекс	0,15 (0,6970)	1,26 (0,2613)	16,63 (0,0000)	2,86 (0,0910)
Доля клеток в профазе	0,64 (0,4241)	2,48 (0,1150)	13,74 (0,0002)	2,37 (0,1236)
в метафазе	2,47 (0,1162)	7,6 (0,0058)	6,09 (0,0136)	8,96 (0,0028)
в анафазе	1,61 (0,2040)	0,9 (0,3429)	0,79 (0,3756)	3,46 (0,0628)
в телофазе	8,14 (0,0043)	0,51 (0,4758)	1,4 (0,2361)	4,13 (0,0422)
Патологии в метафазе	12,34 (0,0004)	11,24 (0,0008)	8,47 (0,0036)	5,77 (0,0163)
в анафазе	3,18 (0,0748)	0,15 (0,7022)	1,12 (0,2901)	0,13 (0,7174)
в телофазе	1,97 (0,1600)	3,1 (0,0781)	4,65 (0,0311)	0,26 (0,6083)
Сумма патологий митоза	12,71 (0,0004)	6,73 (0,0095)	1,13 (0,2871)	4,33 (0,0375)

Примеч.: в скобках указано Р-значение; жирным шрифтом выделены значения χ^2 , превышающие критические значения $\chi^2_{0,10} = 2,71$, $\chi^2_{0,05} = 3,84$, $\chi^2_{0,01} = 6,63$, что говорит о статистически значимых отличиях между цитогенетическими показателями контрольной и тестовых микропопуляций. Размер проанализированных выборок см. во втором столбце таблицы 1.

Доля клеток в телофазе в микропопуляции К была статистически значимо выше, чем в микропопуляциях «А2-» и «Восток» (табл. 1, 2). Показано, что увеличение митотической активности в микропопуляциях «Запад» и «Восток» происходит преимущественно за счет увеличения долей клеток в профазе.

В ходе работы был выполнен статистический анализ доли нарушений в митозе в исследуемых популяциях. Показана зависимость количества патологических митозов в клетках семенного потомства от места сбора семян. Во всех тестовых микропопуляциях отмечено возрастание суммарного числа нарушений. Отличия от микропопуляции «Контроль» были статистически значимыми везде, кроме микропопуляции «Запад» (табл. 2). Наибольшая частота встречаемости патологических митозов зафиксирована в зоне отрицательной магнитной аномалии «А2-».

Патологические митозы у проростков семян представлены следующими типами патологий: отставания в метакинезе; неправильная группировка хромосом в метафазе; отставания, мосты и выбросы хромосом в анафазе; отставания, разорванные мосты и формирование нескольких групп хромосом в телофазе (рис. 1). Соотношение типов патологий зависит от места произрастания растений (рис. 2). Наиболее полный спектр патологий митоза отмечен в микропопуляции «А2+», наименее полный – в «А2-». Снижение доли клеток с нарушениями в митозе к стадии телофазы указывает на гибель большинства клеток с поврежденной ДНК.

У изучаемых растений установлена высокая вариабельность размера генома (рис. 3). Наибольшая изменчивость генома отмечена в микропопуляции «Основание хребтика» ($CV = 7,6\%$), в остальных микропопуляциях коэффициент вариации не превышал 5%. Из исследуемых микропопуляций «Основание хребтика» отличается самым большим геномом и самыми большими вариациями его размера. Здесь встречались растения с отклонениями от среднего значения в 1,1 раза в большую и в 0,8 раза в меньшую сторону. Единичные растения с отклонениями в 1,1–1,2 раза отмечены также в микропопуляциях «Восток» и «А2+». Наименьшим генетическим разнообразием отличается микропопуляция «А2-».

По полученным данным также был проведен анализ AMOVA, который показал, что микропопуляции достоверно различаются между собой по размеру генома.

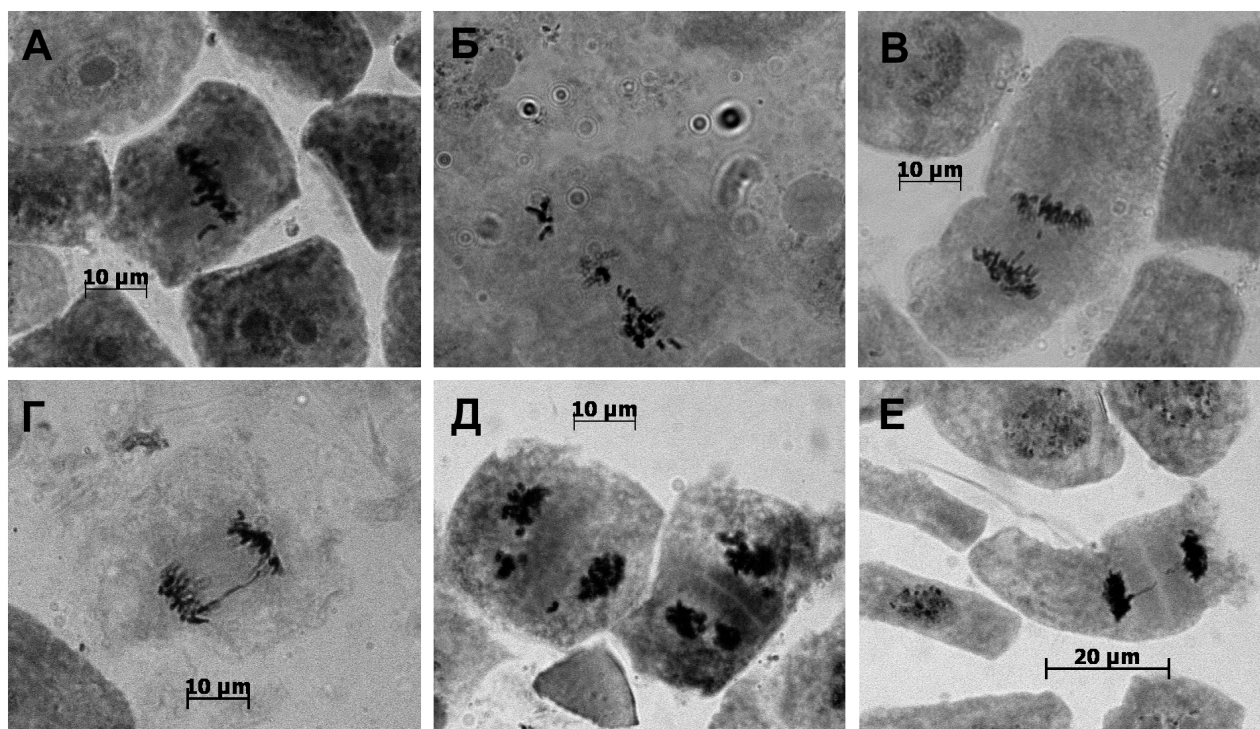


Рис. 1. Типы патологий митоза у семенного потомства *L. caerulea* subsp. *altaica*: а – отставание в метакинезе; б – неправильная группировка хромосом в метафазе; в – отставания в анафазе; г – мост в анафазе; д – формирование нескольких групп хромосом в телофазе; е – разорванный мост в телофазе.

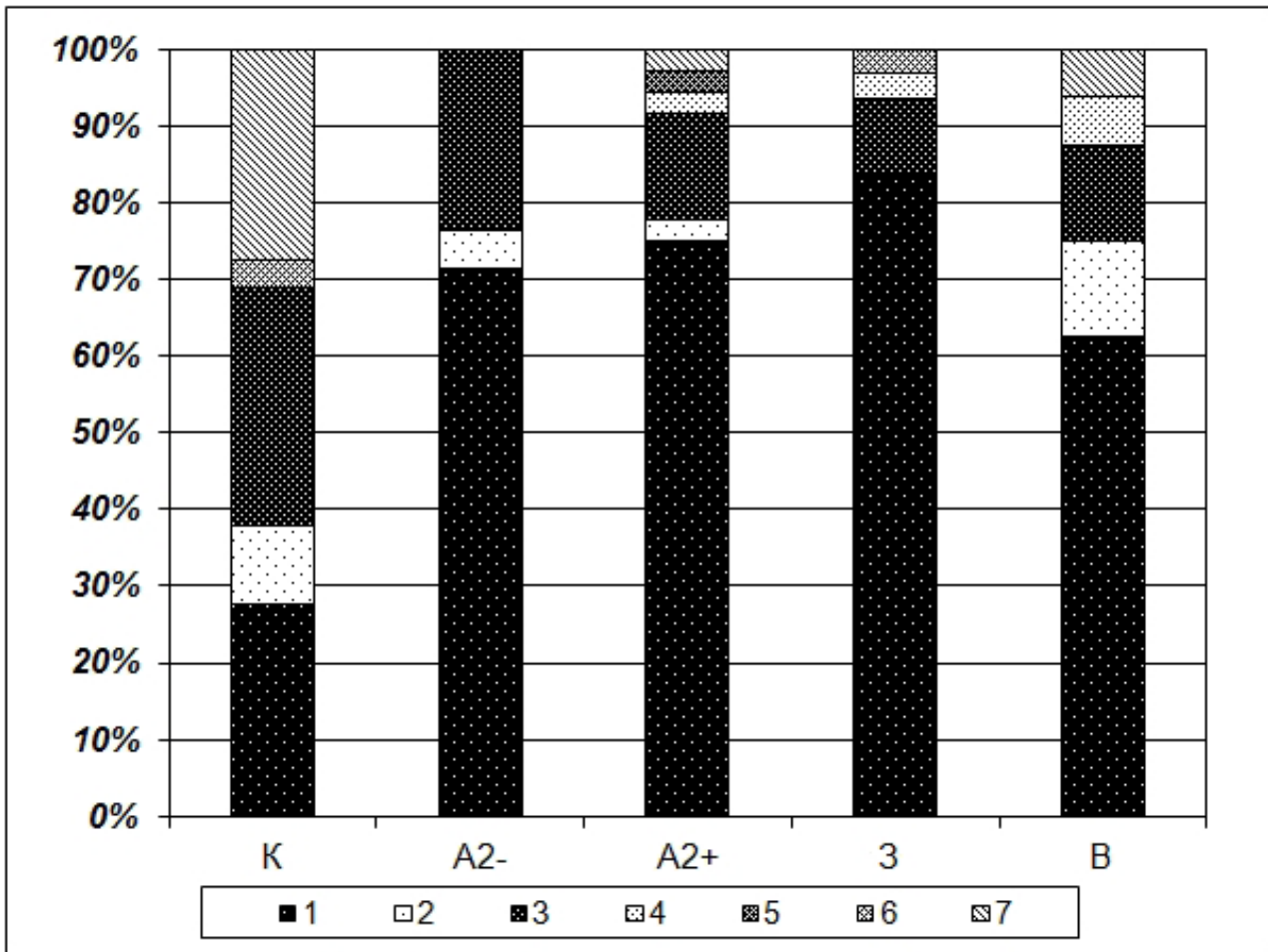


Рис. 2. Спектр патологий митоза у семенного потомства *L. caerulea* subsp. *altaica* в зависимости от места произрастания: 1 – отставания хромосом в метакинезе; 2 – неправильная группировка хромосом в метафазе; 3 – отставания хромосом в анафазе; 4 – мосты в анафазе; 5 – выбросы хромосом в анафазе; 6 – разорванные мосты в телофазе; 7 – формирование нескольких групп хромосом в телофазе.

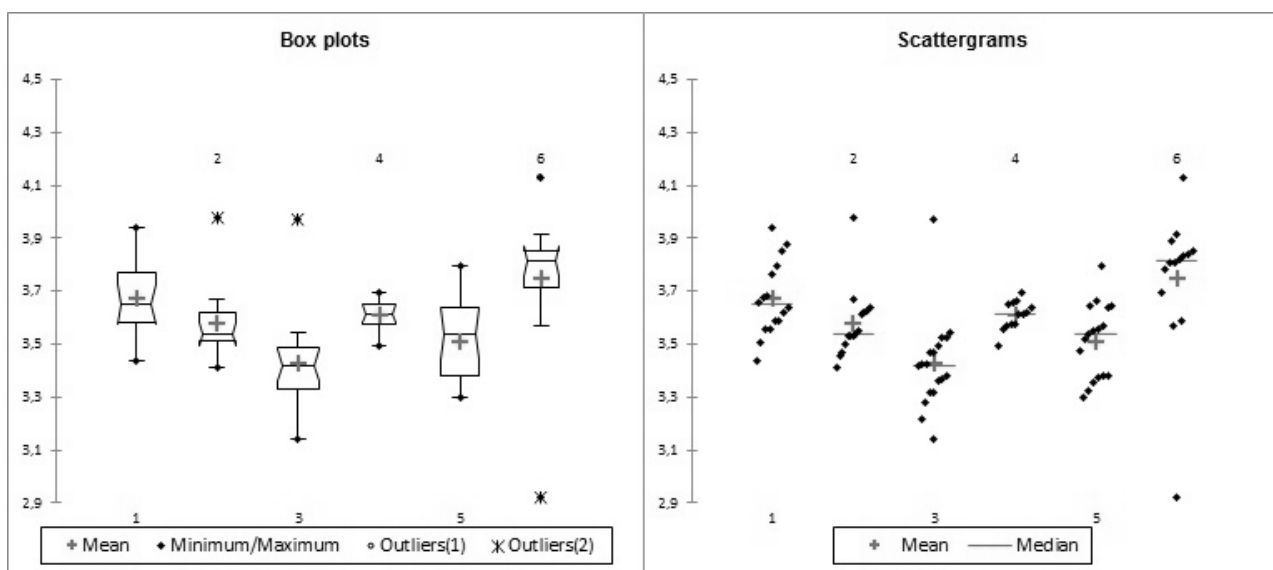


Рис. 3. Распределение данных относительного содержания ДНК по микропопуляциям: 1 – «Запад»; 2 – «Восток»; 3 – «A2+»; 4 – «A2-»; 5 – «Контроль»; 6 – «Основание хребтика».

Благодарности. Работа была частично поддержана грантом РФФИ 16-34-00199.

ЛИТЕРАТУРА

- Боярских И. Г., Сысо А. И., Худяев С. А. Изменчивость элементного состава *Lonicera caerulea* (Caprifoliaceae) в популяциях Горного Алтая // Раст. ресурсы., 2013. – Вып. 4. – С. 571–585.
- Singh R. J. Plant Cytogenetics – 2nd ed. – Boca Raton: CRC Press, 2003. – 488 p.
- Urry L. A., Cain M. L., Wasserman S. A. et al. Campbell Biology in Focus – 14th ed. – New York: Pearson Education, 2013. – 1080 p.
- Алов И. А. Цитофизиология и патология митоза. – М.: Медицина, 1972. – 264 с.
- Glantz S. A. Primer of Biostatistics. – 7th ed. – New York, NY: McGraw-Hill, 2012. – 320 p.