

УДК 502.3: 582.475: 576.315.45

ПОЛИМОРФИЗМ НУКЛЕОЛЯРНЫХ РАЙОНОВ ХРОСОМ У СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В РАЗЛИЧНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

© 2015 Н.А. Калашник

Ботанический сад-институт Уфимского научного центра РАН

Поступила в редакцию 26.05.2015

Проведены исследования полиморфизма нуклеолярных районов хромосом у сосны обыкновенной, произрастающей в различных экологических условиях (горы, возвышенности, равнины, промышленное загрязнение в сравнении с контролем). Полученные результаты свидетельствуют о повышении функциональной активности нуклеолярных районов хромосом у сосны обыкновенной как в природных экстремальных условиях так и в условиях техногенного загрязнения.

Ключевые слова: *нуклеолярные районы хромосом, сосна обыкновенная, экологические условия*

Изучение кариотипа сосны обыкновенной проводилось на протяжении ряда десятилетий многими отечественными и зарубежными исследователями. Кариотип сосны обыкновенной изучался в различных частях ее обширного ареала, в том числе на территории Западной Европы, в Казахстане, на Кавказе, в Центральном Черноземье, Амурской области, Якутии, на Украине, в Туве, Сибири и т.д. Многие авторы, давая стандартную кариологическую характеристику (число, морфометрические параметры, морфологические типы хромосом), особое внимание уделяют полиморфизму нуклеолярных районов хромосом, которые цитологически выявляются в виде вторичных перетяжек хромосом. Исследователи отмечают, что для сосны обыкновенной характерен высокий полиморфизм по числу, частоте встречаемости и локализации вторичных перетяжек в хромосомных наборах [1, 2, 4, 8, 11, 13, 15, 17]. Мнения авторов о причинах данного явления неоднозначны, поэтому дальнейшие исследования в этом направлении являются актуальными.

Цель работы: изучить нуклеолярные районы хромосом у сосны обыкновенной, произрастающей на территории Южного Урала в различных экологических условиях.

Материалы и методы. В качестве объектов для исследования выбраны средневозрастные естественные насаждения сосны обыкновенной, произрастающие на территории Челябинской области и Башкортостана. Всего исследовано 9 пробных площадей (ПП) из различных экологических условий произрастания, в том числе две из горных условий (Иремельская, Авалякская), три из условий возвышенности (Шаранская, Зилаирская, Учалинская), одна из равнинных условий (Дюртюлинская), две из условий промышленного загрязнения

(Карабашская, Саткинская) и одна из условий контроля (Новоандреевская). На выбранных ПП оценивалось жизненное состояние древостоя согласно классификации В.А.Алексеева [3].

Описание пробных площадей из различных природно-климатических условий. Иремельская ПП – находится в долине р. Тыгын между хребтом Аваляк и горой Иремель на высоте 1100 м над уровнем моря. Представляет сосну на верхнем пределе распространения. Живой напочвенный покров представлен видами характерными для горных лугов и горной тундры. Таксационная характеристика насаждения: состав 10С+Е, полнота 0,3, средний возраст деревьев 120 лет, средняя высота 12 м, средний диаметр 16 см, класс бонитета V. Древостой представлен относительно низкорослыми деревьями, которые по жизненному состоянию классифицированы как ослабленные. Авалякская ПП представлена одиночными деревьями на одной из вершин хребта Аваляк. Произрастает на высоте 700 м над уровнем моря на скалистых обнажениях и выходах горных пород. Напочвенный покров характерен для горных лугов и горной тундры. Возраст деревьев 100-130 лет, высота 10-15 м, диаметр 10-20 см. Деревья для своего возраста низкорослые, по жизненному состоянию – ослабленные.

Шаранская ПП относится к островным борам сосны на Белебеевской возвышенности. Находится на высоте 360 м над уровнем моря. Подрост отсутствует. В подлеске густая липа, крушина ломкая. В живом напочвенном покрове преобладают лугово-степные и степные злаки. Таксационная характеристика насаждения: тип леса – снытьевый, состав 10С, полнота 0,8, средний возраст деревьев 95 лет, средняя высота 25,3 м, средний диаметр 30 см, класс бонитета III. Жизненное состояние древостоя определено как здоровое. Дюртюлинская

Калашник Надежда Александровна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории генетики и цитологии растений. E-mail: kalash.ufa@mail.ru

ПП расположена в зоне северной правобережной хвойно-широко-лиственной лесостепи, на надпойменной террасе реки Белой. Высота 200 м над уровнем моря. Подрост отсутствует. В подлеске береза и липа. Покров очень мощный – папоротники, сныть, злаки, хвощ лесной. Таксационная характеристика насаждения: тип леса – снытьево-костяничниковый, состав 9С+Е, полнота 0,8, средний возраст деревьев 130 лет, средняя высота 36 м, средний диаметр 48 см, класс бонитета I. Жизненное состояние древостоя определено как здоровое. Учалинская ПП находится на восточных предгорьях Южноуральского горного массива. Высота над уровнем моря 550 м. Подрост сосны равномерный, крепкий. В подлеске – береза, крушина ломкая. Покров представлен злаками, костяникой, брусникой, земляникой. Таксационная характеристика насаждения: тип леса – сосняк зеленомошниковый, состав 10С, полнота 1,0, средний возраст деревьев 115 лет, средняя высота 24 м, средний диаметр 31 см, класс бонитета II. Жизненное состояние древостоя определено как здоровое.

Зилаирская ПП – находится на территории Зилаирского плато на высоте 500 м над уровнем моря. Растительный покров представлен злаками, костяникой, клевером горным, купеной лекарственной. Таксационная характеристика насаждения: тип леса – злаковый, состав 10С, полнота 0,7, средний возраст деревьев 120 лет, средняя высота 27,1 м, средний диаметр 30 см, класс бонитета III. Жизненное состояние древостоя определено как здоровое.

Описание ПП из условий промышленного загрязнения и контроля. Карабашская ПП находится на территории г. Карабаш Челябинской области. Высота над уровнем моря 300-400 м. Таксационная характеристика насаждения: тип леса – сосняк бруснично-раkitниковый, состав 10С+Б, полнота 0,5, средний возраст деревьев 130 лет, средняя высота 23 м, средний диаметр 32 см, класс бонитета III. Особенностью данной ПП является то, что она 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 в год. Превышение нормативных значений загрязнителей в районе ЗАО «Карабашмедь» 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».

Саткинская ПП находится в районе г. Сатка Челябинской области. Высота над уровнем моря 300-400 м. Таксационная характеристика насаждения: тип леса – сосняк бруснично-раkitниковый, состав 10С+Б, полнота 0,5, средний возраст деревьев 130 лет, средняя высота 22 м, средний диаметр 40 см, класс бонитета III. Данная 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 магнезитовой пылью, выброс которой составлял до 65 т/сут. Магнезитовая пыль, образуя при контакте с водой гидрат окиси магнезия, 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, пожелтение хвои. В целом древостой по жизненному состоянию классифицирован как отмирающий. Экологическое состояние данной территории также можно определить как критическое.

Новоандреевская ПП находится в районе пос. Новоандреевка (между г. Карабаш и г. Миасс) Челябинской области. Высота над уровнем моря 300-400 м. Таксационная характеристика насаждения: тип леса – сосняк бруснично-раkitниковый, состав 6С4Б, полнота 0,6, средний возраст деревьев 130 лет, средняя высота 21 м, средний диаметр 36 см, класс бонитета III. Данная ПП 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 исключать влияние на насаждение воздушных поллютантов, однако отсутствие у деревьев видимых повреждений позволяет использовать данную ПП в качестве контроля. Жизненное состояние древостоя определено как здоровое.

В качестве материала для проведения исследований использовали меристематическую ткань проростков семян. Исследования проводили на давленных препаратах, используя методику классического кариологического анализа, модифицированную применительно к хвойным породам [14]. Вторичные перетяжки изучали на увеличенных микрофотографиях метафазных пластинок (рис. 1) при общем увеличении $\times 2500$. По каждой ПП исследовали не менее 50 метафазных пластинок. Определяли среднее число вторичных перетяжек на кариотип, частоту их встречаемости (перетяжки с частотой встречаемости более 50% считали постоянными, менее 50% – непостоянными) и место локализации на хромосомном

плече (sc), определяемое как отношение расстояния от вторичной пере-тяжки до центромеры к общей длине данного плеча, выраженное в процентах. С целью выявления соответствия районов вторичных перетяжек хромосом с местом локализации ядрышковых организаторов, наряду с

классическим методом окраски хромосом использовался метод гибридизации нуклеиновых кислот *in situ* по определению последовательностей генов рРНК (рис. 2). Статистическую обработку результатов проводили общепринятыми методами [5].

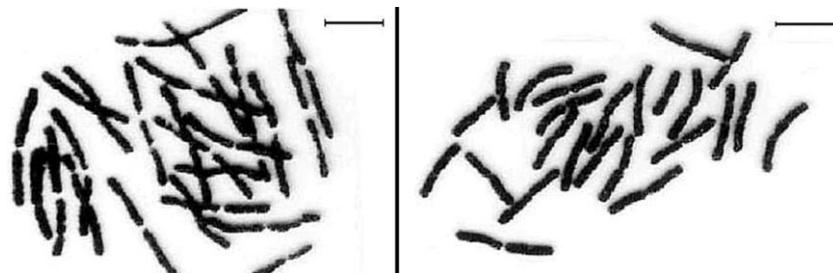


Рис. 1. Микрофотографии метафазных пластинок сосны обыкновенной, полученные методом классической окраски. Масштабная линия соответствует 10 мкм

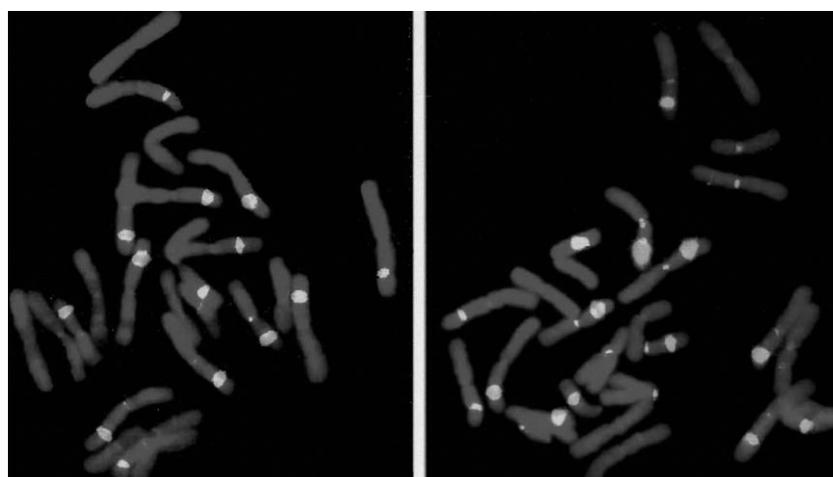


Рис. 2. Микрофотографии метафазных пластинок сосны обыкновенной, полученные методом гибридизации *in situ*

Результаты и их обсуждение. Результаты проведенных исследований показали, что среднее число вторичных перетяжек на кариотип на исследуемых пробных площадях находится в пределах от 5,5 до 9,2, их общее число варьирует – от 8 до 18, постоянных перетяжек 3–8, непостоянных перетяжек 5–10 (табл. 1).

Наибольшее число вторичных перетяжек наблюдается на ПП, находящихся в горных условиях, средние значения этого показателя наблюдаются на ПП, находящихся в условиях возвышенностей и промышленного загрязнения, наименьшие

значения – в условиях одной из воз-вышенностей, равнинных условиях и контроле. Использование одноцепочечных полинуклеотид-ных «зондов», меченых радиоактивными изотопами, позволило определить, что число участков 18-25 рРНК генов у сосны обыкновенной варьирует от 10 до 16 (см. рис. 2). У сосны обыкновенной исследуемых ПП также наблюдается высокий полиморфизм по локализации вторичных перетяжек на хромосомных плечах как постоянных, так и непостоянных (рис. 3, табл. 2).

Таблица 1. Число вторичных перетяжек в кариотипах сосны обыкновенной на исследуемых ПП

Название ПП	Число вторичных перетяжек			
	постоян-ных	непостоян-ных	общее	среднее
Иремельская	8	10	18	9,2±0,65
Авалякская	7	8	15	8,2±0,63
Шаранская	7	7	14	7,9±0,62

Дюртюлинская	5	5	10	5,7±0,23
Учалинская	4	7	11	6,1±0,25
Зилаирская	3	5	8	5,5±0,20
Карабашская	6	5	11	6,5±0,21
Саткинская	4	10	14	8,0±0,62
Новоандреевская	3	8	11	6,0±0,25

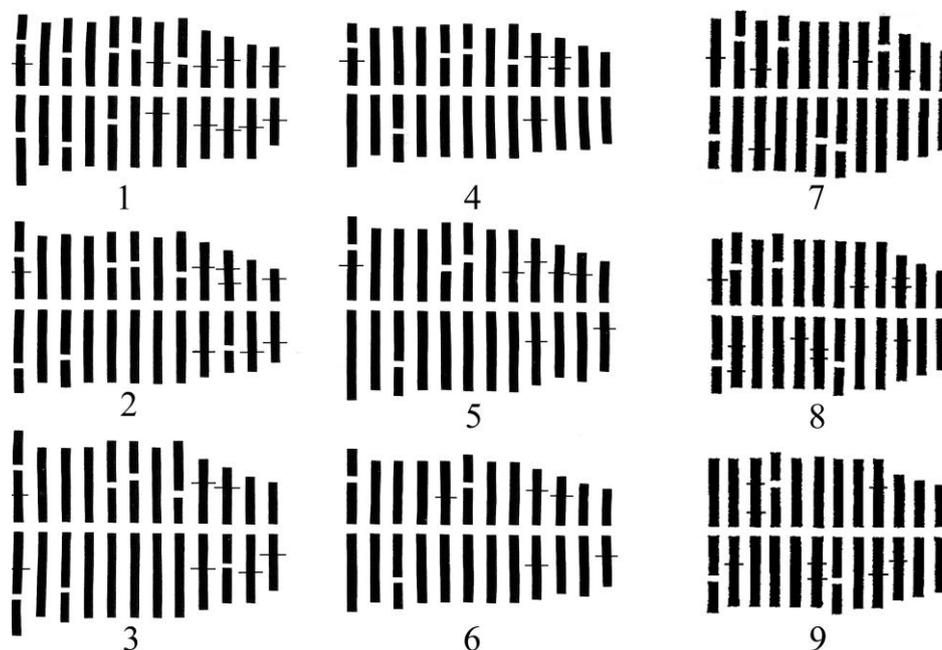


Рис. 3. Идиограммы кариотипов сосны обыкновенной на исследованных ПП:

1 – Ирмельской; 2 – Авалякской; 3 – Шаранской; 4 – Дюртюлинской; 5 – Учалинской; 6 – Зилаирской; 7 – Карабашской; 8 – Саткинской; 9 – Новоандреевской. Пробелами на плечах хромосом обозначены постоянные вторичные перетяжки, горизонтальными линиями – непостоянные

Таблица 2. Локализация вторичных перетяжек в кариотипах сосны обыкновенной исследуемых ПП

Хромосомы и группы хромосом	Локализация постоянных вторичных перетяжек (sc)	Локализация непостоянных вторичных перетяжек (sc)
1	2	3
Ирмельская		
I-IX	36,7; 42,2; 43,9; 43,9; 48,7; 55,9; 59,7; 64,9	23,9; 28,6; 35,9; 36,4; 45,5
X	-	53,5; 56,2
XI	-	47,8
XII	-	47,6; 50,0
Авалякская		
I-IX	37,4; 51,9; 51,9; 57,0; 61,4; 67,7	36,0; 55,1; 62,6
X	63,8	32,8; 65,4
XI	-	67,4
XII	-	58,0; 61,5
Шаранская		
I-IX	33,4; 45,1; 57,2; 58,7; 58,8; 64,0	32,4; 34,2; 45,7; 63,7
X	46,9	63,6
XI	-	56,1
XII	-	37,0
Дюртюлинская		
I - IX	37,0; 49,1; 55,0; 55,0; 58,5	37,5; 40,3; 53,6
X	-	37,7; 61,9

1	2	3
XI	-	-
XII	-	-
Учалинская		
I - IX	41,8; 56,4; 60,3; 63,2	39,2; 41,8; 42,0; 64,7
X	-	53,7
XI	-	57,0
XII	-	23,5
Зилаирская		
I - IX	57,3; 61,2; 63,9	46,2; 46,9; 59,3
X	-	59,0
XI	-	-
XII	-	40,0
Карабашская		
I - IX	55,8; 57,1; 58,3; 61,0; 61,2; 62,9	26,9; 40,2; 40,9; 71,2
X	-	39,8
XI	-	-
XII	-	-
Саткинская		
I - IX	54,9; 60,0; 60,3; 61,4	27,7; 37,6; 40,7; 41,4; 44,7; 55,8; 74,0
X	-	34,6; 45,4; 60,5
XI	-	-
XII	-	-
Новоандреевская		
I - IX	54,7; 57,1; 59,5	19,3; 40,9; 42,0; 54,4; 60,7; 64,2; 64,4
X	-	38,0
XI	-	-
XII	-	-

В целом следует отметить, что у сосны обыкновенной на исследованных ПП наблюдается отчетливая тенденция увеличения числа нуклеолярных районов хромосом в условиях как природного, так и антропогенного стресса. Следует отметить, что именно нуклеолярные районы хромосом (или ядрышкообразные организаторы хромосом) участвуют в жизненно важной функции организма – механизме белкового синтеза, а в основе интенсификации любых биосинтетических процессов лежит изменение активности генома, в том числе, той его части, которая ответственна за синтез рРНК [6, 7, 9, 16]. Вероятно, сосна обыкновенная на исследованных нами ПП, произрастающая в условиях гор и промышленного загрязнения, претерпевает значительное давление стрессовых факторов, что приводит к активизации латентных нуклеолярных локусов, то есть подключаются компенсаторные механизмы для обеспечения полноценного функционирования генома.

Полученные данные в целом согласуются с результатами исследований у сосны обыкновенной ядрышкообразующих районов хромосом, проведенных ранее другими авторами [1, 2, 4, 8, 10, 11, 12, 13, 15, 17]. Анализ этих результатов показывает наличие высокого полиморфизма по числу, частоте встречаемости и локализации вторичных перетяжек в кариотипах исследуемого вида. 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 [12]. Также большое число вторичных перетяжек обнаружено у сосны обыкновенной, произрастающей в районе верхового болота – до 34 перетяжек на диплоидный набор [11]. То есть, у сосны обыкновенной в экологически неблагоприятных условиях наблюдается тенденция увеличения активности нуклеолярных районов хромосом, что, вероятно, связано с процессами ее адаптации к этим условиям.

Выводы:

1. В условиях высокогорий и промышленного загрязнения у сосны обыкновенной наблюдается увеличение числа функционирующих нуклеолярных районов хромосом (увеличивается общее и среднее число вторичных перетяжек на кариотип, а также число перетяжек с постоянной и непостоянной локализацией).

2. У сосны обыкновенной, произрастающей в условиях как природного, так и антропогенного стресса, происходит активизация латентных нуклеолярных локусов, то есть подключаются компенсаторные механизмы, обеспечивающие организмам процессы адаптивных изменений.

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.* Кариологическая характеристика популяций сосны обыкновенной в азиатской части СССР / *Г.А. Абатурова, О.П. Шеришуква* // 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. *Вольф, В.Г.* Статистическая обработка данных. – М.: Колос, 1966. 255 с.
6. *Дуброва, Н.А.* Ядрышкообразные организаторы хромосом как адаптивный элемент вида // Журнал общей биологии. 1989. Т. 50, № 2. С. 213-217.
7. *Дуброва, Н.А.* Изучение полиморфизма ядрышкообразующих хромосом у видов рода *Actaea* L. (*Ranunculaceae* Juss.) / *Н.А. Дуброва, Л.А. Малахова* // Цитология и генетика. 1980. Т. 14, № 5. С. 3-8.
8. *Кириченко, О.И.* Изменчивость морфологических и кариологических признаков некоторых популяций сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) на Украине: Автореф. дисс. ... к.б.н. – Воронеж, 1984. 20 с.
9. *Машкин, С.Н.* Сезонная динамика числа и размеров ядрышек и ядерно-ядрышковых отношений у представителей подсемейства сливовых при их интродукции / *С.Н. Машкин, М.И. Назарова* // Цитология. 1976. Т. 18, № 12. С. 1438-1443.
10. *Муратова, Е.Н.* Особенности ядрышкообразующих хромосом у представителей рода *Pinus* L. // Изв. АН СССР. Сер. биол. наук. 1983. № 5. С. 700-712.
11. *Муратова, Е.Н.* Кариологическое исследование болотных и суходольных популяций сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) / *Е.Н. Муратова, Т.С. Седельникова* // Экология. 1993. № 6. С. 41-50.
12. Особенности формирования популяций сосны обыкновенной. – М.: Наука, 1984. 128 с.
13. *Правдин, Л.Ф.* Сосна обыкновенная. Изменчивость, внутривидовая систематика и селекция. – М.: Наука, 1964. 190 с.
14. *Правдин, Л.Ф.* Методика кариологического изучения хвойных пород / *Л.Ф. Правдин, В.А. Бударагин, М.В. Круклис, О.П. Шеришуква* // Лесоведение. 1972. №2. С. 67-75.
15. *Сунцов, А.В.* Цитогенетика и эмбриология сосны обыкновенной в изолированных популяциях Центральной Тувы: Автореф. дисс. ... к.б.н. – Красноярск, 1984. 16 с.
16. *Шахбазов, В.Г.* Некоторые особенности ядрышка и ядра в клетках гибридного лука / *В.Г. Шахбазов, Н.Г. Шестопалова* // Докл. АН СССР. 1971. Т. 196, № 5. С. 1207-1208.
17. *Шиниашвили, Р.М.* Кариотип сосны Сосновского // Цитология. 1968. Т. 10, № 2. С. 255-258.

POLYMORPHISM OF NUCLEOLAR CHROMOSOME REGIONS IN SCOTCH PINE UNDER THE DIFFERENT ECOLOGICAL CONDITIONS

© 2015 N.A. Kalashnik

Botanical Garden-Institute, Ufa Scientific Center RAS

Polymorphism of nucleolar regions of chromosomes have been studied in Scots pine under different ecological conditions (mountains, hills, plains, industrial pollution as compared to a control one). The results provide evidence for an enhancing of extreme environmental factors and technogenic pollution on functional activity of nucleolar regions chromosomes in Scots pine.

Key words: *nucleolar chromosome regions, Scots pine, ecological conditions*