

## **ОЦЕНКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ПРИ МОНИТОРИНГОВЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ СОСТОЯНИЯ ХВОЙНЫХ НАСАЖДЕНИЙ**

©2011 Н.А. Калашник

Ботанический сад-институт Уфимского научного центра РАН

Поступила 11.07.2011

Проведены цитогенетические исследования четырех южноуральских видов хвойных из условий различного по характеру и интенсивности промышленного загрязнения в сравнении с контролем. Установлено, что из исследуемых видов наибольшей индикационной чувствительностью обладает сосна обыкновенная, из использованных методов – оценка аномальности пыльцевых зерен и уровня хромосомных нарушений на стадии ана-телофазы митоза и стадиях ана-телофазы I и ана-телофазы II мейоза.

**Ключевые слова:** техногенное загрязнение, индикация, цитогенетические методы, хвойные виды, Южный Урал.

В настоящее время в качестве индикаторов экологической нагрузки на территорию довольно часто используется оценка состояния растительных объектов, определяемая различными методами. Использование цитогенетических методов в мониторинговых наблюдениях некоторые исследователи считают одними из самых чувствительных способов эффективной и адекватной оценки влияния неблагоприятных экологических факторов на окружающую среду [3, 15]. Это мнение подтверждено анализом уровня хромосомных aberrаций в меристематических клетках растений в условиях поливалентного техногенного загрязнения [2, 6]. Высокая чувствительность цитогенетических биоиндикационных тест-систем дается авторами как при оценке общего мутационного фона [5] так и радиационного [4]. Цитогенетические исследования в условиях техногенного загрязнения успешно проводятся и на хвойных видах [8, 9, 12, 13].

В настоящей работе представлены результаты исследования уровня аномалий, выявленных в соматической и генеративной тканях четырех видов хвойных – сосны обыкновенной, лиственницы Сукачева, ели сибирской и пихты сибирской, произрастающих на территории Южного Урала в условиях различного по характеру и интенсивности поливалентного промышленного загрязнения в сравнении с относительно чистыми, контрольными условиями.

### **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ**

В качестве объектов для исследования выбраны средневозрастные естественные насаждения хвойных видов, произрастающие на территории Челябинской области и Башкортостана. Всего исследовано 24 пробные площади, в том числе сосны обыкновенной из 10, ели сибирской из 6, лиственницы Сукачева из 3, пихты сибирской из 5 местобитаний.

Исследованы насаждения в условиях различного техногенного загрязнения - многолетнего критического и сильного в районах медеплавильного (г. Карабаш), горнообогатительного (г. Сатка), металлургического (г. Златоуст), горнодобывающего (г. Учалы) производств, когда превышение предельно допустимых концентраций загрязнителей в воздухе, воде, почве доходило до десятков и даже сотен раз, а также из условий умеренного поливалентного загрязнения (г. Миасс, г. Аша, г. Сим, пос. Магнитка, пос. Чебаркуль), в сравнении с относительно чистыми контрольными условиями. Исследуемые насаждения в условиях загрязнения были расположены на незначительном удалении (от нескольких сот метров до 2,5 км) от источников техногенных выбросов, контрольные пробные площади находились от них, как правило, на расстоянии 15-20 км. Пробные площади, расположенные на более значительном расстоянии от источников загрязнения, рассматривались нами как «фоновые». В связи с тем, что для насаждений из экстремальных экологических условий характерно наличие большого числа суховершинных деревьев и деревьев с «ведьмиными метлами», усыхание боковых побегов, пожелтение и покраснение хвои, на выбранных пробных площадях оценивалось жизненное состояние древостоев согласно классификации В.А. Алексеева [1]. При анализе результатов учитывалась комплексная характеристика интенсивности загрязненности территорий по состоянию атмосферного воздуха, водоемов и почвенного покрова в районе исследований.

При помощи комплекса цитогенетических методов исследовались соматическая (меристема проростков семян) и генеративная (мужской гаметофит) ткани хвойных видов, определялись частоты хромосомных мутаций на различных стадиях митотического (метафаза, ана-телофаза) и мейотического (метафаза I и метафаза II, ана-телофаза I и ана-телофаза II) циклов, а также оценивалась аномальность и фертильность пыльцевых зерен [10, 11]. При исследовании выявлялись следующие типы аномалий: на стадии метафазы митоза – фраг-

---

Калашник Надежда Александровна, канд. биол. наук,  
e-mail: kalash.ufa@mail.ru

менты, кольцевые, дицентрические и дополнительные хромосомы, анеуплоидные и полиплоидные клетки; на стадии ана-телофазы митоза – мосты, фрагменты, кольцевые хромосомы, отставания и забегания хромосом, многополосность; на стадиях мейоза – фрагменты, мосты, кольца, отставания и забегания хромосом, выбросы и слипания хромосом, триады микроспор; в процессе гаметогенеза - стерильные, мелкие, гипертрофированные пыльцевые зерна и пыльцевые зерна с аномалиями воздушных мешков. Достоверность различий между исследуемыми пробными площадями хвойных видов по уровню выявленных аномалий определяли по критерию  $\chi^2$  [7].

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования уровня хромосомных нарушений в соматической ткани хвойных видов описанных пробных площадей показали, что в условиях загрязнения у всех из исследованных видов увеличивается процент аномалий (рис.1).

Так, уровень хромосомных нарушений выявленных у хвойных видов на стадии ана-телофазы митоза в условиях критического загрязнения в

**Таблица 1.** Показатели критерия  $\chi^2$  по уровню аномалий, выявленных в процессе митоза.

10,25-11,69 раза, в условиях сильного и умеренного загрязнения в 1,05-5,06 раза выше, чем в относительно чистых условиях. Уровень хромосомных нарушений выявленных у хвойных видов на стадии метафазы митоза в условиях критического загрязнения в 7,5-16,05 раза, в условиях сильного и умеренного загрязнения в 1,25 – 3,50 раза выше, чем в фоновых условиях.

В результате попарного сравнения уровня хромосомных нарушений выявленных на стадии ана-телофазы митоза у хвойных видов из условий разного по интенсивности техногенного загрязнения и условий контроля с использованием критерия  $\chi^2$ , в основном, установлена достоверность различий этих показателей при различных уровнях значимости. В результате сравнения уровня хромосомных нарушений выявленных на стадии метафазы митоза установлена достоверность различий только между пробными площадями сосны обыкновенной из условий контроля и условий загрязнения, а также между одной из пробных площадей пихты сибирской из условий сильного загрязнения и условий контроля (табл. 1).

Сравниваемые пробные площади	Стадии митоза	
	метафаза	ана-телофаза
Сосна обыкновенная		
Карабаш*** – Новоандреевка	192,88	338,79
Сатка*** – Новоандреевка	42,79	148,00
Златоуст** – Ургала	2,91	25,83
Магнитка* – Ургала	2,91	27,55
Чебаркуль* – Ургала	2,08	21,67
Учалы** – Кирябино	83,20	21,19
Учалы** – Ургун	83,20	36,01
Ель сибирская		
Златоуст** – Веселовка	1,05	12,08
Златоуст (свалка)** – Веселовка	1,68	13,93
Аша* – Вознесенка	1,33	2,32
Сим* – Вознесенка	0,21	1,67
Лиственница Сукачева		
Златоуст** – Веселовка	2,06	17,92
Миасс* – Веселовка	0,12	0,05
Пихта сибирская		
Златоуст** – Веселовка	2,46	5,97
Златоуст (свалка)** – Веселовка	3,53	12,57
г. Аша* – пос. Веселовка	0,12	2,71
Сим* – Веселовка	0,00	0,27

Прим.:

\*\*\*

\*\*

\*

без обозначений

– условия критического загрязнения

– условия сильного загрязнения

– условия умеренного загрязнения

– контрольные и «фоновые» условия

–  $\chi^2 > \chi^2_{st}$  при  $\rho = 0,001$

–  $\chi^2 > \chi^2_{st}$  при  $\rho = 0,05$

–  $\chi^2 > \chi^2_{st}$  при  $\rho = 0,1$

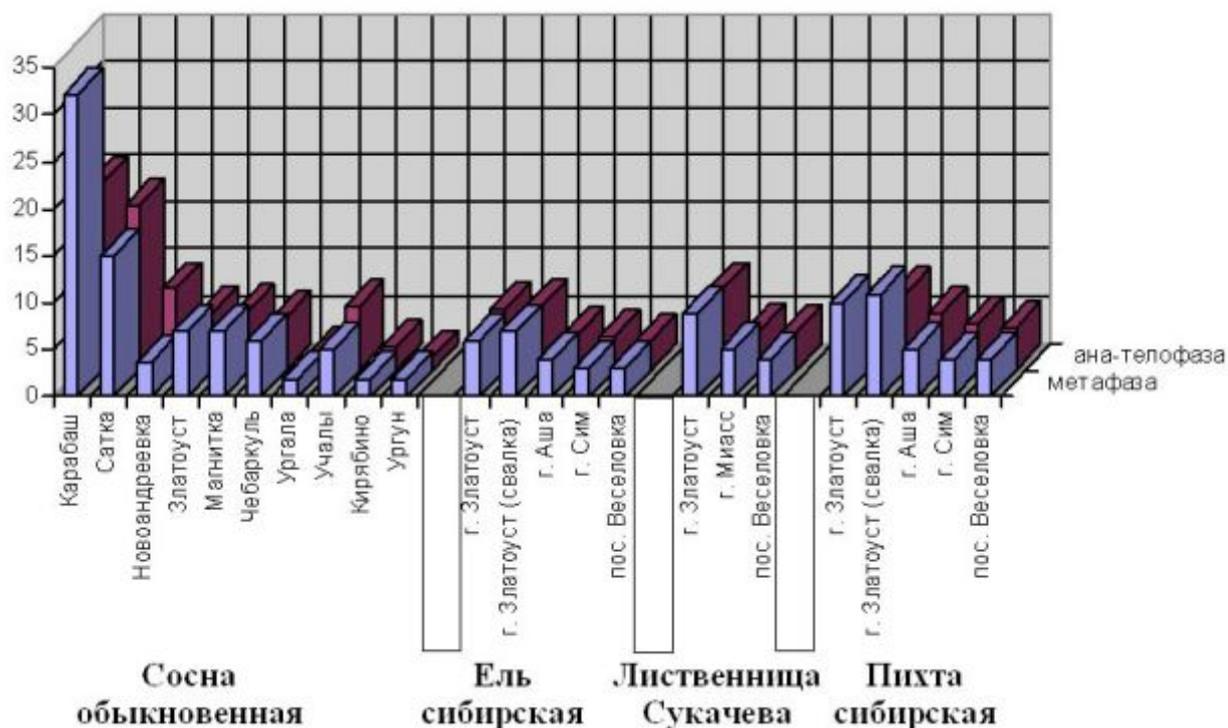


Рис. 1. Аномалии, выявленные в процессе митоза.

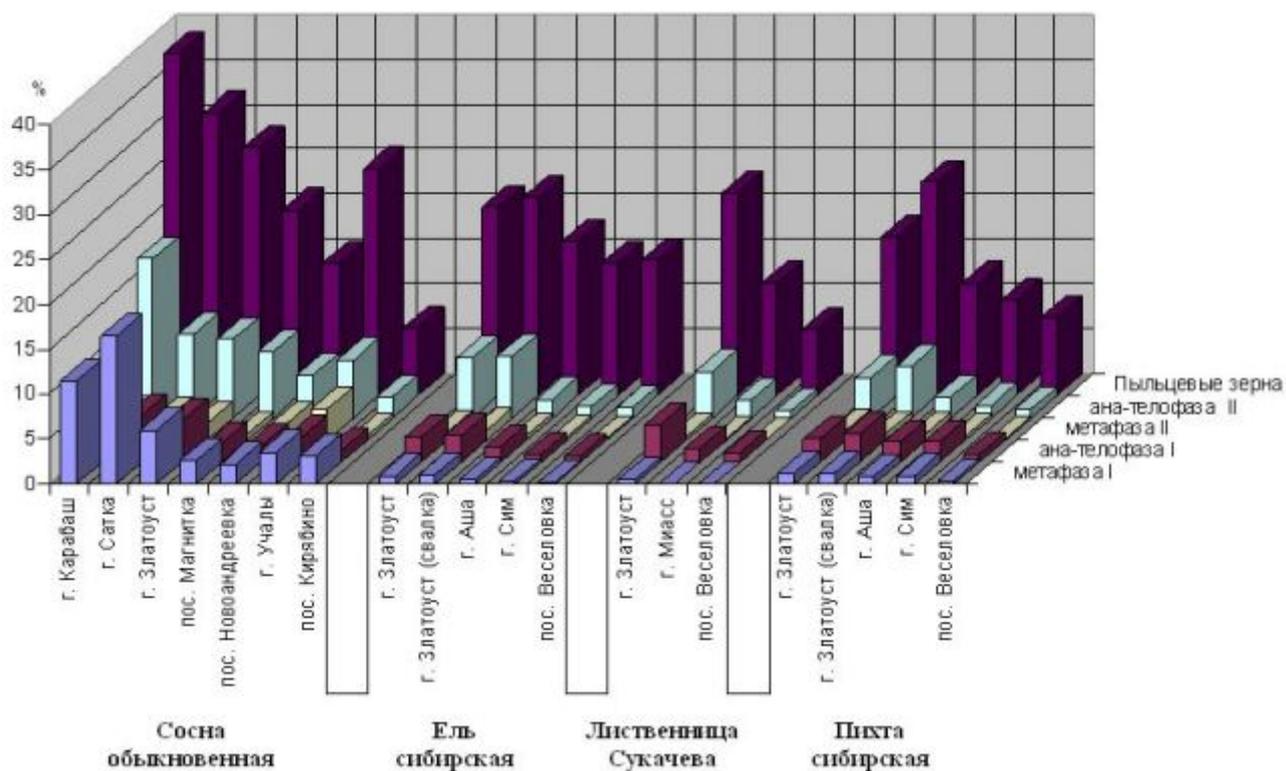


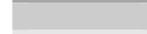
Рис. 2. Аномалии, выявленные в процессе мейоза и гаметогеनेза.

Таблица 2. Показатели критерия  $\chi^2$  по уровню аномалий, выявленных в процессе мейоза и гаметогенеза

Сравниваемые пробные площади	Стадии мейоза				Пыльцевые зерна
	метафаза I	ана-телофаза I	метафаза II	ана-телофаза II	
Сосна обыкновенная					
г. Карабаш*** – пос. Новоандреевка	66,78	40,32	1,16	84,96	139,87
г. Сатка*** – пос. Новоандреевка	22,22	17,11	0,88	15,66	78,62
г. Златоуст** – пос. Новоандреевка	18,36	13,37	0,03	12,80	49,21
пос. Магнитка* – пос. Новоандреевка	0,34	0,24	4,90	6,41	12,36
г. Учалы** – пос. Кирияино	0,39	5,60	21,99	20,20	144,53
Ель сибирская					
г. Златоуст** – пос. Веселовка	5,37	11,97	3,62	41,84	14,40
г. Златоуст (свалка)** – пос. Веселовка	6,27	14,57	6,27	42,82	15,75
г. Аша* – пос. Веселовка	1,29	4,22	1,29	3,18	1,48
г. Сим* – пос. Веселовка	0,67	0,07	0,20	0,17	0,06
Лиственница Сукачева					
г. Златоуст** – пос. Веселовка	3,58	20,22	4,01	33,27	91,11
г. Миасс* – пос. Веселовка	0,00	1,40	2,00	5,22	15,16
Пихта сибирская					
г. Златоуст** – пос. Веселовка	4,03	8,40	5,37	24,67	35,34
г. Златоуст (свалка)** – пос. Веселовка	4,03	12,35	2,79	36,10	82,84
г. Аша* – пос. Веселовка	1,94	5,54	2,00	6,22	7,25
г. Сим* – пос. Веселовка	2,59	5,54	0,67	1,10	2,07

Прим.:

- \*\*\* условия критического загрязнения
- \*\* условия сильного загрязнения
- \* условия умеренного загрязнения
- без обозначений контрольные и «фоновые» условия

-  –  $\chi^2 > \chi^2_{st}$  при  $p = 0,001$
-  –  $\chi^2 > \chi^2_{st}$  при  $p = 0,01$
-  –  $\chi^2 > \chi^2_{st}$  при  $p = 0,1$

Результаты исследования уровня хромосомных нарушений в генеративной ткани хвойных видов описанных пробных площадей показали, что в условиях загрязнения у всех из исследованных видов также увеличивается процент аномалий (рис.2). Так, средний уровень нарушений на одну стадию мейоза в условиях загрязнения различной степени интенсивности составляет 0,7% - 9,88%, в контрольных и фоновых условиях только 0,5% - 1,8%. В результате попарного сравнения уровня хромосомных нарушений выявленных на стадиях ана-телофаза I и ана-телофаза II мейоза у хвойных видов из условий разного по интенсивности техногенного загрязнения и условий контроля с использованием критерия  $\chi^2$ , в основном, установлена достоверность различий этих показателей при различных уровнях значимости. В результате сравнения уровня хромосомных нарушений выявленных на стадии метафазы I мейоза установлена достоверность различий, как правило, только между пробными площадями из условий контроля и условий критического и сильного загрязнения, а в результате сравнения уровня хромосомных нарушений выявленных на стадии метафазы II мейоза достоверные различия наблюдаются крайне редко (табл. 2).

Результаты исследования пыльцевых зерен у хвойных видов описанных пробных площадей показали, что в условиях загрязнения у исследованных видов увеличивается процент аномальности пыльцы (см. рис. 2). Так, в условиях критического загрязнения выявленная нами аномальность пыльцы составила 31,4%-38,0%; в условиях сильного

загрязнения – 17,7%-27,5%; в условиях умеренного загрязнения – 10,6%-20,7%; в относительно чистых, контрольных условиях – 7,3%-15,1%. В результате попарного сравнения показателей аномальности пыльцевых зерен с использованием критерия  $\chi^2$  у сосны обыкновенной и лиственницы Сукачева наблюдаются достоверные различия между контролем и всеми исследованными уровнями загрязнения при 0,001 уровне значимости. У ели сибирской и пихты сибирской достоверные различия с высоким уровнем значимости наблюдаются только между условиями контроля и условиями сильного загрязнения (см. табл. 2).

## ВЫВОДЫ

1. Высокий уровень хромосомных нарушений, выявленных в процессе митоза и мейоза и высокая аномальность пыльцевых зерен у хвойных видов из условий техногенного загрязнения, а также достоверные отличия загрязненных насаждений от контрольных и «фоновых» по частоте встречаемости нарушений свидетельствуют о том, что большая часть выявленных аномалий вызвана воздействием на объекты исследования промышленных выбросов.

2. Используемые в качестве объектов хвойные виды и апробированные цитогенетические методы показали различную индикационную способность в оценке степени негативного влияния техногенного загрязнения на окружающую среду. Наиболее чувствительным из исследуемых видов определена сосна обыкновенная, у которой наблюдались достоверные различия между контролем и всеми ис-

следованными уровнями загрязнения, в основном, при высоких уровнях значимости, наиболее эффективными из использованных методов – определение аномальности пыльцевых зерен, а также оценка уровня хромосомных нарушений на стадии ана-телофазы митоза и стадиях ана-телофаза I и ана-телофаза II мейоза.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Алексеев В.А.* Диагностика жизненного состояния деревьев и древостоев // Лесоведение. 1989. № 4. С. 51-57.
2. *Бессонова В.П., Грицай З.В., Юсытыва Т.И.* Использование цитогенетических критериев для оценки мутагенности промышленных поллютантов // Цитология и генетика. 1996. Т. 30. № 5. С.70-76.
3. *Буторина А.К., Калаев В.Н.* Анализ чувствительности различных критериев цитогенетического мониторинга // Экология. 2000. № 3. С. 206-210.
4. *Буторина А.К., Косиченко Н.Е., Щетинкин С.В.* Цитогенетический мониторинг среды в зоне потенциальной опасности радиационного загрязнения // Генетика. 1994. Т. 30. Приложение: Материалы I съезда ВОГиС. С. 19.
5. *Горова А.И., Дигурко В.М., Скворцова Т.В.* Цитогенетическая оценка мутагенного фона в промышленном Приднепровье // Цитология и генетика. 1995. Т. 29. № 5. С. 16-22.
6. *Гуськов Е.П., Вардуну Т.В., Шкурят Т.П. и др.* Свободно-радикальные процессы и уровень aberrаций хромосом в листьях древесных растений как тест-системы на генотоксичность городской среды // Экология. 2000. № 4. С. 270-275.
7. *Животовский Л.А.* Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991. 271 с.
8. *Махнева С.Г.* Состояние мужской генеративной системы сосны обыкновенной при техногенном загрязнении среды: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Екатеринбург, 2005. 24 с.
9. *Муратова Е.Н., Зубарева О.Н.* Цитогенетическое изучение сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в районе выбросов тепловой электростанции // Известия АН СССР. Сер. биол. 1990. № 3. С. 36-41.
10. *Паушева З.П.* Практикум по цитологии растений. М.: Колос, 1980. 304 с.
11. *Правдин Л.Ф., Бударагин В.А., Кружлик М.В., Шеришуква О.П.* Методика кариологического изучения хвойных пород // Лесоведение. 1972. № 2. С. 67-75.
12. *Романова Л.И., Третьякова И.Н.* Особенности микроспорогенеза у лиственницы сибирской, растущей в условиях техногенного стресса // Онтогенез. 2005. Т. 36, № 2. С. 128-133.
13. *Третьякова И.Н., Носкова Н.Е.* Пыльца сосны обыкновенной в условиях экологического стресса // Экология. 2004. № 1. С. 26-33.
14. *Федорков А.Л.* Микроспорогенез сосны при загрязнении среды в Российской Лапландии // Лесной журнал. 1995. № 1. С. 48-50.
15. Экологический мониторинг. Методы биомониторинга. Ч. 2. / под ред. Д.Б. Гелашвили. Н.Новгород: Изд. ННГУ. 1995. 272 с.

#### ASSESS THE SENSITIVITY OF CYTOGENETIC METHODS OF MONITORING RESEARCH CONDITION CONIFEROUS FORESTS

©2011 N.A. Kalashnik

Botanical Garden-Institute, Ufa Sci. Centre of RAS, Ufa

Cytogenetic studies of four South Ural coniferous species were conducted under the conditions of industrial pollution of different character and intensity as compared to a control one. Scots pine among the analysed species and the estimation of pollen grain anomaly and the level of chromosomal aberrations at ana-telophase mitosis stages, ana-telophase I and ana-telophase II meiosis stages among other used methods is determined to be characterized by the greatest indication sensitivity.

**Key words:** industrial pollution, indication, cytogenetic methods, coniferous species, South Ural.