

УДК 502.3: 582.475: 576.315.45

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЯДРЫШКОВЫХ ОРГАНИЗАТОРОВ ХРОМОСОМ У СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

©2013 Н.А. Калашник

Ботанический сад-институт Уфимского научного центра РАН, г. Уфа

Поступила 03.06.2013

Проведены исследования функциональной активности ядрышковых организаторов хромосом у сосны обыкновенной, произрастающей в различных экологических условиях (при промышленном загрязнении различной интенсивности в сравнении с контролем). Полученные результаты свидетельствуют о повышении функциональной активности ядрышковых организаторов хромосом у сосны обыкновенной в условиях техногенного загрязнения.

Ключевые слова: ядрышковые организаторы хромосом, сосна обыкновенная, промышленное загрязнение.

Ядрышковые организаторы хромосом участвуют в жизненно важной функции организма – механизме белкового синтеза. В основе интенсификации любых биосинтетических процессов лежит изменение активности генома, в том числе, той его части, которая ответственна за синтез рРНК. Функциональное состояние генов рРНК возможно оценить путем цитологического изучения ядрышек интерфазного ядра, размеры которых находятся в прямой зависимости от степени активности этих генов [7, 8, 12, 22]. В связи с тем, что ядрышковые организаторы хромосом несут функции, присущие адаптивным системам, именно, ядрышковая активность оказалась наиболее показательным цитологическим критерием оценки стрессового воздействия на организм при создании шкалы чувствительности для экологического мониторинга [5].

Исследования нуклеолярных районов хромосом у различных видов хвойных достаточно многочисленны, подобные работы проводились и на примере сосны обыкновенной [1, 2, 4, 10, 15, 17, 20, 23, 24], где авторами, в основном, изучался полиморфизм кариотипа данного вида из различных частей ареала с учетом изменчивости ядрышкообразующих районов хромосом. Однако вопросы исследования функциональной активности ядрышковых организаторов хромосом у сосны обыкновенной в литературе обсуждались крайне редко, а работы по изучению ядрышковой активности данного вида в условиях промышленного загрязнения практически отсутствуют.

В настоящей работе представлены результаты исследования функциональной активности ядрышковых организаторов хромосом у сосны обыкновенной, произрастающей в различных экологических условиях (при промышленном загрязнении различной интенсивности в сравнении с контролем).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве объектов для исследования выбраны средневозрастные естественные насаждения сосны обыкновенной, произрастающие на территории Челябинской области и Башкортостана. Всего исследовано 12 пробных площадей (ПП), в том числе из условий

критического промышленного загрязнения – 2, сильного промышленного загрязнения – 4, умеренного промышленного загрязнения – 2, контрольных и фоновых условий – 4. На выбранных ПП оценивалось жизненное состояние древостоев согласно классификации В.А. Алексеева [3]. При анализе результатов учитывалась комплексная характеристика интенсивности загрязненности территорий по состоянию атмосферного воздуха, водоемов и почвенного покрова [18, 11].

Описание пробных площадей. В г. Карабаш ПП находится на расстоянии 2 км от медеплавильного комбината. Экологическое состояние данной территории можно определить как критическое, поскольку выбросы Карабашского медеплавильного комбината в течение двухсот лет загрязняют окружающую среду и составляют в среднем около 100 тыс. т/год, например по сернистому ангидриду – до 70 т, по свинцу – около 2 тыс. т, по мышьяку – больше 1 т/год. Превышение нормативных значений загрязнителей в районе ЗАО «Карабашмедь», даже после проведения комплекса профилактических мероприятий, составляет по диоксиду серы – 8.4 ПДК, по взвешенным веществам – 3.5 ПДК, по оксиду углерода – 1.6 ПДК, по свинцу – 32.2 ПДК. Кроме того, исследуемая ПП находится на территории Кыштымского лесхоза, земли которого загрязнены радионуклидами ^{90}Sr и ^{137}Cs вследствие ряда радиационных аварий на объединении «Маяк». Древостой ПП представлен сильно ослабленными и отмирающими деревьями. Для насаждения характерно наличие большого числа суховершинных деревьев и деревьев с «ведьмиными метлами».

В районе г. Сатки ПП расположена на расстоянии 2-3 км от промышленной зоны, основными загрязнителями насаждения являются комбинат «Магнезит» и чугунолитейный завод, общие выбросы которых в годы исследований варьировали в пределах 25–50 тыс. т загрязняющих веществ в год. В течение многих десятков лет насаждение подвергалось загрязнению магнетитовой пылью, выброс которой составлял до 65 т/сут. Магнетитовая пыль, образуя при контакте с водой гидрат окиси магния, сильно подщелачивает почву, кроме того, она обладает цементирующим эффектом, что оказывает пагубное влияние на все живое. В насаждении наблюдаются большое число суховершинных деревьев, усыхание боковых побегов, пожел-

Калашник Надежда Александровна, к.б.н., ведущий научный сотрудник, e-mail: kalash.ufa@mail.ru

тение хвои. В целом древостой по жизненному состоянию классифицирован как отмирающий. Экологическое состояние данной территории также можно определить как критическое.

В районе г. Златоуста ПП находится в условиях сильного загрязнения, так как расположена на расстоянии нескольких сот метров от промышленной зоны, в которую входят металлургический комбинат, завод металлоконструкций, абразивный завод и ряд других производств. Выбросы загрязняющих веществ от стационарных источников в г. Златоусте в годы исследований составляли 8–10 тыс. т/год, при высоком уровне загрязнения атмосферы (ИЗА–7.6). Превышение нормативных значений загрязнителей составляет по формальдегиду – 1.7 ПДК, по взвешенным веществам – 1.3, по диоксиду азота – 1.8, по без(а)пирену – 1.6. ПП представлена несколькими отдельными уцелевшими деревьями с признаками карликовости и повреждениями в виде пожелтевшей хвои. Данное насаждение по жизненному состоянию классифицировано как сильно ослабленное.

В районе пос. Магнитка обе ПП находятся в условиях сильного промышленного загрязнения, поскольку в течение длительного времени находились под воздействием выбросов обогатительного производства. ПП Магнитка 1 находится на суходоле, а ПП Магнитка 2 заложена в районе болота. Для насаждений характерно наличие суховершинных деревьев и деревьев с пожелтевшей хвоей. По жизненному состоянию древостоев первое насаждение отнесено к классу сильно ослабленного, второе – к классу отмирающего.

В районе оз. Чебаркуль ПП расположена между городами Миасс и Чебаркуль (выброс загрязняющих веществ соответственно – около 10 и 1 тыс. т/год), находится в зоне умеренного загрязнения, так как удалена от производственных предприятий на 10–20 км. У древостоя данной ПП уже имеются признаки угнетенности, жизненное состояние древостоя определено как ослабленное.

В районе пос. Новоандреевка ПП расположена между г. Карабаш и г. Миасс, от производственных предприятий удалена на 15–20 км. Загрязнение данной территории определено нами как умеренное, так как незначительное удаление от столь сильных источников загрязнения не позволяет полностью исключить влияние на насаждение воздушных загрязнителей, однако отсутствие у деревьев видимых повреждений позволяет использовать данную ПП в качестве контроля. Жизненное состояние древостоя определено как здоровое.

В районе г. Учалы ПП находится на расстоянии 2 км от Учалинского горно-обогатительного комбината, функционирующего более 40 лет. Однако за этот сравнительно небольшой период окружающая его среда подверглась достаточно сильному загрязнению. В почвах, залегающих в зоне техногенного воздействия комбината, наблюдается высокое содержание многих токсичных элементов – ванадия, марганца, железа, меди, сурьмы, теллура, цезия, бария, вольфрама, свинца, висмута [18]. Серьезных видимых повреждений в исследуемом нами средневозрастном насаждении не наблюдается, древостой представлен в основном здоровыми деревьями. Однако у располо-

женных рядом с насаждением молодых культур сосны обыкновенной обнаружены множественные новообразования, напоминающие «ведьмины метлы» и являющиеся, по-видимому, результатом нарушения апикального доминирования вследствие мутаций.

В районе поселков Кирябино, Ургуново, Сафарово, Ахуново ПП находятся на расстоянии 20–30 км от г. Учалы и не подвержены влиянию выбросов каких-либо других промышленных производств. В насаждениях видимых повреждений у деревьев не наблюдается, состояние древостоев определено как здоровое, что позволило нам использовать их в качестве контрольных.

В качестве материала для проведения исследований использована меристематическая ткань проростков семян. В качестве методов использовали как общепринятые рекомендации окрашивания ядрышек [19], так и адаптированные применительно к хвойным породам [14]. Давленные препараты изучали при помощи микроскопа ЛЮМАМ Р8, используя объективы $\times 40$ или $\times 100$. Исследовали с каждой пробной площади не менее 100 клеток (микрофотографии клеток с ядрышками представлены на рис. 1). В результате исследований определяли максимальное и среднее число ядрышек на клетку, а также показатели ядерно-ядрышковых отношений по весу их проекций на бумагу [9]. Статистическую обработку результатов проводили общепринятыми методами [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенных исследований показали, что среднее число ядрышек на клетку варьирует незначительно (от $4,01 \pm 0,13$ до $6,51 \pm 0,23$) и, в основном, составляет 5–6 ядрышек. Максимальное же число ядрышек на исследованных ПП варьирует от 8 до 12, причем наиболее высокие значения этого показателя наблюдаются в условиях критического и сильного техногенного загрязнения. В этих же условиях наблюдаются более низкие значения показателей ядерно-ядрышковых отношений, они на 2–3 единицы ниже, чем в относительно чистых условиях (чем меньше этот показатель, тем больше объем ядрышек), что, несомненно, определяет тенденцию увеличения активности ядрышкообразующей системы у сосны обыкновенной в стрессовых условиях (табл., рис. 2).

Полученные данные в некоторой степени согласуются с результатами исследований у сосны обыкновенной ядрышкообразующих районов хромосом, анализ которых показывает наличие высокого полиморфизма по числу, частоте встречаемости и локализации вторичных перетяжек в кариотипах [1, 2, 4, 10, 13, 15–17, 20, 23, 24]. Так, в хромосомных наборах сосны обыкновенной в различных частях ареала авторами обнаружено от трех до семи пар хромосом со вторичными перетяжками. Исключением явилась болотная экоформа сосны обыкновенной, у которой вторичные перетяжки обнаружены у 12 пар хромосом [16]. Также большое число вторичных перетяжек обнаружено у сосны обыкновенной, произрастающей в районе верхового болота – до 34 перетяжек на диплоидный набор [15], в условиях высокогорий – до 18 [24], а в условиях промышленного загрязнения – до 11 [21] постоянных и непостоянных вторичных перетяжек на

кариотип. То есть, у сосны обыкновенной в экологически неблагоприятных условиях наблюдается тенденция увеличения активности ядрышковых органи-

заторов хромосом, что, вероятно, связано с процессами ее адаптации к этим условиям.

Таблица. Показатели ядрышковой активности у сосны обыкновенной в различных экологических условиях

Местонахождение пробной площади	Число ядрышек на клетку			Ядерно-ядрышковое отношение	
	максимальное значение	среднее значение ±ошибка	коэффициент вариации	среднее значение ±ошибка	коэффициент вариации
г. Карабаш***	11	5,62±0,16	28,47	6,90±0,17	24,64
г. Сатка***	10	5,78±0,19	32,87	7,37±0,23	31,21
г. Златоуст**	11	6,44±0,17	26,40	7,12±0,21	29,49
пос. Магнитка (1)**	11	6,35±0,18	28,35	7,01±0,26	37,09
пос. Магнитка (2)**	12	5,77±0,14	24,26	6,50±0,23	35,38
оз. Чебаркуль*	10	5,12±0,15	29,30	8,09±0,25	30,90
пос. Новоандреевка	8	6,51±0,23	35,33	9,89±0,31	31,34
г. Учалы**	10	4,01±0,13	32,42	7,59±0,19	25,03
пос. Кирябино	9	5,18±0,17	32,82	8,66±0,27	31,18
пос. Ургуново	8	5,76±0,15	26,04	9,03±0,27	29,90
пос. Сафарово	9	5,14±0,17	33,07	9,19±0,44	47,88
пос. Ахуново	8	5,32±0,16	30,08	9,60±0,34	35,42

Прим.: * – умеренное загрязнение; ** – сильное загрязнение; *** – критическое загрязнение; без обозначений – контрольные и фоновые условия

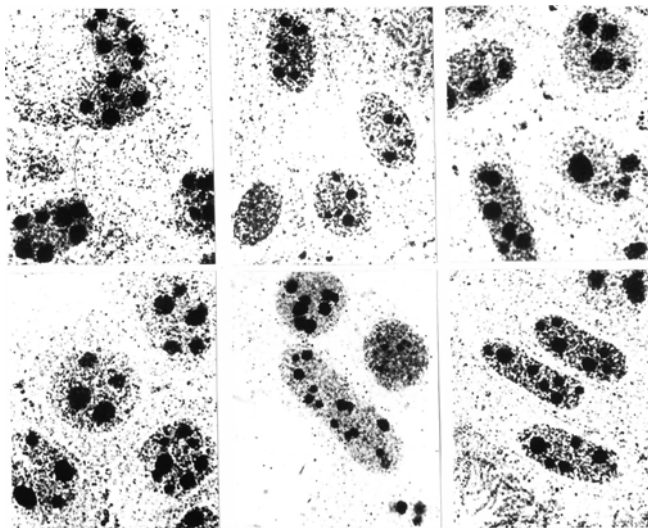


Рис. 1. Микрофотографии меристематических клеток сосны обыкновенной с различным числом ядрышек

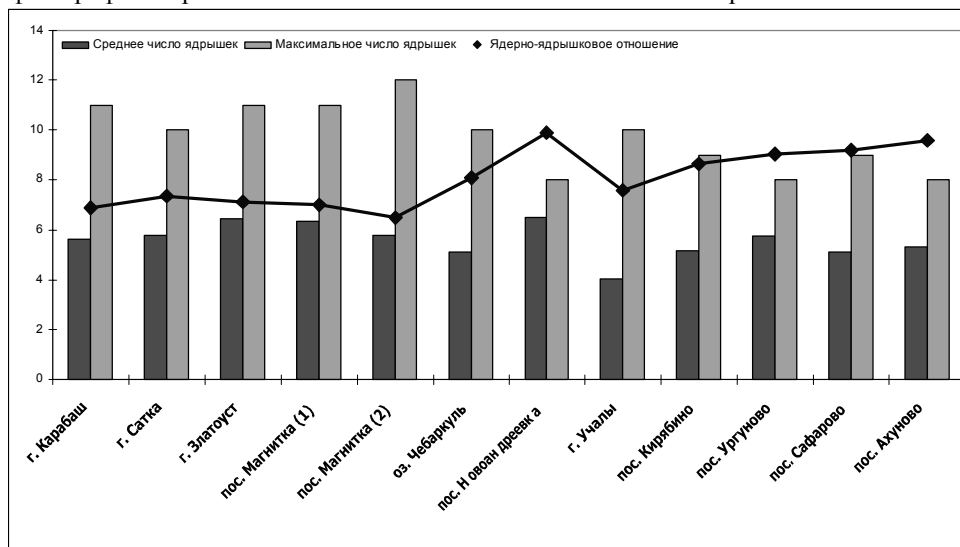


Рис. 2. Показатели ядрышковой активности сосны обыкновенной из условий промышленного загрязнения и контроля

ВЫВОДЫ

1. В условиях промышленного загрязнения у сосны обыкновенной наблюдается увеличение функциональной активности ядрышковых организаторов хромосом, то есть активизируются механизмы, обеспечивающие организм процессам адаптивных изменений.
2. Исследованные показатели ядрышковой активности (число ядрышек на клетку и значения ядерно-ядрышковых отношений) могут быть рекомендованы для оценки степени техногенного воздействия на насаждения сосны обыкновенной при мониторинговых наблюдениях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Абатурова Г.А.* Кариотипы сосны обыкновенной в европейской части СССР // Научные основы селекции хвойных древесных пород. М.: Наука, 1978. С. 66-82.
2. *Абатурова Г.А., Шеришуква О.П.* Кариологическая характеристика популяций сосны обыкновенной в азиатской части СССР // Цитология и генетика. 1981. Т. 15. № 1. С. 18-22.
3. *Алексеев В.А.* Диагностика жизненного состояния деревьев и древостоев // Лесоведение. 1989. № 4. С. 51-57.
4. *Бударагин В.А.* Анализ кариотипов изолированных популяций сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в Северном и Центральном Казахстане // Генетика. 1973. Т. 9. № 9. С. 41-52.
5. *Буторина А.К., Калаев В.Н.* Анализ чувствительности различных критериев цитогенетического мониторинга // Экология. 2000. № 3. С. 206-210.
6. *Вольф В.Г.* Статистическая обработка данных. М.: Колос, 1966. 255 с.
7. *Дуброва Н.А.* Ядрышковые организаторы хромосом как адаптивный элемент вида // Журнал общей биологии. 1989. Т. 50. № 2. С. 213-217.
8. *Дуброва Н.А., Малахова Л.А.* Изучение полиморфизма ядрышкообразующих хромосом у видов рода *Actaea* L. (*Ranunculaceae* Juss.) // Цитология и генетика. 1980. Т. 14. № 5. С. 3-8.
9. *Дуброва Н.А., Малахова Л.А., Карташова Н.Н.* Сравнительно-кариологическое изучение двух видов рода *Actaea* L. в Западной Сибири // Черневая тайга и проблемы реликтов. Томск, 1979. С. 60-67.
10. *Кириченко О.И.* Изменчивость морфологических и кариологических признаков некоторых популяций сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) на Украине: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Воронеж, 1984. 20 с.
11. Комплексный доклад о состоянии окружающей среды Челябинской области в 2004 году. Челябинск: Министерство радиационной и экологической безопасности Челябинской области. Управление Федеральной службы по надзору в сфере природопользования по Челябинской области. 2005. 221 с.
12. *Маишкин С.Н., Назарова М.И.* Сезонная динамика числа и размеров ядрышек и ядерно-ядрышковых отношений у представителей подсемейства сливовых при их интродукции // Цитология. 1976. Т. 18. № 12. С. 1438-1443.
13. *Муратова Е.Н.* Особенности ядрышкообразующих хромосом у представителей рода *Pinus* L. // Изв. АН СССР. Сер. биол. наук. 1983. № 5. С. 700-712.
14. *Муратова Е.Н.* Методики окрашивания ядрышек для кариологического анализа хвойных // Ботан. журн. 1995. Т. 80. № 2. С. 82-85.
15. *Муратова Е.Н., Седельникова Т.С.* Кариологическое исследование болотных и суходольных популяций сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) // Экология. 1993. № 6. С. 41-50.
16. Особенности формирования популяций сосны обыкновенной. М.: Наука, 1984. 128 с.
17. *Правдин Л.Ф.* Сосна обыкновенная. Изменчивость, внутривидовая систематика и селекция. М.: Наука, 1964. 190 с.
18. Проблемы экологии: Принципы их решения на примере Южного Урала / Под ред. Н.В. Старовой. М.: Наука, 2003. 287 с.
19. *Сабанеева Е.В.* Специфичность окрашивания ядрышковых организаторов азотнокислым серебром // Цитология. 1989. Т. 31. № 1. С. 5-14.
20. *Сунцов А.В.* Цитогенетика и эмбриология сосны обыкновенной в изолированных популяциях Центральной Тувы: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Красноярск, 1984. 16 с.
21. *Шаффикова Л.М., Калашник Н.А.* Характеристика кариотипа сосны обыкновенной при промышленном загрязнении // Лесоведение. 2000. № 2. С. 30-36.
22. *Шахбазов В.Г., Шестопалова Н.Г.* Некоторые особенности ядрышка и ядра в клетках гибридного лука // Докл. АН СССР. 1971. Т. 196. № 5. С. 1207-1208.
23. *Шинишвили Р.М.* Кариотип сосны Сосновского // Цитология. 1968. Т. 10. № 2. С. 255-258.
24. *Kalashnik N., Starova N.* Karyotype variability of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in Ural mountain populations // Cytogenetic studies of forest trees and shrub species. Contributions by member of the IUFRO Cytogenetic Working Party/ Eds Borzan Z. and Schlarbaum S.E. Zagreb, 1997. P. 131-147.

FUNCTIONAL ACTIVITY OF NUCLEOLAR ORGANIZATION CHROMOSOMES
IN SCOTS PINE UNDER TECHNOGENIC POLLUTION

©2013 N.A. Kalashnik

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

Functional activity of nucleolar organization chromosomes have been studied in Scots pine under different ecological conditions (in areas with different levels of industrial pollution as compared to a control one). The results provide evidence for an enhancing of technogenic pollution on functional activity of nucleolar organization chromosomes in Scots pine.

Key words: nucleolar organization chromosomes, Scots pine, industrial pollution.