

<http://mbiomorph67.ru/>
<http://mbiomorph67.ru/N-78-html/cont.htm>
<http://mbiomorph67.ru/N-78-html/TITL-78.htm>

<http://sgma.alpha-design.ru/MMORPH/TITL.HTM>
<http://sgma.alpha-design.ru/MMORPH/N-78-html/TITL-78.htm>
<http://sgma.alpha-design.ru/MMORPH/N-78-html/cont.htm>

УДК 58.01/07

МОРФОЛОГИЯ СЕМЯН *VACCINIUM ULIGINOSUM* L. В УСЛОВИЯХ ПРОМЫШЛЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

© 2023 г. Комалетдинова Э. М., Яковлева О. В., Анисимова Г. М.

Кустарнички *Vaccinium uliginosum* L. могут произрастать в условиях сильного промышленного загрязнения. Комплексное сравнительное исследование морфологии семян с помощью светового микроскопа (*Biomat, Russia* и *Axio Scope 1, Zeiss, Germany*), сканирующего (*JSM – 35, JEOL, Japan*) и просвечивающего (*BS-500, Tesla, Czechoslovakia*) позволило выявить видовые особенности строения семян *Vaccinium uliginosum* L. и обнаружить отклонения у семян, сформировавшихся в зоне загрязнения. Для исследования семена *Vaccinium uliginosum* L. были собраны в период диссеминации в фоновых сосняках Мурманской области (контроль) и в зоне деградации лесных сообществ, на расстоянии 65 (контроль) и 5 км от комбината цветной металлургии, соответственно. Комбинат с 1960 г. выбрасывает в атмосферу тонны оксида серы и пыль тяжелых металлов, что привело к изменению рН почвы - 2,1 – 2,8, а содержание никеля и меди более чем в 10 раз выше, чем в контроле. Общее число семян в ягоде и длина крупных семян, сформировавшихся в 5 км от комбината, были значимо меньше, чем в контроле. Показано, что метрические характеристики семян, сформированные на разном расстоянии от комбината - имеют разные уровни изменчивости. Жизнеспособность семян (крупная фракция семян в ягоде) оказалась ниже на 50% у семян, сформировавшихся в 5 км от комбината, чем в контроле. Кроме того, в период 3-х месячной стратификации, 75% семян из зоны загрязнения погибали вследствие поражения штаммами *Penicillium* sp., *Arthriniium* sp. и *Gliocladium deliquescens*. Снижение резистентности семян к воздействию патогенной микрофлоры может быть связано с нарушением формирования семенной кожуры, так как у семян, собранных в 5 км от комбината, толщина наружных и внутренних эпидермальных периклинальных клеточных стенок семенной кожуры была значимо меньше, чем в контроле. Отмечены изменения в составе масел семян, собранных в зоне деградации лесных экосистем. Нарушения в развитии зародыша и эндосперма как у семян, сформировавшихся в условиях промышленного загрязнения, так и

в контроле не превышали 10%. Однако в условиях промышленного загрязнения встречались семена с гипертрофией тканей зародыша (гипокотилья) и/или эндосперма, а в контроле с недоразвитием зародыша и/или эндосперма.

Ключевые слова: промышленное загрязнение, семенная кожура, жизнеспособность, семена, зародыш, эндосперм, *Vaccinium uliginosum* L., изменчивость.

Вблизи предприятий, выбрасывающих диоксид серы, рН почвы достигает величины 2,1–2,8. Вокруг ОАО «Кольская ГМК» (далее – комбината), зона техногенной пустоши (полной деградации экосистем) простирается на расстоянии от 5 до 10 км в зависимости от направления ветров. Ежегодное выпадение соединений серы на поверхность почвы составляло 20 - 30 т/км², полиметаллической пыли, состоящей из: никеля, меди, марганца, цинка, - 60 т/км². Органогенный горизонт почвы разрушен, на дневную поверхность выходят минеральные почвенные горизонты (подзолистые и иллювиально-гумусные). Над этими горизонтами имеется тонкий (0,5 - 2 см) техногенный серый пылевато-супесчаный горизонт, в котором, вблизи комбината, концентрируется до 7 % никеля. Однако растения видов р. *Vaccinium* произрастают и в 5 км от комбината. Необыкновенную способность представителей семейства *Ericaceae*, в частности, *V. uliginosum* L., произрастать на почве с высокой концентрацией тяжелых металлов отмечал целый ряд исследователей (Di Labio, Rencz, 1980; Czuchajowska, Straczek, 1981; Shaw, 1981; Influence..., 1990; Lianguzova, Maznaia, 1996; Maznaia, Anisimova, 1997; Turnau et al., 1998, Salemaa et al. 1999; Zaufal, 2000; Anisimova et al, 2000; Uhlig et al. 2001; Komaletdinova, 2004; Zvereva, Kozlov, 2005). Однако ее удивительная способность выживать и продуцировать семена в экстремальных условиях практически не изучена. В литературе встречаются данные о влиянии промышленного загрязнения на жизнеспособность семян *V. uliginosum* L. (Lianguzova, Maznaia, 1996; Maznaia, Lianguzova, 1997; Komaletdinova, 2004), но исследования носят фрагментарный характер, а причины изменения жизнеспособности семян или их отсутствия, как правило, не раскрыты. Работы, посвященные влиянию промышленного загрязнения на строение семян *V. uliginosum* L. в литературе отсутствуют, хотя анатомия и биохимия всегда тесно связаны между собой. Строение семян определяет их биологические свойства. Однако работы, посвященные по исследованию анатомии в связи с влиянием на них различных факторов, единичны (Atwater, 1980; Egerton-Warburton, 1998; Keeley, Fotheringham, 1997; Briggs et al, 2005). В частности, Louise M. Egerton-Warburton (Egerton-Warburton, 1998) отмечала изменения поверхности семян *Emmenanthe penduliflora* Benth (*Hydrophyllaceae*), а также изменения в строении кутикулы эндосперма под воздействием дыма пожаров на растения.

Малочисленность особей, произрастающих в районе сильного загрязнения, фрагментарность и противоречивость литературных данных о

семенном размножении видов р. *Vaccinium* вносят дополнительную сложность в проблематику.

Крайне мало работ по исследованию морфологии и анатомии семян *V. uliginosum* (Nikitin, Pankova, 1982; Chernyakovskaya, 1992).

Целью настоящей работы являлось - изучить как разные условия произрастания окажут влияние на морфологические показатели семян *V. uliginosum* L. и их изменчивость.

Материал и методика

После стратификации проводили микробиологический анализ семян. Выделение и культивирование микромицетов проводили на плотных питательных средах: картофельно-глюкозный агар (КГА) и среде Чапека-Докса. Микромицеты выращивали в течение 3-10 суток при 28°C (Кураков, 2001). Идентификацию проводили по морфологическим признакам (Литвинов, 1967; Кириленко, 1977; Кураков, 2001).

Состав картофельно-глюкозного агара (КГА) (г/л): картофель – 200, глюкоза – 20, агар – 18, стрептомицин – 0.5.

Состав среды Чапека: сахароза – 30; NaNO₃ – 2; KН₂PO₄ – 1; MgSO₄·7H₂O – 0,5; KCl – 0,5; FeSO₄ – 0,01; CaCO₃ – 3; агар-агар – 20.

Сбор материала для анатомо-морфологического исследования семян голубики топяной (*Vaccinium uliginosum* L.) проводили в 1997 и 1999 гг. на расстоянии 65 (контроль) и 5 км (зона деградации лесных сообществ) от комбината по выплавке цветных металлов на постоянных пробных площадях, заложенных в 1980 гг. сотрудниками лаборатории экологии растительных сообществ БИН РАН. Пробные площади были сопоставимы по основным таксационным показателям древостоя, видовому составу травяно-кустарничкового яруса и мохово-лишайникового покрова (Influence..., 1990).

Для световой микроскопии ягоды сразу же после сбора фиксировали в смеси FAA (70% этиловый спирт, 40% формалин, ледяная уксусная кислота в соотношении 14,3:1:1). Обработка материала проводилась по общепринятой методике (Pausheva, 1974). Срезы толщиной 12 мкм окрашивали различными красителями реагентом Шиффа по Фельгену с контрастированием алциановым синим и гематоксилином по Эрлиху; генциан-виолетом по Ньютону с подкрашиванием оранжем «G» в гвоздичном масле. Были также использованы гистохимические методы: ШИК – реакция (Jensen, 1965); проционовыми красителями для одновременного выявления белков и нерастворимых углеводов (Ivanov, Litinskaia, 1967).

Исследование проводилось с помощью микроскопов разного типа: светового микроскопа марки МБС-10 (Biolam, Russia) и *Axio Scope 1* (Zeiss, Germany), сканирующего электронного микроскопа (СЭМ) *JSM – 35*, (JEOL, Japan), трансмиссионного микроскопа (ТЭМ) *BS-500* (Tesla, Czechoslovakia).

Для исследования семян с помощью трансмиссионного микроскопа (ТЭМ) семена фиксировали в смеси глутаральдегид-формальдегид на 0,1М фосфатном буфере, промывали фосфатным буфером и затем проводили дофиксацию 2%-й четырехокисью осмия. Материал обезвоживали в серии ацетонов возрастающих концентраций и заливали в смесь эпона с аралдитом.

Из материала, залитого в эпоксидную смолу, приготавливали полутонкие (1 мкм) и ультратонкие (70 нм) срезы на ультрамикротоме Ultracut E (Reichert-Jung). Полутонкие срезы окрашивали толуидиновым синим. Ультратонкие срезы окрашивали по методике Т. S. Reynolds (Reynolds, 1963) 2% цитратом свинца.

При описании микроструктуры семян использовали терминологию, предложенную в работах W. Barthlott и N. Ehler (Barthlott, Ehler, 1977).

Статистическая обработка данных произведена в соответствии со стандартными методиками (Glantz, 1999; Lakin, 1990) с помощью программ Microsoft Excel 2003, Statistica 8.0. Используя необходимые формулы, вычислили среднее значение ($\bar{x} \pm S.E.$), а также коэффициент вариации (CV, %). Изменчивость каждого признака оценивали по значению коэффициента вариации (Cv, %) с помощью шкалы Мамаева (Мамаев, 1972): очень низкий — (Cv < 7 %); низкий — (Cv 8–15 %); средний — (Cv 16–25 %); повышенный — (Cv 26–35 %); высокий — (Cv 36–50 %); очень высокий — (Cv > 50 %).

Для оценки значимости различий выборки данных проверяли на нормальность по критерию Шапиро – Уилка (*W*-test). В случае если выборка подчинялась нормальному закону, то при проверке статистических гипотез применяли параметрические критерии Фишера (*F*-test) и *t* – Стьюдента (*t*-test), а если полученные данные не соответствовали критериям нормального распределения, то критерий Левена (*L*-test) и Уитни-Манна (*U*-test). Различия признавались статистически значимыми на уровне $p < 0,05$.

Результаты исследования

При проращивании семян обнаружили снижение, на 75%, жизнеспособности семян из района загрязнения (5 км от комбината) по сравнению с контролем, которое было вызвано поражением их штаммами *Penicillium* sp., *Arthrimum* sp. и *Gliocladium deliquescens*.

Установили, что в зоне сильного уровня техногенного загрязнения (5 км от комбината) в ягодах *V. uliginosum* L. (n=25) формируется меньше семян - $35,2 \pm 3,2$ шт. (табл. 1).

По результатам проверки выборок на нормальность с помощью критерия Шапиро-Уилка (табл. 1), при сравнении средних значений по количеству общего числа семян в одной ягоде применили классический параметрический метод *t*-тест Стьюдента. Обнаружили, что в фоновых условиях формируется больше на 31% семян, чем в условиях промышленного

загрязнения, с помощью t-критерия Стьюдента установили, что различия между средними значениями значимы ($p=0,018$, $p < 0,05$).

Таблица 1.

Количество семян в ягодах, собранных на различном расстоянии от комбината цветной металлургии (65 - контроль и 5 км)

Table 1.

The number of seeds in the berries collected at different distance (65 – control and 5 km) from the plant

Параметры	крупные	крупные невыполненные	средние	мелкие	общее число семян в ягоде
Количество ($\bar{x} \pm S.E.$), шт.	$\frac{19,2 \pm 2,2}{17,6 \pm 2,3}$	$\frac{2,2 \pm 0,5}{1,3 \pm 0,3}$	$\frac{7,0 \pm 1,3}{4,1 \pm 0,8}$	$\frac{24,5 \pm 3,6}{13,6 \pm 1,7}$	$\frac{50,7 \pm 5,4}{35,2 \pm 3,2}$
Размах варьирования	$\frac{45}{41}$	$\frac{6}{3}$	$\frac{25}{15}$	$\frac{76}{31}$	$\frac{104}{66}$
Дисперсия	$\frac{118,2}{137,3}$	$\frac{5,8}{2}$	$\frac{41}{17}$	$\frac{331}{74,2}$	$\frac{728,1}{261,8}$
Коэффициент вариации, %	$\frac{56,8}{66,7}$	$\frac{112}{107}$	$\frac{91}{101}$	$\frac{74,3}{63,3}$	$\frac{53,2}{46}$
Частота встречаемости в ягоде, %	$\frac{100}{100}$	$\frac{60}{60}$	$\frac{80}{96}$	$\frac{100}{100}$	-
Критерий Шапиро-Уилка SW-W	$p=0,004$ $p=0,002$	$p=0,0008$ $p=0,0008$	$p=0,015$ $p=0,0001$	$p=0,02$ $p=0,14$	$p=0,15$ $p=0,37$
Критерий Уитни Манна	$p=0,77$	$p=0,54$	$p=1$	$p=1$	-
t-критерий Стьюдента	-	-	-	-	$p=0,018$

Примечание: в этой и других таблицах над чертой – показатели семян, сформировавшихся в фоновых условиях, под чертой – показатели семян, сформировавшихся в условиях промышленного загрязнения, \bar{x} - среднее арифметическое, S.E. – стандартная ошибка, * - различия достоверны на уровне значимости 0,05.

Note: above the line - seeds formed in unpolluted conditions, below - seeds formed under industrial pollution, \bar{x} - arithmetic mean, S.E. - the standard error, differences are significant at 0,05 significance level.

Семена *V. uliginosum* L. визуально, по длине, можно разделить на три группы или фракции: «крупные», «средние» и «мелкие». Длина «крупных» семян более 1 мм, «средних» от 1 до 0,5 мм, мелких менее 0,5 мм. Кроме того, следует выделить еще одну группу семян «крупные невыполненные». Это «крупные» семена, сильно уплощенные в направлении рафе-антирафе, так называемые, «щуплые» семена (ГОСТ 20290-74). Крупные семена встречались во всех исследованных ягодах (табл. 1). Крупные невыполненные семена встречались в 15 из 25 исследованных ягод, т.е. в 60% ягод так же, как в контроле. Семена «средней» фракции все были невыполненные и встречались в 24 из 25 исследованных ягодах, что составило 96%. В контроле частота их встречаемости была ниже – 80%. Следует отметить, что в фоновых условиях среди фракции «средних» семян встречались выполненные семена (в 2 из 25 исследованных ягодах) – 6,8% ($n=176$). «Мелкие» семена так же, как

«крупные» встречались во всех исследованных ягодах ($n=25$) и все были невыполненные ($n=340$) независимо от уровня промышленного загрязнения.

Подсчет количества «крупных», «крупных невыполненных», «средних» и «мелких» семян выявил, что количество семян в условиях сильного промышленного загрязнения снижалось на: 1,7; 0,9; 2,9; 10,9, - штук в пересчете на одну ягоду, соответственно. Для оценки различий между выборками «крупных», «крупных невыполненных», «средних» и «мелких» семян использовали непараметрический критерий Уитни-Манна (U -test), так как результаты теста Шапиро-Уилка указали на то, что распределения статистически значимо отличны от нормального как для исследования в фоновых условиях, так и для исследования в условиях промышленного загрязнения. Критерий Уитни-Манна показал, что обнаруженные нами различия статистически не значимы (табл. 1).

Количество семян в ягодах *V. uliginosum* L. сильно варьирует, на что указывают размах варьирования, дисперсия и коэффициент вариации (табл. 1). Однако следует обратить внимание на то, что в условиях промышленного загрязнения размах варьирования в условиях сильного промышленного загрязнения, снижается. Размах варьирования общего числа семян в ягоде, числа «крупных», «крупных невыполненных», «средних» и «мелких» семян в условиях промышленного загрязнения уменьшается в: 1,1; 2; 1,7; 2,5; 1,6 раза, - соответственно. Так как, размах варьирования не всегда годится для оценки рассеивания и может быть результатом необычного события или статистической ошибки, то мы провели оценку дисперсий. Дисперсии (разброс) значений общего числа семян в ягоде, числа «крупных», «крупных невыполненных», «средних» и «мелких» семян в условиях промышленного загрязнения ниже, чем в фоне в: 1,16; 2,9; 2,4; 4,5; 2,8 раз, - соответственно. Оценка различий дисперсий по критерию Левена (L -test) выявила, что значимыми различия были: по общему числу семян в ягоде ($p=0,03$, L -test), количеству «крупных невыполненных» ($p=0,045$, L -test), количеству «мелких» ($p=0,01$, L -test) семян.

Коэффициент вариации является не только характеристикой однородности выборки, но и показателем изменчивости признака по шкале Мамаева. Степень изменчивости по количеству семян в ягодах, собранных в фоновых условиях и в условиях промышленного загрязнения была высокая (количество «средних» семян) и очень высокая (табл. 1) независимо от уровня промышленного загрязнения.

Поскольку общее число семян в ягоде складывается из «крупных», «крупных невыполненных», «средних» и «мелких» семян мы предположили, что в условиях промышленного загрязнения, возможно, изменяются их доли (табл. 2). Процентное соотношение различных фракций семян в ягоде можно представить в виде: «крупные»: «крупные невыполненные»: «средние»: «мелкие». В фоновых условиях и в условиях промышленного загрязнения процентные соотношения различных фракций семян в ягодах сопоставимы:

3,9:1:1,2:4,2 (контроль) и 6:1:1,6:5,1. Для оценки различий между выборками «крупных», «крупных невыполненных», «средних» и «мелких» семян использовали непараметрический критерий Уитни-Манна, который показал, что значимые различия отсутствовали (табл. 2).

Таблица 2.

Доля семян различных фракций в ягодах *V. uliginosum* L., собранных на различном расстоянии от комбината цветной металлургии (65 - контроль и 5 км)

Table 2.

The proportion of various fractions seeds from the *V. uliginosum* L. berries collected at different distance (65 – control and 5 km) from the plant

Параметры	крупные	крупные невыполненные	средние	мелкие
Доля ($\bar{x} \pm S.E.$), %	$\frac{42,0 \pm 3,6}{49,1 \pm 3,4}$	$\frac{10,7 \pm 2,4}{7,6 \pm 1,7}$	$\frac{12,8 \pm 2,0}{12,5 \pm 2,0}$	$\frac{45,2 \pm 3,3}{38,5 \pm 3,6}$
Критерий Шапиро-Уилка SW-W	$p=0,02$ $p=0,07$	$p=0,002$ $p=0,0005$	$p=0,12$ $p=0,02$	$p=0,44$ $p=0,08$
Критерий Уитни-Манна	$p=1$	$p=1$	$p=1$	$p=1$

Длина крупных семян, сформировавшихся в условиях промышленного загрязнения меньше, чем в контроле на 8% (табл. 3). Сравнение проводили по критерию Уитни-Манна, так как тест Шапиро-Уилка показал, одна из сравниваемых выборок не подчиняется нормальному распределению. Критерий Уитни-Манна показал значимость различий ($p=0,004$, U -test). Ширина крупных семян не зависела от места их сбора ($p=0,431$, U -test) (табл. 3).

Таблица 3.

Размеры семян *V. uliginosum* L., сформировавшихся на различном расстоянии от комбината (65 - контроль и 5 км)

Table 3.

Size of *V. uliginosum* L. seeds collected at different distance (65 – control and 5 km) from the plant

Параметры	Группы семян					
	Крупные		Средние		Мелкие	
	длина	ширина	длина	ширина	длина	ширина
Размеры ($\bar{x} \pm S.E.$), мм	$\frac{1,56 \pm 0,023}{1,43 \pm 0,03}$	$\frac{0,61 \pm 0,01}{0,63 \pm 0,013}$	$\frac{0,82 \pm 0,06}{0,99 \pm 0,04}$	$\frac{0,36 \pm 0,03}{0,37 \pm 0,02}$	$\frac{0,44 \pm 0,01}{0,5 \pm 0,01}$	$\frac{0,21 \pm 0,005}{0,22 \pm 0,008}$
Дисперсия	$\frac{0,023}{0,07}$	$\frac{0,01}{0,010}$	$\frac{0,07}{0,04}$	$\frac{0,02}{0,006}$	$\frac{0,01}{0,009}$	$\frac{0,003}{0,006}$
Размах варьирования	$\frac{0,6}{1,3}$	$\frac{0,3}{0,35}$	$\frac{0,95}{0,85}$	$\frac{0,42}{0,25}$	$\frac{0,45}{0,5}$	$\frac{0,35}{0,5}$

Количество измерений	$\frac{45}{60}$	$\frac{45}{60}$	$\frac{22}{22}$	$\frac{22}{22}$	$\frac{133}{98}$	$\frac{133}{98}$
Коэффициент вариации, %	$\frac{9,7}{18,1}$	$\frac{13,8}{16,2}$	$\frac{31,8}{20,2}$	$\frac{36,7}{21,5}$	$\frac{22,5}{18,6}$	$\frac{25,2}{33,7}$
Критерий Шапиро-Уилка SW-W	$\frac{p=0,02}{p=0,13}$	$\frac{p=0,02}{p=0,004}$	$\frac{p=0,61}{p=0,06}$	$\frac{p=0,05}{p=0,12}$	-	-

Длина семян средней фракции, сформировавшихся в условиях промышленного загрязнения, была, напротив, больше, чем в контроле на 17%. Тест Шапиро-Уилка показал, что обе выборки подчиняются нормальному распределению (табл. 3), поэтому для сравнения средних использовали параметрический *t*-критерий Стьюдента для выборок с одинаковыми дисперсиями. Установили, что различия значимы ($p=0,02$, *t*-test). Выборки по ширине средних семян также подчиняются нормальному распределению. С помощью *t*-критерия Стьюдента для выборок с разными дисперсиями, установили отсутствие различий ($p=0,68$, *t*-test).

У фракции мелких семян, сформировавшихся в условиях промышленного загрязнения, длина больше на 12%, чем в контроле. Так как количество значений достаточно большое в обеих выборках, то для сравнения средних использовали *t*-критерий Стьюдента с равными дисперсиями. Анализ показал, что различия значимы ($p=2,2 \times 10^{-6}$, *t*-test). Различия по ширине мелких семян не были значимыми ($p=0,19$, *t*-test) согласно *t*-критерию Стьюдента с равными дисперсиями.

Дисперсия по длине и ширине семян, сформировавшихся в условиях промышленного загрязнения, так и в фоновых условиях, была ничтожно мала. Так, в условиях промышленного загрязнения она колебалась от 0,003 до 0,07, а фоновых - от 0,006 до 0,07.

Оценка коэффициентов вариации (Cv) размеров семян выявила, что у семян из фоновых условий значения коэффициентов сильнее варьировали 9,7 - 36,7%, чем у семян из зоны загрязнения 16,2 – 33,7%. Самые низкие значения коэффициентов вариации и низкий уровень изменчивости были у «крупных» семян, сформировавшихся в фоновых условиях (табл. 3). У семян «крупной» фракции, сформировавшихся в условиях промышленного загрязнения, уровень изменчивости был средний.

Окраска семян, сформировавшихся в условиях промышленного загрязнения, всех трех фракций однотонная, от темно-коричневой до ярко-вишневой, т.е. такая же, как у семян, сформировавшихся в фоновых условиях. По характеру светопреломления семена матовые.

Форма семян разнообразна. В пределах одного плода могут встречаться семена: эллипсоидные (табл. I – 1, 8), каплевидные (табл. I – 2, 9), веретеновидные (табл. I – 3), ладьевидные (табл. I – 4, 10), серповидные, чешуйчатые (11), - как в условиях промышленного загрязнения (табл. I – 8 - 11), так и в фоновых (табл. I – 1 -7). Семена, обычно удлинённые по оси

микропиле халаза (табл. I – 1, 2, 3, 4, 6, 7), в большей или меньшей степени выпуклые со стороны антирафе и вогнутые со стороны рафе (табл. I – 1, 2, 3). Семенной рубчик кратерообразный, вентральный (табл. I – 3) расположен под микропиле.

Для фракции «крупных» семян более характерны веретеновидная (табл. I – 1, 8) и каплевидная (табл. I – 2, 9) формы. Семена «средней» (табл. I – 4-6 и 10) и «мелкой» фракций (табл. I – 7 и 11), как правило, - это различные комбинации «крупных» семян с уплощением в направлении рафе антирафе, усечением, прогибом, изгибом в разные стороны. Следует отметить, что только среди семян, сформировавшихся в фоновых условиях, в «средней» фракции встречались шаровидные семена (табл. I – 6), которые составили - 6,8% (n=176).

Установили, что первичная скульптура клеток эпидермы семенной кожуры схожа как у семян, сформировавшихся в условиях загрязнения (табл. II – 7, 8), так и в фоновых условиях (табл. II – 1 - 6). Поверхность семян сетчато-ячеистая. Каждая ячейка соответствует клетке эпидермы семенной кожуры, которые представлены полигональными клетками неправильной формы с сильно выступающими радиальными и несколько вогнутыми, к внутренней тангенциальной стенке, наружными тангенциальными клеточными стенками (табл. II – 1, 2, 4, 5, 7). Нередко радиальные клеточные стенки более или менее изогнутые, извилистые. В срединной части семени эпидермальные клетки семенной кожуры вытянуты вдоль оси микропиле халаза. Ближе к халазальному или микропилярному концам клетки более узкие и короткие (табл. I - 1 – 3; 8, 9). Поверхность наружных тангенциальных клеточных стенок эпидермальных клеток семенной кожуры покрыта сверху тончайшей пленкой (на табл. II – 4 стрелка указывает на пленку), в местах разрывах пленки хорошо видна ямчато-бугорчатая поверхность наружной периклиальной клеточной стенки (табл. II – 2, 7).

Поверхность семян трех фракций, независимо от места сбора семян: «крупных» (табл. I – 1 – 3, 8, 9; табл. II – 1, 2, 7), «средних» (табл. I – 4 – 6, 10; табл. II – 3, 4) и «мелких» (табл. II – 5, 6, 8), - схожа, несмотря на то, что границы клеток эпидермы семенной кожуры фракции «мелких» семян порой едва различимы (табл. II – 6, 8).

Исследование семян *V. uliginosum* трех фракций на светооптическом выявило, что:

- семена «мелкой» фракции не содержат зародыш и эндосперм в 100% случаев, независимо от места сбора семян (табл. III - 7). Они, как правило, представлены экзотестой с остатками средних слоев интегумента и халазы;

- семена «средней» фракции, сформировавшиеся в условиях промышленного загрязнения (табл. IV - 5), были с отклонениями в развитии зародыша (отсутствует, шаровидный или торпедовидный) и эндосперма (скудный, гетерогенный), те же отклонения в развитии были у семян, сформировавшихся в фоновых условиях (табл. III – 5, 6). Исключение,

составлял небольшой процент (6,8%), так называемых, шаровидных семян, которые встречались только в фоновых условиях. У шаровидных семян был торпедовидный зародыш и обильный эндосперм (табл. III - 4);

- семена «крупной» фракции отличаются от предыдущих двух фракций тем, что более чем на 90% состоят из полноценных семян, т.е. с нормальноразвитым зародышем и обильным эндоспермом (табл. III – 1; IV – 1, 2). Достоверных различий по количеству полноценных семян в зависимости от места их сбора обнаружено не было. Так, в фоновых условиях доля полноценных семян составила $91,7 \pm 10,5\%$ ($n=129$), а в условиях промышленного загрязнения - $95,2 \pm 6,8\%$ ($n=90$). У семян, сформировавшихся в условиях промышленного загрязнения, к тем отклонениям в развитии, что встречались у семян из фонового района (укороченный¹ (табл. III - 2), шаровидный² (табл. III - 3), торпедовидный³ зародыши при обильном эндосперме) добавились еще семена с гиперплазией тканей: разрастание тканей гипокотила ($0,68 \pm 0,68\%$) (табл. IV - 3) и вырост эндосперма ($1,13 \pm 1,13\%$) (табл. IV - 4). Однако количество семян с отклонениями было небольшим и составляло $8,3 \pm 5,6$ (контроль), против $4,75 \pm 4,75\%$ (загрязнение).

Нормальноразвитый, обильный эндосперм – это эндосперм, который состоит более чем из 9 слоев клеток (табл. III - 1 и IV – 1, 2). В микропиллярном и халазальном концах сохраняются терминальные гаустории. Клетки эндосперма, окружающие зародыш (2-3 слоя) лизируются, образуя вокруг него полость (табл. III – 1 и IV – 1, 2).

¹ Зародыш называли «укороченным», если его длина составляла около 30% семени, ширина около 30% его длины, а семядоли 20% длины зародыша.

² Зародыш в шаровидной стадии не дифференцирован на органы будущего растения, а проходит развитие от образования эмбриодермы до инициации семядолей. Длина его составляет – 8%, а ширина 72% длины семени.

³ Зародыш в торпедовидной стадии. Длина его составляет – 30-47%, а ширина 18-30% длины семени.

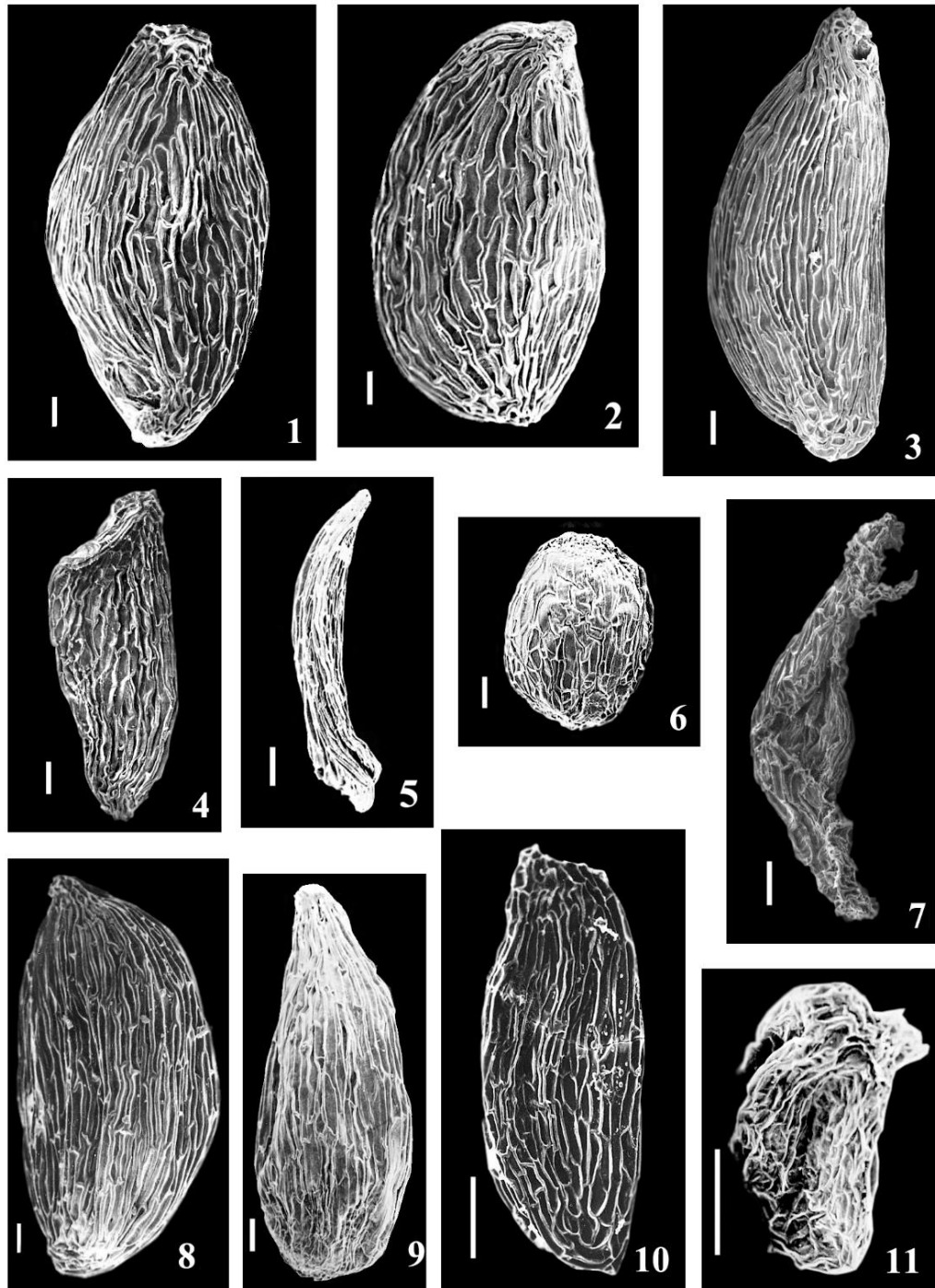


Таблица I. Морфология семян *V. uliginosum* L. собранных в фоновых (1 - 7) и загрязненных (8 - 11) сосняках Мурманской области. 1 - 3 и 8 - 9 - крупные семена, 4 - 6 и 10 - средние, 7 и 11 - мелкие. Масштабная линейка: 100 мкм.

Plate I. Scanning electron micrographs of *V. uliginosum* L. seeds collected in unpolluted (1 - 7) and polluted (8 - 11) pine forests of Murmansk Region. 1 - 3 and 8 - 9 - large seeds, 4 - 6 and 10 - middle-sized seeds, 7 - 11 - small-sized seeds. Scale bar: 100 mkm.

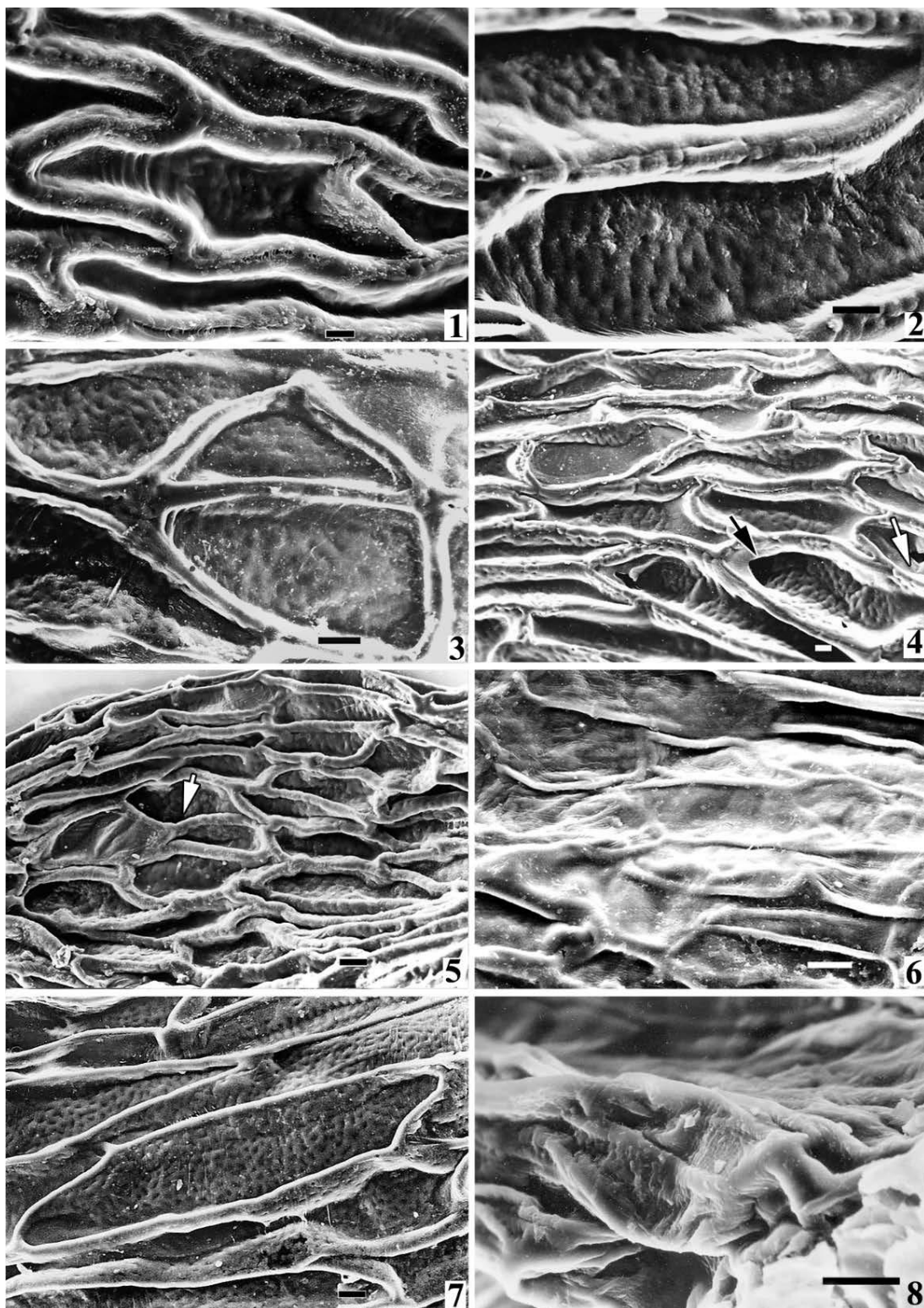


Таблица II. Поверхность семенной кожуры семян *V. uliginosum* L. собранных в фоновых (1 - 6) и загрязненных (7, 8) сосняках Мурманской области. Масштабная линейка: 1, 2 - 10 мкм. Примечание: стрелкой указаны места разрыва поверхности наружной переклиальной клеточной стенки.

Plate II. Scanning electron micrographs of the seed surfaces of *V. uliginosum* L. seeds collected in unpolluted (1 - 6) and polluted (7, 8) pine forests of Murmansk Region. Scale bar: 1, 2 – 10 mkm. Note: the arrow indicates the ruptured surface of the periclinal outer cell wall.

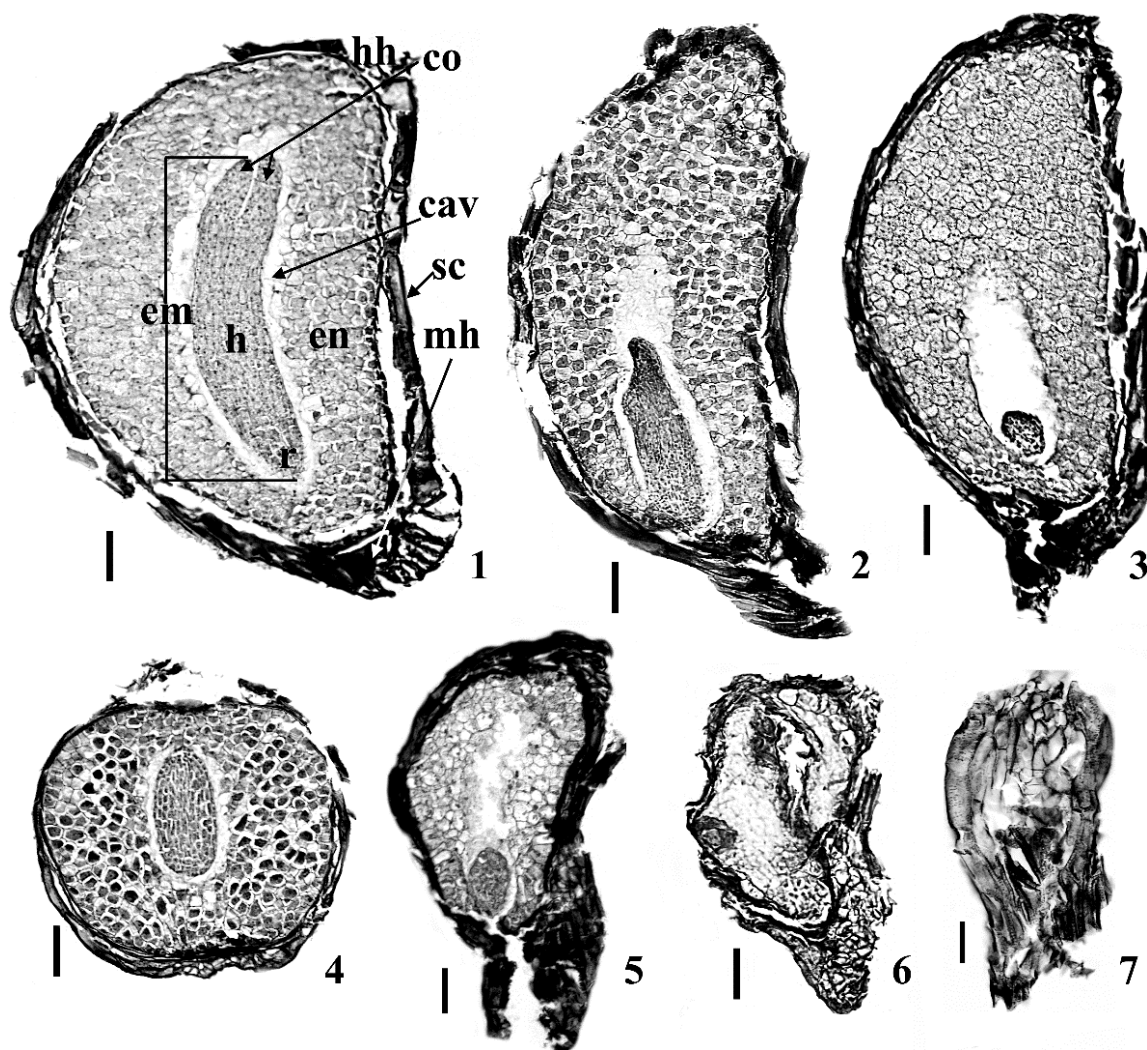


Таблица III. Строение семян *V. uliginosum* L. собранных в фоновых сосняках Мурманской области.

1 – 3 фракция крупных семян: 1 - нормальноразвитое; 2 – укороченный зародыш, 3 – зародыш глобулярный; 4 – 6 фракция средних семян: 4 – шаровидное семя с торпедовидным зародышем, 5 – глобулярный зародыша и недоразвитый эндосперм, 6 – недоразвитие зародыша и эндосперма (скудный эндосперм); 7 – фракция мелких семян. Масштабная линейка: 2 мкм.

Plate III. The structure of *V. uliginosum* L. seeds collected in unpolluted pine forests of Murmansk Region. 1 - 3 large-sized seeds: 1 – normal seed; 2 - brachytic embryo 3 - globular embryo; 4 - 6 middle-sized seeds: 4 - spherical seed with a torpedo shaped embryo, 5 - globular embryo and scanty endosperm, 6 - undeveloped embryo and endosperm (scanty endosperm); 7 – small-sized seed. Scale bar: 2 mkm

Нормальноразвитый зародыш – это зародыш, который составляет 50-70% длины семени (табл. III - 1 и IV – 1, 2). Он прямой либо слабоизогнутый, продольный, цилиндрической формы дифференцирован на корешок, гипокотиль, семядоли и слабообразованную верхушечную почечку (плюмулу). У зародыша хорошо различимы стеблевой и корневой апексы и прокамбиальные тяжи. Ширина зародыша составляет 15-20% его длины. Семядоли короткие, составляют приблизительно 1/5 (15-20%) длины зародыша. Зародыш всегда одинаково ориентирован: около микропиле зародышевый корешок (радикула),

который позднее превращается в главный корень, а противоположном, халазальном конце, - две семядоли.

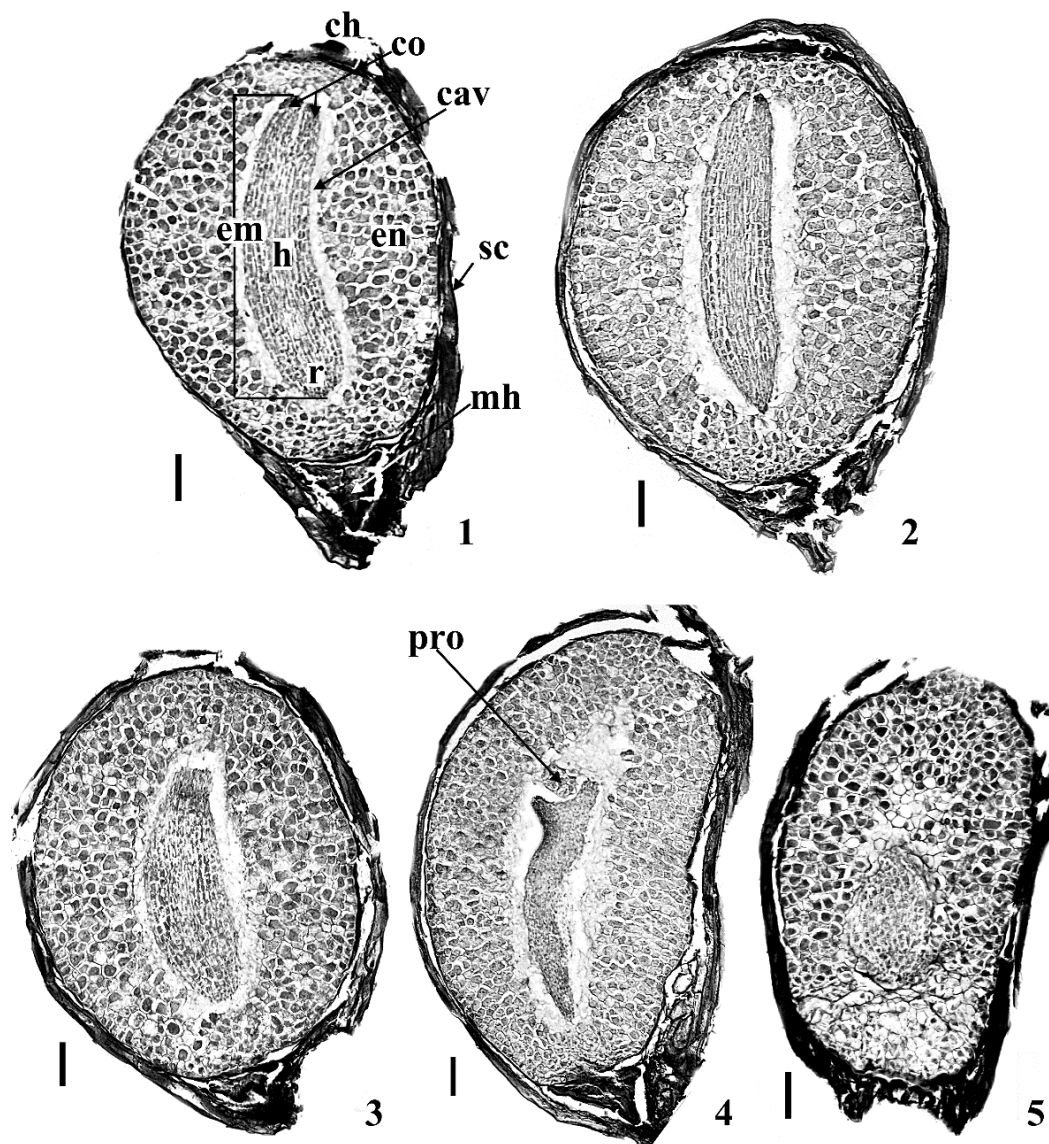


Таблица IV. Строение семян *V. uliginosum* L. собранных в загрязненных сосняках Мурманской области.

1, 2 – нормальноразвитые «крупные» семена; 3 – гипертрофированный гипокотиль, 4 - вырост эндосперма; 5 – недоразвитие зародыша, неоднородность клеток эндосперма. Масштабная линейка: 100 мкм.

Plate IV. The structure of *Vaccinium uliginosum* L. seeds formed in polluted pine forests of Murmansk Region. 1, 2 – normal large-sized seeds, 3 – hyperplasia of the hypocotyl, 4 – outgrowth of the endosperm, 5 – undeveloped embryo, heterogeneity of the endosperm cells. Scale bar: 100 mkm.

Сравнительное исследование семян *V. uliginosum*, собранных в фоновых условиях и в условиях промышленного загрязнения, на ультраструктурном уровне выявило, что независимо от места сбора семян семенная кожура, состоит из 4 - 5 слоев клеток. Из них хорошо различимы на

поперечных срезах: эпидермальный слой (экзотеста), образующий поверхность семени; субэпидермальный слой, образованный клетками с сохранившимися полостями и остатками цитоплазмы; остальные слои - облитерируют (рис. 1, табл. V – 1, 2), представляя собой бесформенные тяжи сплюснутых в тангенциальном направлении клеток.

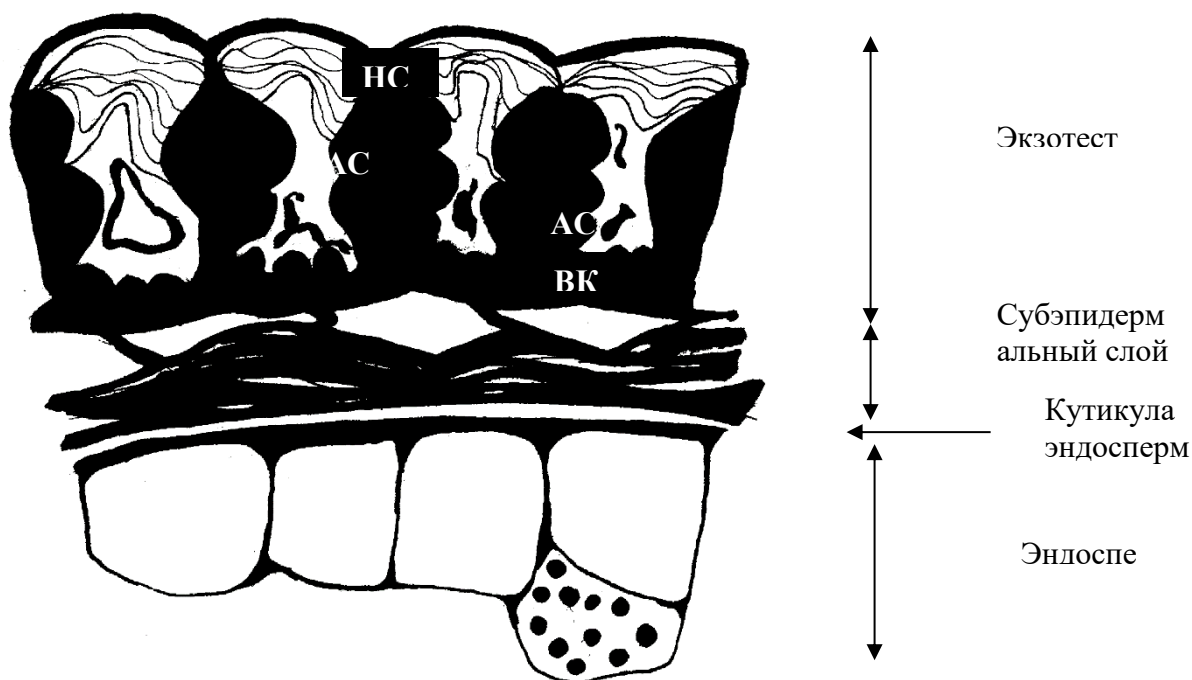


Рисунок 1. Структура семенной кожуры *V. uliginosum* L.
Figure 1. Schematic drawing of *V. uliginosum* L. seed cover

Эпидермальные клетки экзотесты представлены крупными клетками. Высота их на поперечных срезах у семян, сформировавшихся в условиях промышленного загрязнения, больше, чем в фоновых условиях и составляет $63,6 \pm 1,4$ мкм (табл. 4). При сравнении высот эпидермальных клеток экзотесты, применили классический параметрический метод Стьюдента (t – test), так как распределение высот обеих выборок, согласно критерию Шапиро-Уилка, подчинялось нормальному закону. Установили, что различия значимы ($p=2,2 \times 10^{-10}$, t - test).

В результате анализа дисперсий измеренной высоты эпидермальных клеток экзотесты установили, что величина дисперсии в условиях промышленного загрязнения в 2,6 раза больше исходной, в фоновых условиях ($p=0,0004$, F -test) (табл. 4). Степень изменчивости по высоте эпидермальных клеток семенной кожуры в условиях промышленного загрязнения средняя ($Cv=18,8\%$), а в фоновых условиях, по шкале Мамаева, низкая ($Cv=14,5\%$) (табл. 4).

Эпидермальные клетки семенной кожуры *V. uliginosum* сильно утолщены, за счет вторичных утолщений клеточных стенок, которые состоят

из двух слоев: внутреннего - гомогенного, изотропного, электронно-плотного и наружного, граничащего с полостью клеток, – гетерогенного, рыхлого, состоящего из концентрических слоев образованных мелкими *гранулами*, *фибриллами* (табл. VI – 1, 2).

Таблица 4.

Морфометрия клеток экзотесты и кутикулы эндосперма семян *V. uliginosum* L., сформировавшихся на различном расстоянии от комбината (65 - контроль и 5 км)

Table 4.

The morphometry of exotesta cells and endosperm's cuticle in *V. uliginosum* L. seeds formed at different distance (65 – control and 5 km) from the plant

Параметры	Высота эпидермальных клеток семенной кожуры	Утолщения клеточных стенок эпидермальных клеток семенной кожуры			Кутикула эндосперма
		<i>наружные</i>	<i>антикли-нальные</i>	<i>внутренние</i>	
Толщина ($\bar{x} \pm S.E.$), мкм	$\frac{51,4 \pm 1,1}{63,6 \pm 1,4}$	$\frac{17,8 \pm 2,2}{12,0 \pm 1,4}$	$\frac{12,5 \pm 0,7}{13,1 \pm 0,6}$	$\frac{9,2 \pm 0,5}{7,0 \pm 0,4}$	$\frac{0,76 \pm 0,04}{0,73 \pm 0,03}$
Дисперсия	$\frac{55,6}{143,3}$	$\frac{38,2}{19,8}$	$\frac{14,5}{10,2}$	$\frac{9,9}{3,5}$	$\frac{0,06}{0,06}$
Размах варьирования	$\frac{35,8}{56,4}$	$\frac{20,1}{12,3}$	$\frac{13,4}{14,4}$	$\frac{10}{7,2}$	$\frac{0,8}{1,4}$
Количество измерений	$\frac{48}{75}$	$\frac{8}{10}$	$\frac{33}{32}$	$\frac{37}{24}$	$\frac{40}{68}$
Коэффициент вариации, %	$\frac{14,5}{18,8}$	$\frac{34,7}{36,9}$	$\frac{30,5}{24,4}$	$\frac{34,2}{27,00}$	$\frac{33,1}{32,7}$
Критерий Шапиро-Уилка SW-W	$\frac{p=0,56}{p=0,9}$	$\frac{p=0,53}{p=0,4}$	$\frac{p=0,05}{p=0,001}$	$\frac{p=,007}{p=,076}$	$\frac{p=0,0001}{p=0,00004}$
Критерий Колмогорова Смирнова	-	-	-	-	d=0,23, p<,01

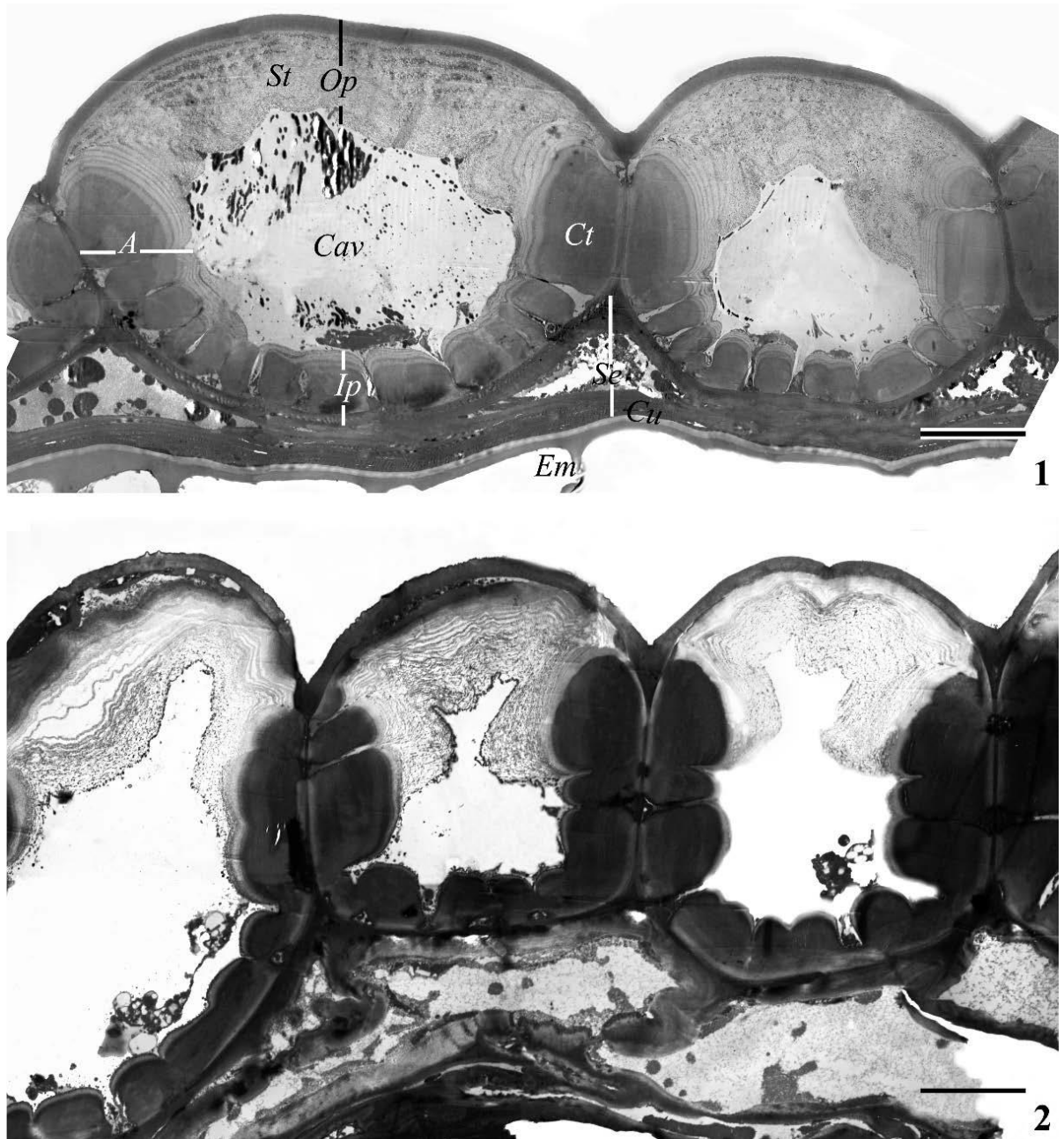


Таблица V. Строение семенной кожуры *V. uliginosum* L. у семян, собранных в незагрязненных (1) и загрязненных (2) сосняках Мурманской области. Масштабная линейка: 5 мкм.
Plate V. Ultrastructural aspects of the testa in *V. uliginosum* L. seeds unpolluted (1) and polluted (2) pine forests of Murmansk Region. Scale bar: 5 mkm.

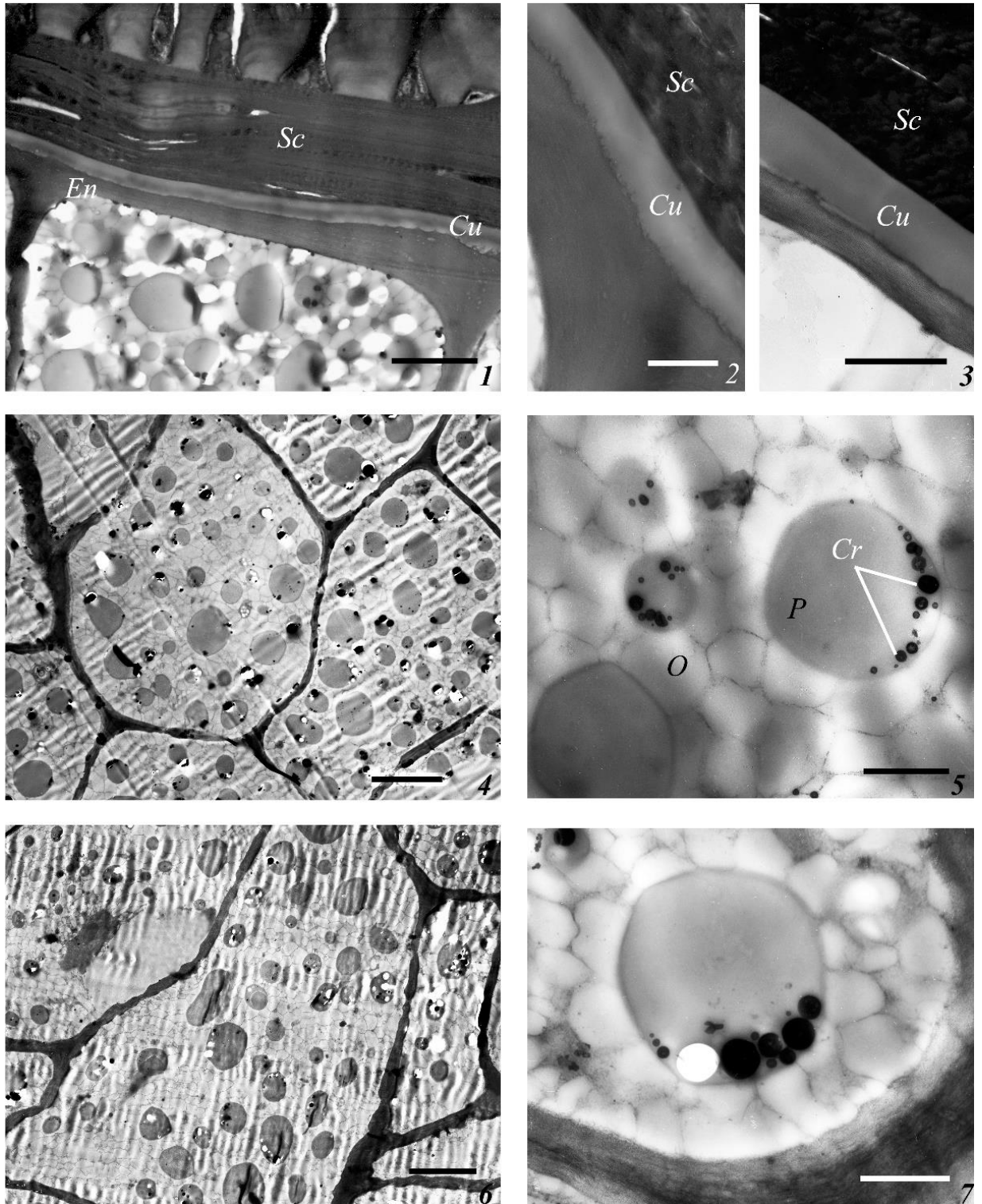


Таблица VI. Клетки эндосперма *V. uliginosum* L. на поперечных срезах семян, собранных в незагрязненных (1, 2, 4, 5) и загрязненных (3, 6, 7) сосняках Мурманской области. Масштабная линейка: 1 – 0,5 мкм; 2, 4, 6 – 5 мкм; 3, 5, 7 - 1 мкм
 Plate VI. The cells of the endosperm *V. uliginosum* L. in cross sections of the seeds collected in unpolluted (1, 2, 4, 5) and polluted (3, 6, 7) pine forests in the Murmansk region. Scale bar: 1 – 0,5 mkm; 2, 4, 6 – 5 mkm; 3, 5, 7 - 1 mkm.

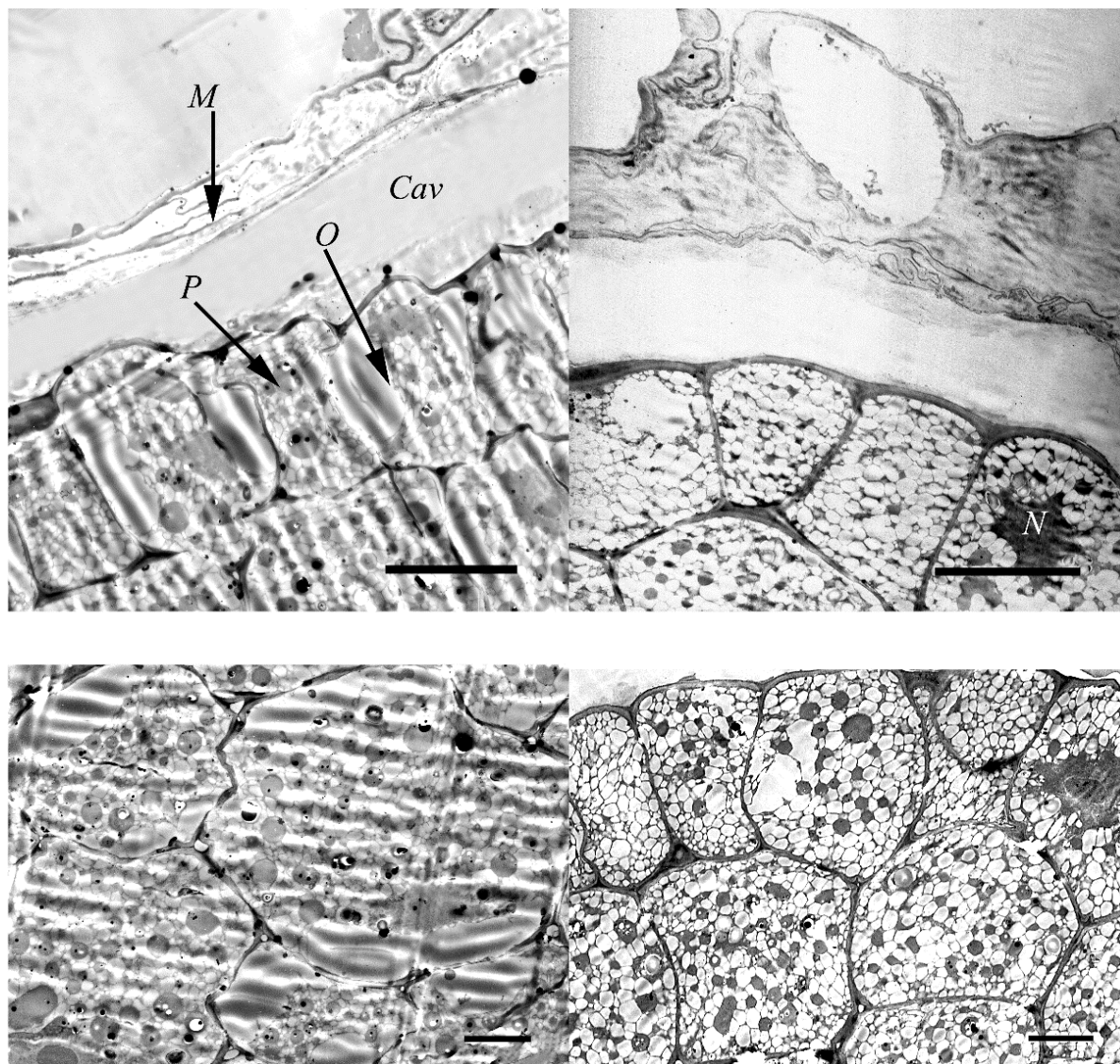


Таблица VII. Клетки зародыша *V. uliginosum* L. на поперечных срезах семян, собранных в незагрязненных (1, 3) и загрязненных (2, 4) сосняках Мурманской области. Масштабная линейка: 1, 2 - 10 мкм, 3, 4 - 5 мкм.

Plate VII. The cells of the endosperm *V. uliginosum* L. in cross sections of the seeds collected in unpolluted (1, 3) and polluted (2, 4) pine forests in the Murmansk region. Scale bar: 1, 2 - 10 mkm; 3, 4 - 5 mkm.

Гистохимический анализ выявил, что полости эпидермальных клеток семенной кожуры, независимо от места сбора семян, заполнены полисахаридной слизью, так как окрашивались толуидиновым синим в голубо-розовый цвет.

Толщина наружных периклиальных клеточных стенок у семян из района сильного загрязнения меньше, чем у семян из фонового района и составляет - $12,0 \pm 1,4$ мкм. Оценку значимости различий проводили с помощью *t*-теста Стьюдента, так как обе выборки подчинялись нормальному распределению по критерию Шапиро-Уилка (табл. 4). Установили, что различия значимы ($p=0,046$, *t*-test).

Толщина антиклинальных клеточных стенок у семян, сформировавшихся в условиях промышленного загрязнения, составила $13,6 \pm 0,9$ мкм, что немногим больше, чем в фоновых условиях. Поскольку распределение измеренных толщин в условиях загрязнения не подчиняется нормальному закону, согласно критерия Шапиро-Уилка (табл. 4), для оценки значимости различий использовали тест Уитни-Манна. Установили, что различия незначимы ($p=0,713$, U -test).

Так, внутренние переклинные клеточные стенки – самые тонкие. У семян, собранных в условиях промышленного загрязнения, они еще тоньше, чем у семян из фонового района и составляют $7,0 \pm 0,4$ мкм (табл. 4). Поскольку распределение измеренных толщин в фоновых условиях не подчиняется нормальному закону, согласно критерию Шапиро-Уилка (табл. 4), для оценки значимости различий использовали тест Уитни-Манна. Установили, что различия значимы ($p=0,001$, U -test).

Дисперсии (разброс) данных по толщине клеточных стенок эпидермальных клеток экзотесты у семян, сформировавшихся в условиях промышленного загрязнения, были меньше, чем в контроле. Оценка различий дисперсий по критерию Левена (L -test) выявила, что значимыми различия были по антиклинальным ($p=0,02$, L -test) и внутренним переклиным ($p=0,03$, L -test) утолщениям эпидермальных клеток экзотесты.

Степень изменчивости по толщине клеточных стенок эпидермальных клеток семенной кожуры колебалась от 24,4 до 36,9%, то есть степень изменчивости, по шкале Мамаева, была повышенной (табл. 4).

Наружная клеточная стенка эпидермы эндосперма покрыта кутикулой толщина, которой в условиях промышленного загрязнения составляет $0,73 \pm 0,03$ мкм (табл. VII – 1, 2, 3). Чтобы установить значимость различий, средние значения толщины кутикул эндосперма сравнивали с помощью теста Уитни-Манна, так как обе выборки не подчинялись нормальному распределению по критерию Шапиро-Уилка (табл. 4). Установили, что различия незначимы ($p=0,43$, U -test).

Дисперсия данных по толщине кутикулы эндосперма была ничтожно мала и составляла 0,06 как в фоновых, так и в условиях загрязнения. Оценка различий дисперсий по критерию Левена подтвердила отсутствие различий ($p=0,1$, L -test).

Степень изменчивости толщины кутикулы эндосперма повышенная, по шкале Мамаева, независимо от места сбора семян (табл. 4). Строение кутикулы эндосперма не зависит от места сбора семян. Она гомогенная, пронизана электронно-плотными прожилками – дендритами, которые лучше различимы на границе соединения двух клеток эндосперма.

Исследование ультраструктуры семян с применением гистохимических методов подтвердило, что запасющиеся вещества эндосперма – алейроновые зерна округлой или эллиптической формы и диффузные масла, что подтверждает данные Д. А. Телишевского (Telishevskiy, 1972) и А. А.

Никитина и И. А. Панковой (Nikitin, Pankova, 1982). Примечательно, что диффузные масла у семян, сформировавшихся в фоновых условиях, окрашиваются четырехокисью осмия в коричневый цвет на полутонких срезах, что свидетельствует о наличии в маслах ненасыщенных жирных кислот, которые присоединяют осмий по месту двойных связей. Об этом же свидетельствует то, что масла в семенах, собранных в фоновых условиях, хуже фиксировались, были более текучими, что хорошо видно на фотографиях (табл. VII – 1, 3).

В клетках зародыша обнаружены алейроновые зерна, инкрустированные кристаллоидами, амилопласты и диффузные масла, которые у семян, сформировавшихся в фоновых условиях, окрашиваются в коричневый цвет.

Обсуждение

Сравнительный анализ количества семян, сформировавшихся в условиях промышленного загрязнения и в фоновых условиях, выявил, что в целом количество семян, формирующихся в ягодах *V. uliginosum* в условиях загрязнения значительно меньше, чем в фоне. Тем не менее, количество «крупных» семян, которые, как мы выяснили, из всех 4-х фракций следует считать полноценными (жизнеспособными), значительно не изменяется. Доля «крупных» (полноценных) семян от общего числа семян в ягоде составляла менее 50% и не зависела от места их сбора. Такой небольшой процент полноценных семян в ягодах *V. uliginosum*, О. В. Лузянина (Luzianina, 2002) объясняет высокой эмбриолетальностью, которая является суммарным результатом аномалий мегаспорогенеза, опыления, оплодотворения, эмбриогенеза и эндоспермогенеза.

Степень изменчивости по количеству семян в ягодах была высокая и очень высокая, согласно шкале С. А. Мамаева (Мамаев, 1972), что говорит о широкой норме реакции по данному признаку. В условиях промышленного загрязнения дисперсия значений общего числа семян в ягоде, числа «крупных», «крупных невыполненных» и «мелких» семян значительно ниже, чем в фоне, что говорит о сужении нормы реакции, вследствие отбора особой сходного генотипа с меньшим количеством семян. Дальнейшее исследование семян их длины и ширины, выявило, что в условиях промышленного загрязнения размеры «крупных» (полноценных) семян меньше, чем в фоновых условиях, вследствие значимого уменьшения их длины. Размеры семян низкой изменчивостью, согласно шкале С. А. Мамаева (Мамаев, 1972). Небольшие значения дисперсии по длине и ширине семян, сформировавшихся как в условиях промышленного загрязнения, так и в фоновых условиях свидетельствуют о стабильности данных признаков.

Возможно, что влияние промышленного загрязнения на форму, скульптуру поверхности, цвет семян не удалось выявить из-за высокой степени полиморфизма по данным показателям в фоновых условиях.

Исследование внутреннего строения семян *V. uliginosum*, сформировавшихся в фоновых условиях и в условиях промышленного загрязнения выявило отсутствие значимых различий по числу отклонений в строении семян, что согласуется с данными, полученными Г. М. Анисимовой (Anisimova, 1998). Сравнительное исследование семян, сформировавшихся в фоновых условиях и в условиях промышленного загрязнения, выявило, что семян с нарушениями в строении было менее 10% как в фоне, так и в условиях промышленного загрязнения. Появившиеся в условиях промышленного загрязнения семена с гиперплазией тканей зародыша, эндосперма были единичны. Поэтому утверждать, что выбросы комбината цветной металлургии приводят к гиперплазии тканей - было бы некорректно.

Окрашивание полутонких срезов семян, сформировавшихся в фоновых условиях, четырехокисью осмия в темно-коричневый цвет свидетельствует о том, что масла, запасующиеся в эндосперме и зародыше, содержат большое количество двойных связей в составе жирных кислот. Об этом же говорит то, что масла в семенах из фонового района были более текучими, плохо фиксировались. Возможно, изменение соотношения насыщенных и ненасыщенных жирных кислот в маслах семян вызвано тем, что материнские растения *V. uliginosum* в зоне деградации лесных сообществ испытывают стресс как непосредственно от токсикантов (Lukina, Nikonov, 1998; Kruchkov et al, 1989), поступающих из атмосферы и почвы, так и от снижения запаса доступной для растений воды, о чем свидетельствует снижение полной влагоемкости почвы. Так, полная влагоемкость почвы в 5 км от источника загрязнения составляла $38,4 \pm 1,2\%$, против $77,6 \pm 1,9\%$ из фонового района (Komaletdinova, неопубликованные данные). Известно, что при водном дефиците соотношение жирных кислот в запасующих маслах семян сдвигается в сторону насыщенности (Qasim Ali et al., 2009; Hadi Yeilaghi et al., 2012).

Сравнительный анализ морфометрических параметров эпидермальных клеток семенной кожуры *V. uliginosum*, выявил, что у семян, сформировавшихся в условиях промышленного загрязнения, высота эпидермальных клеток семенной кожуры значимо больше, чем в фоновых условиях. Дисперсия по данному признаку в условиях промышленного загрязнения имеет более высокие значения, чем в контроле поэтому можно сделать вывод о нарушении стабильности развития, что в первую очередь, связано с нарушением метаболизма материнских растений. Одновременно с увеличением высоты эпидермальных клеток семенной кожуры достоверно уменьшается толщина наружных и внутренних переклиналильных клеточных стенок. Сокращение толщины клеточных стенок может быть связано с нарушением синтеза полисахаридов. Так, А. А. Сергеева (Sergeeva, 2007) отмечала, что даже небольшие порции тяжелых металлов - *Zn* и *Cd* в сочетании с аммиаком, сильно ингибируют синтез полисахаридов, главным образом пектинов клеточной стенки.

Вопреки ожиданиям строение и толщина кутикулы эндосперма не изменились под влиянием загрязнения. Таким образом, снижение устойчивости семян *Vaccinium uliginosum* к патогенной микрофлоре, собранных в 5 км от источника загрязнения, можно объяснить изменениями, происходящими в клеточных стенках семенной кожуры.

Благодарности

Автор выражает благодарность к.б.н. Е. А. Мазной (лаборатория экологии растительных сообществ БИН РАН им. В.Л. Комарова) и к.б.н. Л. Г. Исаевой (институт промышленной экологии г. Апатиты) за ценные замечания и предложения, а также помощь в подготовке материала к исследованию Д.И. Тазетдиновой. Мы искренне признательны всем коллегам и сотрудникам, которые помогали при работе над статьей.

ЛИТЕРАТУРА

1. [Anisimova] Анисимова Г. М. 2000. Гетероспермия. *Эмбриология цветковых растений терминология и концепции. Т. 3. Системы репродукции.* СПб, с. 279-286.
2. [Cherniakovskaia] Черняковская Е. Ф. 1992. Семейство *Ericaceae*. *Сравнительная анатомия семян.* Т.4. СПб, с. 25-35.
3. [Influence ...] *Влияние промышленного атмосферного загрязнения на сосновые леса Кольского полуострова.* 1990. Ленинград. 195 с.
4. [Ivanov, Litinskaia] Иванов В. Б., Литинская Т. К. 1967. Одновременная окраска белков и углеводов проционовыми красителями. *Цитология.* 9 (9): 1163-1165.
5. [Jensen] Дженсен У. 1965. *Ботаническая гистохимия.* М. 380 с.
6. [Kirilenko] Кириленко Т.С. Атлас родов почвенных грибов / Т.С. Кириленко. – Киев: Изд-во «Наукова думка», 1977. – 126 с.
7. [Komaletdinova] Комалетдинова Э. М. 2004. Репродуктивная способность некоторых видов р. *Vaccinium* в условиях промышленного загрязнения. Автореф. дис. канд. биол. наук. СПб. 20 с.
8. [Kurakov] Кураков, А.К. Методы выделения и характеристика комплексов микроскопических грибов наземных экосистем / А.К. Кураков. - Москва: МАКС – Пресс, 2001. – 92 с.
9. [Lakin] Лакин Г. Ф. 1990. *Биометрия.* Москва. 352 с.
10. [Litvinova] Литвинов М.А. Определитель микроскопических почвенных грибов / М.А. Литвинов. – Ленинград: Изд-во «Наука», Ленингр. отд. – 303 с.
11. [Lianguzova] Лянгузова И. В., Комалетдинова Э. М. 2003. Влияние загрязнения почвы никелем и медью на всхожесть семян и развитие всходов

трех видов р. *Vaccinium* L. в условиях вегетационного опыта. *Растительные ресурсы*. 39 (3): 88-99.

12. [Lianguzova] Лянгузова И. В., Мазная Е. А. 1996. Влияние атмосферного загрязнения на репродуктивную способность дикорастущих ягодных кустарничков сосновых лесов Кольского полуострова. *Растительные ресурсы*. 32 (4): 14-22.

13. [Lukina] Лукина Н. В., Никонов В. В. Питательный режим лесов северной тайги: природные и техногенные аспекты. Апатиты: Изд-во Кольского научного центра РАН, 1998. 316 с.

14. [Luzianina] Лузянина О. В. 2002. Репродуктивная биология брусничных (*Vacciniaceae*), перспективных для интродукции и селекции в Сибири. Автореф. дис. канд. биол. наук. Н. 24 с.

15. [Мамаев] Мамаев С. А. 1972. Формы внутривидовой изменчивости древесных растений. М. 283 с.

16. [Maznaia] Мазная Е. А., Лянгузова И. В. 1997. О репродуктивной способности ягодных кустарничков сосновых лесов Северной Карелии в условиях атмосферного загрязнения. *Растительные ресурсы*. 33 (2): 45-50.

17. [Nikitin] Никитин А. А., Панкова И. А. 1982. *Анатомический атлас полезных и некоторых ядовитых растений*. Ленинград. 767 с.

18. [Pausheva] Паушева З. П. 1974. Практикум по цитологии растений. М. с. 69–99.

19. [Sergeeva] Сергеева А. А. 2007. Влияние аммиакатов на фотосинтез, продуктивность сельскохозяйственных культур и эффективность использования удобрений. Автореф. дис. канд. биол. наук. М. 24 с.

20. [Telishevskiy] Телишевский Д. А. 1986. Комплексное использование недревесной продукции леса. М. 262 с.

21. Atwater B. R. 1980. Germination, dormancy and morphology of the seeds of herbaceous ornamental plants. *Seed Science and Technology*. 8: 523-73.

22. Barthlott W., Ehler N. 1977. Raster-Elektronenmikroskopie der Epidermis-Oberflächen von Spermatophyten. *Trop Subtrop Pflanzenwelt*. 19: 367-467.

23. Briggs C. L., Morris E. C., Ashford A. E. 2005. Investigations into Seed Dormancy in *Grevillea linearifolia*, *G. buxifolia* and *G. sericea*: Anatomy and Histochemistry of the Seed Coat. *Annals of Botany* 96: 965–980

24. DiLabio R. N. W., Rencz A. N. 1980. Relationship between levels of cooper, uranium, and lead in glacial sediments and in *Vaccinium uliginosum* at an arctic site enriched with heavy metals. *Canadian Journal of Botany*. 58 (18): 2017-2021.

25. Egerton-Warburton L. M. 1998. A smoke-induced alteration of the subtesta cuticle in seeds of the post-fire recruiter, *Emmenanthe penduliflora* Benth. (*Hydrophyllaceae*). *Journal of Experimental Botany*. 49 (325): 1317-1327.

26. Glantz S. 1999. *Primer of biostatistics*. М. 459 с.

27. Hadi Yeilaghi, Ahmad Arzani, Mostafa Ghaderian, Reza Fotovat, Mohammad Feizi, Sayyed Saied Pourdad. 2012. Effect of salinity on seed oil content and fatty acid composition of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) genotypes. *Food chemistry*. 130: 618-625.
28. Jacquermart A.-L. 1996. *Vaccinium uliginosum* L. Biological flora of the British isles. *Journal of Ecology*. 84: 771-785.
29. Keeley J. E., Fotheringham C. J. 1997. Trace gas emissions and smoke-induced seed germination. *Science*. 276: 1248-1250.
30. Komaletdinova E. M., Anisimova G. M. 1999. Heterospermy in some *Vaccinium* sp. *Acta Biologica Cracoviensia*. 41 (1): 44.
31. Reynolds T. S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *Journal of Cell Biology* 17 (1): 208-212.
32. Salemaa M., Vanha-Majamaa I., Gardner P. J. 1999. Compensatory growth of two clonal dwarf shrubs, *Arctostaphylos uva-ursi*, and *Vaccinium uliginosum* in a heavy metal polluted environment. *Plant Ecology* 141: 79–91.
33. Shaw G. 1981. Concentrations of twenty-eight elements in fruiting shrubs downwind of the smelter at Flin Flon, Manitoba. *Environmental Pollution Series A*. 25 (3): 197-209.
34. Turnau K., Wenhryniewicz O., Miskiewicz A., Mierzeńska M. 1998. Ericoid mycorrhizas in heavily polluted environments – strategies of plants, liverworts and fungi. *Proceedings of the 2nd International Conference on Trace Elements (Cieszyn, June 1998)*. Katowice, Poland: Centre for Studies on Human and Natural Environment, 27–32.
35. Uhlig I. R. Szargan, Nesbitt H. W., Laajalehto K. 2001. Surface states and reactivity of pyrite and marcasite. *Applied surface science* 179: 222-229
36. Zaufal T. 2000. Flowering biology of *Vaccinium myrtillus* and *Vaccinium vitis-idaea* in the industrially polluted environment. *Acta Biologica Silesiana* 34(51): 64-81.
37. Zvereva E. L., Kozlov M. V. 2005. Growth and reproduction of dwarf shrubs, *Vaccinium myrtillus* and *V. vitis-idaea*, in a severely polluted area. *Basic and Applied Ecology* 6 (3): 261–274.

REFERENCES

1. Anisimova G. M. 2000. Heterospermya. *Embryology of flowering plants terminology and concepts*. Vol. 3. *Reproduction System*. SPb, p. 279-286. (In Russ.).
2. Barthlott W., Ehler N. 1977. Raster-Elektronenmikroskopie der Epidermis-Oberflächen von Spermatophyten. *Trop Subtrop Pflanzenwelt*. 19: 367-467.
3. Briggs C.L., Morris E.C., Ashford A.E. 2005. Investigations into Seed Dormancy in *Grevillea linearifolia*, *G. buxifolia* and *G. sericea*: Anatomy and Histochemistry of the Seed Coat. *Annals of Botany* 96: 965–980

4. Cherniakovskaia E. F. 1992. *Ericaceae family. Comparative anatomy of seeds*. Vol.4. SPb, p. 25-35. (In Russ.).
5. DiLabio R. N. W., Rencz A. N. 1980. Relationship between levels of cooper, uranium, and lead in glacial sediments and in *Vaccinium uliginosum* at an arctic site enriched with heavy metals. *Canadian Journal of Botany*. 58 (18): 2017-2021.
6. Egerton-Warburton L. M. 1998. A smoke-induced alteration of the subtesta cuticle in seeds of the post-fire recruiter, *Emmenanthe penduliflora* Benth. (*Hydrophyllaceae*). *Journal of Experimental Botany*. 49 (325): 1317-1327.
7. Glantz S. 1999. *Primer of biostatistics*. M. 459 p.
8. Hadi Yeilaghi, Ahmad Arzani, Mostafa Ghaderian, Reza Fotovat, Mohammad Feizi, Sayyed Saied Pourdad. 2012. Effect of salinity on seed oil content and fatty acid composition of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) genotypes. *Food chemistry*. 130: 618-625.
9. *Influence of industrial air pollution on the pine forests of the Kola Peninsula*. 1990. Leningrad. 195 p. (In Russ.).
10. Ivanov V. B., Litinskaia T. K. 1967. Simultaneous coloring of proteins and carbohydrates protsionovymi dyes. *Cytology*. 9 (9): 1163-1165. (In Russ.).
11. Jacquermart A.-L. 1996. *Vaccinium uliginosum* L. Biological flora of the British isles. *Journal of Ecology*. 84: 771-785.
12. Jensen W. A. 1965. *Botanical histochemistry. Princiles and Practice*. M. 380 p. (In Russ.).
13. Keeley J. E., Fotheringham C. J. 1997. Trace gas emissions and smoke-induced seed germination. *Science*. 276: 1248-1250.
14. Kirilenko T.S. Atlas of genera of soil fungi / T.S. Kirilenko. – Kiev: Naukova Dumka Publishing House, 1977. – 126 p.
15. Komaletdinova E. M. 2004. The reproductive ability of some species p. *Vaccinium* in industrial pollution. Abstr. Cand. Diss. SPb. 20 p. (In Russ.).
16. Kriuchkov V. V., Makarova T. D. 1989. Aerotechnogenic impact on the Kola North ecosystem. *Apatiti*. 125 p. (In Russ.).
17. Kurakov, A.K. Methods of isolation and characterization of complexes of microscopic fungi of terrestrial ecosystems / A.K. Kurakov. - Moscow: MAKS – Press, 2001. – 92 p.
18. Lakin G. F. 1990. *Biometrics*. M. 352 p. (In Russ.).
19. Litvinov M.A. Determinant of microscopic soil fungi / M.A. Litvinov. – Leningrad: Publishing house "Science", Leningr. ed. – 303 p.
20. Lianguzova I. V., Maznaia E. A. 1996. Effect of soil pollution by nickel and cooper on seed germination and development of seedlings of three sp. of *Vaccinium* L. in vegetation experiment. *Rastitelnie Resursy*. 39 (3): 88-99. (In Russ.).
21. Lianguzova I. V., Maznaia E. A. 1996. The impact of air pollution on reproductive ability of wild-growing berry dwarf-shrubs in pine forests of the Kola Peninsula. *Rastitelnie Resursy*. 32 (4): 14-22. (In Russ.).

22. Lukina N. V., Nikonov V. V. 1998. Питательный режим лесов северной тайги: природные и техногенные аспекты. Apatiti. 316 p. (In Russ.).
23. Luzianina O. V. 2002. Reproductive biology cranberry (*Vacciniaceae*), promising for the introduction and breeding in Siberia. Abstr. Cand. Diss. N. 24 p. (In Russ.)
24. Mamaev S. A. 1972. Forms of intraspecific variation of woody plants. M. 283p. (In Russ.).
25. Maznaia E. A., Lianguzova I. V. 1997. About reproductive capacity of berry dwarf shrubs North Karelia pine forests in terms of atmospheric pollution. *Rastitelnie Resursy*. 33 (2): 45-50. (In Russ.).
26. Nikitin A. A., Pankova I. A. 1982. *Anatomical atlas of valuable and some poisonous plants*. Leningrad. 767 p. (In Russ.).
27. Qasim Ali, Muhammad Ashraf, Farooq Anwar. 2009. Physico-chemical attributes of seed oil from drought stressed sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants. *Grasas y aceites* 60 (5): 475-481.
28. Pausheva Z. P. 1974. Plant cytology Workshop. M. p. 69-99. (In Russ.).
29. Reynolds T. S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *Journal of Cell Biology*. 17 (1): 208-212.+
30. Salemaa M., Vanha-Majamaa I., Gardner P. J. 1999. Compensatory growth of two clonal dwarf shrubs, *Arctostaphylos uva-ursi*, and *Vaccinium uliginosum* in a heavy metal polluted environment. *Plant Ecology* 141: 79–91.
31. Sergeeva A. A. 2007. Influence of ammiakatov on photosynthesis, crop productivity and the efficiency of fertilizer use. Abstr. Cand. Diss. Moscow. 24 p. (In Russ.). (In Russ.).
32. Shaw G. 1981. Concentrations of twenty-eight elements in fruiting shrubs downwind of the smelter at Flin Flon, Manitoba. *Environmental Pollution Series A*. 25 (3): 197-209.
33. Telishevskiy D. A. 1986. Integrated use of non-timber forest products. M. 262 p. (In Russ.).
34. Turnau K., Wenhryniewicz O., Miskiewicz A., Mierzeńska M. 1998. Ericoid mycorrhizas in heavily polluted environments – strategies of plants, liverworts and fungi. *Proceedings of the 2nd International Conference on Trace Elements (Cieszyn, June 1998)*. Katowice, Poland: Centre for Studies on Human and Natural Environment, 27–32.
35. Uhlig I.R. Szargan, Nesbitt H.W., K. Laajalehto. 2001. Surface states and reactivity of pyrite and marcasite. *Applied surface science* 179: 222-229
36. Zaufal T. 2000. Flowering biology of *Vaccinium myrtillus* and *Vaccinium vitis-idaea* in the industrially polluted environment. *Acta Biologica Silesiana* 34(51): 64-81.
37. Zvereva E.L., Kozlov M.V. 2005. Growth and reproduction of dwarf shrubs, *Vaccinium myrtillus* and *V. vitis-idaea*, in a severely polluted area. *Basic and Applied Ecology* 6 (3): 261–274.

Abbreviations

- A – anticlinal cell walls;
C – cavity;
Ch – chalazal endospermal haustorium;
Co – cotyledons;
Cr – crystalloid;
Ct – consistent thickenings;
Cu – cuticle;
Em – embryo;
En – endosperm;
H – hypocotyl;
Ip – inner periclinal cell walls;
Mh – micropilar endospermal haustorium;
N – nuclei;
O – oil;
Op – outer periclinal cell walls;
P – protein;
Pro – protuberance;
R – radical;
Sc – seed cover;
Se – subepidermal layer
St – spongiouse thickenings

MORPHOLOGY OF *VACCINIUM ULIGINOSUM* L. SEEDS UNDER CONDITIONS OF INDUSTRIAL POLLUTION

Komaletdinova E. M., Yakovleva O. V., Anisimova G. M.

Vaccinium uliginosum L. shrubs can grow in conditions of severe industrial pollution. A comprehensive comparative study of seed morphology using a light (*Biolam, Russia* and *Axio Scope 1, Zeiss, Germany*), scanning (*JSM – 35, JEOL, Japan*) and illuminating (*BS-500, Tesla, Czechoslovakia*) microscopes revealed the specific features of the *Vaccinium uliginosum* L. seeds structure and to detect deviations in seeds formed in the contamination zone. For the study, the seeds of *Vaccinium uliginosum* L. were collected during the dissemination period in the

unpolluted (control) and polluted zones in Murmansk region, at a distance of 65 (control) and 5 km from the non-ferrous metallurgy plant. Since 1960, the plant has been emitting tons of sulfur oxide and heavy metal dust into the atmosphere, which led to a change in the pH of the soil - 2.1 -2.8, and the nickel and copper content in the aqueous extract reaches 150 and 260 mg/kg of soil, which is more than 10 times higher than in the control. The total number of seeds in the berry and the length of large seeds formed 5 km from the plant were significantly less than in the control. It is shown that the metric characteristics of seeds formed at different distances from the plant have different levels of variability. The viability of seeds (a large seeds) was 50% lower for seeds formed 5 km from the plant than in the control. In addition, during the 3-month stratification period, 75% of seeds from the polluted zone died due to damage by strains of *Penicillium* sp., *Arthrimum* sp. and *Gliocladium deliquescens*. A decrease in the resistance of seeds to the effects of pathogenic microflora may be associated with a violation of the formation of the seed coat, since the thickness of the outer and inner epidermal periclinal cell walls of the seed coat collected 5 km from the plant was significantly less than in the control. Changes in the composition of seed oils collected in the polluted zone were noted. Violations in the development of the embryo and endosperm both in seeds formed under conditions of industrial pollution and in the control did not exceed 10%. However, in conditions of industrial pollution, seeds with hypertrophy of the embryo (hypocotyl) and/or endosperm tissues were encountered, and in the control with underdevelopment of the embryo and/or endosperm.

Key words: industrial pollution, seed coat, viability, seeds, embryo, endosperm, *Vaccinium uliginosum* L., variability.

Авторы

Э. М. Комалетдинова⁴, О. В. Яковлева, Г. М. Анисимова

Комалетдинова Эльвира Мансуровна – кандидат биологических наук; ведущий специалист ПТО ООО "Органик парк" ГК "Бионоватика", адрес: 420095, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Восстания, д. 100 здание 45, помещение 9. E-mail: ellkom@yahoo.com

Яковлева Ольга Васильевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник; ведущий научный сотрудник лаборатории анатомии и морфологии растений БИН РАН им. В. Л. Комарова.

⁴Эта статья является частью диссертации дополненной и доработанной, представленной в соответствии с требованиями для получения степени кандидата биологических наук по специальности «Экология». Работа была частично поддержана грантами РФФИ (№97-04-49617; №01-04-49814) и ФЦНП «Интеграция».

Анисимова Галина Михайловна – кандидат биологических наук; ведущий научный сотрудник лаборатории эмбриологии и репродуктивной биологии БИН РАН им. В. Л. Комарова.

Работа выполнена в БИН РАН им В.Л. Комарова, адрес: 197376, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 2.

ООО «Органик парк» ГК «Бионоватика»
Россия, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Восстания 100
e-mail: elvkom@mail.ru
Ботанический институт РАН им. В.Л. Комарова
Komarov Botanical Institute RAS
197376 Russian Federation, St. Petersburg, Prof. Popova str., 2
e-mail: elvkom@mail.ru
Поступила в редакцию 14.04.2023.