УДК 502.3: 582.475: 575.224.23

ХРОМОСОМНЫЕ НАРУШЕНИЯ У ЕЛИ СИБИРСКОЙ В РАЗЛИЧНЫХ ПРИРОДНЫХ УСЛОВИЯХ ЮЖНОГО УРАЛА

© 2017 Н.А. Калашник

Ботанический сад-институт Уфимского научного центра РАН

Статья поступила в редакцию 22.05.2017

Проведены исследования хромосомных нарушений у ели сибирской в различных природных условиях Южного Урала (высокогорья, горы, предгорья, равнины и долины рек, районы геохимических аномалий). Установлено, что пробные площади изучаемого вида отличаются по уровню и характеру хромосомных нарушений. Наиболее высокий уровень нарушений наблюдается в условиях высокогорий и районах геохимический аномалий. Между пробными площадями из экстремальных и оптимальных условий произрастания установлена достоверность различий при разных уровнях значимости.

Ключевые слова: хромосомные нарушения, ель сибирская, различные природные условия, Южный Урал

По мнению исследователей проявляющийся на цитогенетическом уровне естественный мутационный процесс складывается из двух: истинно спонтанного, имеющего место в любых условиях обитания живых организмов, и индуцированного, проявляющегося при условиях, которые можно назвать патологическими [6]. Известно, что грубые структурные изменения хромосомного аппарата обычно существенно снижают жизнедеятельность клетки, поэтому устойчивость генома к действию разных факторов (эндогенных и экзогенных), вызывающих хромосомные мутации, является показателем его надежности [10]. Также известно, что различного рода хромосомные нарушения служат источником формирования генетической изменчивости и являются материалом для эволюции, в чем, бесспорно, заключается их положительная роль [17]. Учитывая, что хромосомные мутации, прежде всего жизнеспособные, могут являться материалом для создания генетической изменчивости, их популяционное изучение представляет собой интерес в плане выявления закономерностей формирования генетического полиморфизма и эволюционного преобразования исследуемого вида.

Кариотип ели сибирской изучался в различных частях ее обширного ареала. Многие авторы, давая стандартную кариологическую характеристику (число, морфометрические параметры, морфологические типы хромосом), отмечают единичные случаи присутствие в хромосомных наборах добавочных и кольцевых хромосом [2, 5, 7, 11, 15, 16, 18]. Однако целенаправленных комплексных исследований по изучению естественного мутационного процесса у ели сибирской до настоящего времени не проводилось.

Цель работы: исследование уровня хромосомных нарушений в соматической ткани ели сибирской в различных природных условиях Южного Урала (высокогорья, горы, предгорья, равнины и долины рек, районы геохимических аномалий).

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

Материалы и методы. В качестве объектов для исследования выбраны средневозрастные естественные насаждения ели сибирской, произрастающие на территории Республики Башкортостан и Челябинской области, всего исследовано 18 пробных площадей (ПП) из различных природных условий. На выбранных ПП оценивалось жизненное состояние древостоев согласно классификации В.А. Алексеева [1], при анализе результатов учитывались природно-климатические условия и геохимические особенности районов исследования [8, 9, 14].

Описание пробных площадей. ПП Иремельская 1 находится в районе горы Иремель (высота над уровнем моря 1582 м), на верхней границе распространения леса и характеризуется суровыми климатическими условиями произрастания (продолжительным низкотемпературным зимним периодом, резкими колебаниями дневных и ночных температур, сильными ветрами, обильными атмосферными осадками). Признаки угнетенности древостоя ярко выражены, его жизненное состояние квалифицированно как сильно ослабленное. ПП Иремельская 2 находится у подножья горы Иремель со стороны пос. Тюлюк, насаждение по жизненному состоянию определено как здоровое.

ПП Белорецкая 1 находится в районе горы Малиновая (высота над уровнем моря 1152 м), на верхней границе распространения леса и характеризуется суровыми климатическими условиями произрастания. У данного древостоя выражены признаки угнетенности, его жизненное состояние квалифицированно как ослабленное. ПП Белорецкая 2 находится в долине реки Нура (между г. Белорецк и пос. Отнурок), ПП Белорецкая 3 – в долине реки Большой Инзер (пос. Карталы), ПП Белорецкая 4 – в долине реки Малый Инзер. (пос. Реветь), ПП Гафурийская находиться у подножья хребта Такаты. Видимых повреждений древостоя на вышеуказанных ПП практически не наблюдается, насаждения по жизненному состоянию характеризованы как здоровые.

ПП Салаватская и Дуванская находятся в регионе, который характеризуется сложным геологолитологическим строением. В тектоническом отношении эта зона западной части Юрюзано-Айской депрессии, стыкующаяся с восточной частью Уфимского плато и северной частью Каратауского структурного комплекса, в которой расположено несколько изолированных рифовых массивов, сложенных ассельско-артинскими органогенными известняками с повышенным содержанием редких элементов (кадмия, стронция, кобальта, селена, марганца, меди, титана, хрома, ванадия и др.). В этих насаждениях наблюдаются незначительные единичные видимые повреждения деревьев, состояние древостоев, в целом, классифицировано как здоровое.

ПП Караидельская (пос. Хорошаево) и Нуримановская (пос. Павловка) находятся в районе Уфимского плато вблизи Павловского водохранилища, видимых повреждений древостоя на данных ПП практически не наблюдается, насаждения по жизненному состоянию определены как здоровые.

ПП Таганайская 1 находится в районе горы Таганай (высота над уровнем моря 1117 м), рядом с гребнем Откликной, на верхней границе распространения леса и отличается суровостью климатических условий, характерных для высокогорий. Насаждения данной ПП имеют признаки угнетенности древостоя, его жизненное состояние квалифицированно как ослабленное. ПП Таганайская 2 находится на склоне горы Таганай (ключ Гремучий), ПП Таганайская 3 находится у подножья горы Таганай (ключ Белый), ПП Златоустовская находится на расстоянии 20 км южнее г. Златоуста в долине реки Ай (пос.

Веселовка). Видимых повреждений древостоя на данных ПП не наблюдается, насаждения по жизненному состоянию охарактеризованы как здоровые

ПП Ашинская 1 находится в районе горы Ажигардак (высота над уровнем моря 734 м), ПП Ашинская 2 находится в районе Воробьиных гор (высота над уровнем моря 653 м), ПП Ашинская 3 находится у подножья Воробьиных гор (пос. Точильный). Существенных видимых повреждений древостоя на данных ПП практически не наблюдается, насаждения по жизненному состоянию определены как здоровые.

В качестве материала для проведения исследований использована меристематическая ткань проростков семян. Семена проращивали в чашках Петри, фиксировали в спиртово-уксусном фиксаторе (3:1) в течение суток, затем переводили на хранение в 70%-ный этиловый спирт. Для цитологического анализа материал окрашивали в 1%-ном растворе ацетогематоксилина по методике, модифицированной применительно к хвойным породам [13]. Препараты изучали при помощи микроскопов МБИ-6 и БИМАМ Р13. С каждой пробной площади исследовали 1000 делящихся клеток на стадии анателофазы и 100 клеток на стадии метафазы митоза с учетом числа и характера аномалий. Уровень хромосомных нарушений определяли по методу 3.П. Паушевой [12]. Статистическую обработку результатов проводили общепринятыми методами [3], достоверность различий между исследуемыми пробными площадями ели сибирской по уровню хромосомных нарушений определяли по критерию $\chi 2$ [4].

Таблица 1. Результаты исследования хромосомных нарушений в соматической ткани ели сибирской на стадии ана-телофазы митоза

Название ПП	Аберрации, в %									
		структурны	e	геномные			Всего			
	мосты	фрагмен-	кольца	отставания	забегания	многопо-				
		ТЫ				люсность				
Республика Башкортостан										
Иремельская 1***	1,50 <u>+</u> 0,38	1,30 <u>+</u> 0,36	0,20+0,14	1,00 <u>+</u> 0,31	1,10 <u>+</u> 0,33	0,40+0,20	5,50+0,72			
Иремельская 2	1,00 <u>+</u> 0,31	1,20 <u>+</u> 0,34	_	0,70+0,26	0,90 <u>+</u> 0,30	0,20 <u>+</u> 0,14	4,00 <u>+</u> 0,62			
Белорецкая 1***	1,30 <u>+</u> 0,36	0,80 <u>+</u> 0,28	0,20+0,14	1,10 <u>+</u> 0,33	0,80 <u>+</u> 0,28	0,30 <u>+</u> 0,17	4,50 <u>+</u> 0,66			
Белорецкая 2	0,80 <u>+</u> 0,28	0,50 <u>+</u> 0,22	_	0,50 <u>+</u> 0,22	1,20 <u>+</u> 0,34	0,20+0,14	3,20+0,56			
Белорецкая 3	0,60 <u>+</u> 0,24	0,30 <u>+</u> 0,17	0,10 <u>+</u> 0,10	0,60 <u>+</u> 0,24	0,90 <u>+</u> 0,30	_	2,50 <u>+</u> 0,49			
Белорецкая 4	0,90 <u>+</u> 0,30	0,40 <u>+</u> 0,20	_	0,30 <u>+</u> 0,17	0,50 <u>+</u> 0,22	0,10 <u>+</u> 0,10	2,20 <u>+</u> 0,46			
Гафурийская	1,90 <u>+</u> 0,43	0,30 <u>+</u> 0,17	_	0,60 <u>+</u> 0,24	0,60 <u>+</u> 0,24	0,20 <u>+</u> 0,14	3,60 <u>+</u> 0,59			
Салаватская*	1,30 <u>+</u> 0,36	0,50 <u>+</u> 0,22	_	0,50 <u>+</u> 0,22	0,40 <u>+</u> 0,20	0,30 <u>+</u> 0,17	3,00+0,54			
Дуванская [*]	0,70 <u>+</u> 0,26	0,50 <u>+</u> 0,22	_	1,00 <u>+</u> 0,31	0,40 <u>+</u> 0,20	_	2,60 <u>+</u> 0,50			
Караидельская	1,00 <u>+</u> 0,31	0,30 <u>+</u> 0,17	_	0,10 <u>+</u> 0,10	0,80 <u>+</u> 0,28	0,30 <u>+</u> 0,14	2,50 <u>+</u> 0,49			
Нуримановская	0,60 <u>+</u> 0,24	_	_	0,60 <u>+</u> 0,24	0,70 <u>+</u> 0,26	-	1,90 <u>+</u> 0,43			
Челябинская область										
Таганайская 1***	1,30 <u>+</u> 0,36	0,80 <u>+</u> 0,28	0,30 <u>+</u> 0,17	1,20 <u>+</u> 0,34	1,50 <u>+</u> 0,38	0,20 <u>+</u> 0,14	5,30+0,71			
Таганайская 2**	1,80 <u>+</u> 0,42	0,30 <u>+</u> 0,17	_	0,60 <u>+</u> 0,24	0,80 <u>+</u> 0,28	0,40 <u>+</u> 0,20	3,90 <u>+</u> 0,61			
Таганайская 3	0,50 <u>+</u> 0,22	0,40 <u>+</u> 0,20	_	0,80 <u>+</u> 0,28	1,10 <u>+</u> 0,33	_	2,80 <u>+</u> 0,52			
Златоустовская	1,40 <u>+</u> 0,37	0,60 <u>+</u> 0,24	_	0,50 <u>+</u> 0,22	0,50 <u>+</u> 0,22	0,10+0,10	3,10+0,55			
Ашинская 1**	1,10 <u>+</u> 0,33	0,80 <u>+</u> 0,28	0,10+0,10	0,70 <u>+</u> 0,26	0,90 <u>+</u> 0,30	0,10 <u>+</u> 0,10	3,70 <u>+</u> 0,60			
Ашинская 2**	0,50 <u>+</u> 0,22	0,30 <u>+</u> 0,17		1,20 <u>+</u> 0,34	0,90 <u>+</u> 0,30		2,90 <u>+</u> 0,53			
Ашинская 3	0,60 <u>+</u> 0,24	0,20 <u>+</u> 0,14	0,10 <u>+</u> 0,10	0,30 <u>+</u> 0,17	0,70 <u>+</u> 0,26	0,10 <u>+</u> 0,10	2,00 <u>+</u> 0,44			

Примечание: здесь и далее - условные обозначения: *** – высокогорья; ** – горы; * – геохимические аномалии; без обозначения – предгорья, равнины и долины рек

Таблица 2. Результаты исследования хромосомных нарушений в соматической ткани ели сибирской на стадии метафазы митоза

Название ПП	Аберрации, в %							
	структурные			геномные			Всего	
	фрагмен-	кольца	дицен-	анеуплои-	поли-	B-		
	ТЫ		трики	дия	плоидия	хромосомы		
Республика Башкортостан								
Иремельская 1***	1,00 <u>+</u> 0,99	_	5,00 <u>+</u> 2,18					
Иремельская 2	1,00 <u>+</u> 0,99	1,00 <u>+</u> 0,99	_	_	_	1,00 <u>+</u> 0,99	3,00 <u>+</u> 1,71	
Белорецкая 1***	1,00 <u>+</u> 0,99	1,00 <u>+</u> 0,99	-	1,00 <u>+</u> 0,99	2,00 <u>+</u> 1,40	_	5,00 <u>+</u> 2,18	
Белорецкая 2	_	_	1,00 <u>+</u> 0,99	1,00 <u>+</u> 0,99	_	_	2,00 <u>+</u> 1,40	
Белорецкая 3	1,00 <u>+</u> 0,99	_	_	1,00 <u>+</u> 0,99	-	-	2,00 <u>+</u> 1,40	
Белорецкая 4	1,00 <u>+</u> 0,99	_	_	1,00 <u>+</u> 0,99	-	-	2,00 <u>+</u> 1,40	
Гафурийская	1,00 <u>+</u> 0,99	2,00 <u>+</u> 1,40	_	_	-	1,00 <u>+</u> 0,99	4,00 <u>+</u> 1,96	
Салаватская*	-	3,00 <u>+</u> 0,17	-	2,00 <u>+</u> 1,40	_	-	5,00 <u>+</u> 2,18	
Дуванская [*]	-	1,00 <u>+</u> 0,99	_	1,00 <u>+</u> 0,99	-	-	2,00 <u>+</u> 1,40	
Караидельская	ı	_	1	2,00 <u>+</u> 1,40	_	1,00 <u>+</u> 0,99	3,00 <u>+</u> 1,71	
Нуримановская	ı	_	1,00 <u>+</u> 0,99	_	1,00 <u>+</u> 0,99	_	2,00 <u>+</u> 1,40	
Челябинская область								
Таганайская 1***	1,00 <u>+</u> 0,99	2,00 <u>+</u> 1,40	1,00 <u>+</u> 0,99	_	2,00 <u>+</u> 1,40	_	6,00 <u>+</u> 2,37	
Таганайская 2**	1,00 <u>+</u> 0,99	2,00 <u>+</u> 1,40	1	_	_	_	3,00 <u>+</u> 1,71	
Таганайская 3	_	1,00 <u>+</u> 0,99	_	1,00 <u>+</u> 0,99	1,00 <u>+</u> 0,99	_	3,00 <u>+</u> 1,71	
Златоустовская	1,00 <u>+</u> 0,99	2,00 <u>+</u> 1,40	_	_	-	-	3,00 <u>+</u> 1,71	
Ашинская 1**	_	1,00 <u>+</u> 0,99	_	1,00 <u>+</u> 0,99	_	1,00 <u>+</u> 0,99	3,00 <u>+</u> 1,71	
Ашинская 2**	1,00 <u>+</u> 0,99	_	_	1,00 <u>+</u> 0,99	_		2,00 <u>+</u> 1,40	
Ашинская 3	_	1,00 <u>+</u> 0,99	_	1,00 <u>+</u> 0,99	_	_	2,00 <u>+</u> 1,40	

Результаты и их обсуждение. Проведенные исследования показали, что ПП изучаемого вида отличаются по уровню и характеру хромосомных нарушений в соматической ткани. Общий уровень хромосомных нарушений на стадии ана-телофазы митоза варьирует от 1,90±0,43 до 5,50±0,72. Характерными структурными нарушениями на этой стадии митоза являются хромосомные мосты и фрагменты, реже встречаются кольцевые хромо-сомы; среди геномных нарушений наблюдаются отставания и забегания хромосом, а также многополюсные ана-телофазы (табл. 1, рис. 1, 3). Общий уровень хромосомных нарушений на стадии метафазы митоза варьирует от 2,00±1,40 до 6,00±2,37, характерными структурными нарушениями являются фрагменты, кольцевые и дицентрические хромосомы; среди геномных нарушений наблюдаются клетки с анеуплоидным числом хромосом (2n=22, 2n=23, 2n=25), полиплоидные клетки (2n=48) и хромосомные наборы с дополнительными В-хромосомами (табл. 2, рис. 2, 4). Следует отметить, что наиболее высокий уровень мутационного процесса наблюдался в условиях высокогорий и районов геохимических аномалий. В результате сравнения уровня хромосомных нарушений, выявленных на стадии ана-телофазы митоза с использованием критерия χ^2 установлена достоверность различий при разных уровнях значимости между ПП из экстремальных и

оптимальных условий. В результате сравнения уровня хромосомных наруше-ний, выявленных на стадии метафазы митоза различия между ПП определены как недостоверные, что может быть объяснено недостаточным объемом проведенных исследований (табл. 3).

Таблица 3. Показатели критерия χ^2 по уровню хромосомных нарушений, выявленных на различных стадиях митотического цикла

Стадия			
на- мет	a-		
офазы фаз	ВЫ		
1865* 0,52	808		
2827* 1,33	23		
215** 1,33	23		
692*** 1,33	23		
0,68	373		
0201 0,20	51		
5314 [*] 1,33	23		
2332* 1,04	71		
417*** 1,04	71		
145** 1,04	71		
189** 0,20	51		
6946* 0,00	000		
	на- рфазы фаз 1865° 0,52 1827° 1,33 215°° 1,33 692°°° 1,33 4460° 0,68 0201 0,20 3314° 1,33 1332° 1,04 417°°° 1,04 145°° 1,04		

Примечание: условные обозначения: *** - $\chi^2 > \chi^2_{st}$ при $\rho = 0,01$; ** - $\chi^2 > \chi^2_{st}$ при $\rho = 0,05$; * - $\chi^2 > \chi^2_{st}$ при $\rho = 0,2$

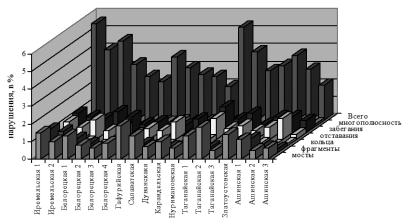


Рис. 1. Хромосомные нарушения в соматической ткани ели сибирской на стадии ана-телофазы митоза

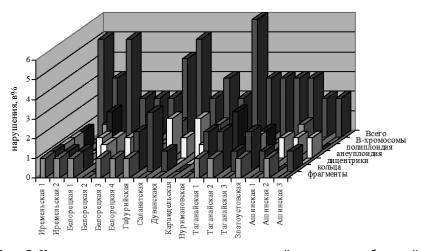


Рис. 2. Хромосомные нарушения в соматической ткани ели сибирской на стадии метафазы митоза

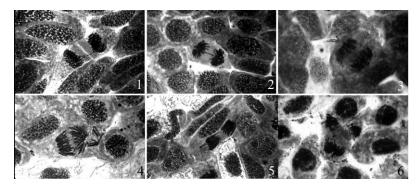


Рис. 3. Микрофотографии ана-телофазных пластинок ели сибирской с нарушениями: 1, 2 – мосты; 3 – кольцевая хромосома; 4, 5 – забегания; 6 – многополюсность. Увеличение: объектив x60, окуляр x10.

Выводы:

- 1. ПП ели сибирской из различных природных условий произрастания различаются по уровню и характеру хромосомных нарушений в соматической ткани.
- 2. Характерными структурными нарушениями на стадии ана-телофазы митоза являются хромосомные мосты, фрагменты, кольцевые хромосомы; геномными нарушениями отставания и забегания хромосом, многополюсность.
- 3. Характерными структурными нарушениями на стадии метафазы митоза являются фрагменты, кольцевые и дицентрические хромосомы; геномными нарушениями анеуплоидные и полиплоидные клетки, дополнительные В-хромосомы.
- 4. Наиболее высокий уровень хромосомных нарушений наблюдается в условиях высокогорий и районах геохимических аномалий

5. Между ПП из экстремальных и оптимальных условий произрастания установлена достоверность

различий при разных уровнях значимости.

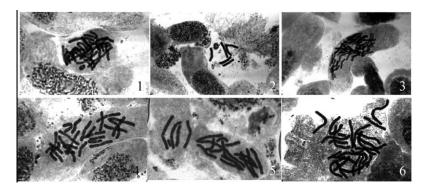


Рис. 4. Микрофотографии метафазных пластинок ели сибирской с нарушениями:

- 1, 2 кольцевые хромосомы; 3 полиплоидная клетка; 4, 5 В-хромосомы;
 - 6 дицентрическая хромосома. Увеличение: объектив х60, окуляр х10.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

- Алексеев, В.А. Диагностика жизненного состояния деревьев и древостоев // Лесоведение. 1989. № 4. С. 51-57
- 2. *Владимирова, О.С.* Кариологические особенности ели сибирской *Picea obovata* Ledeb. из разных мест произрастания // Цитология. 2002. Т. 44. № 7. С. 712-718.
- 3. *Вольф, В.Г.* Статистическая обработка данных. М.: Колос, 1966. 255 с.
- 4. *Животовский, Л.А.* Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991. 271 с.
- Круклис, М.В. Кариологические особенности Picea obovata Ldb. // Лесоведение. 1971. №2. С. 76-84.
- Лебедева, Л.И. Возможные механизмы возникновения перестроек хромосом. Сообщ IV. О перестройках хромосом при спонтанном мутагенезе / Л.И. Лебедева, Н.Н. Яковченко // Генетика. 1988. Т. 24. №6. С. 1033-1040.
- Медведева, Н.С. Кариологическое исследование ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.) из Якутской АССР / Н.С. Медведева, Е.Н. Муратова // Известия СО АН СССР. Сер. биол. наук. 1987. Вып. 1. № 6. С.15-21.
- Мукатанов, А.Х. Введение в изучение биогеоценозов Южного Урала. – Уфа: БФАН СССР,1986. 132 с.
- 9. *Мукатанов, А.Х.* Ландшафты и почвы Башкортостана. Уфа: УНЦ УрО РАН, 1992. 117 с.
- 10. *Мурадян, А.А.* Спонтанный мутационный процесс диких видов пшеницы и эгилопсов в Эребунийском

- заповеднике// Цитология и генетика. 1987. Т.21. №4. С. 303-305.
- Муратова, Е.Н. Кариосистематика семейства Pinaceae Lindl. Сибири и Дальнего Востока: Автореф. дисс. ... д.б.н. – Новосибирск, 1995. 32 с.
- Паушева, З.П. Практикум по цитологии растений. М.: Колос, 1980. 304 с.
- Правдин, Л.Ф. Методика кариологического изучения хвойных пород / Л.Ф. Правдин, В.А. Бударагин, М.В. Круклис, О.П. Шершукова // Лесоведение. 1972. №2. С. 67-75.
- Проблемы экологии: Принципы их решения на примере Южного Урала / Под ред. Н.В. Старовой. – М.: Наука, 2003. 287 с.
- Путенихин, В.П. Ель сибирская на Южном Урале и в Башкирском Предуралье (популяционно-генетическая структура) / В.П. Путенихин, З.Х. Шигапов, Г.Г. Фарукшина. – М.: Наука, 2005. 180 с.
- Скупченко, Л.А. Кариотип ели сибирской на севере Коми АССР // Лесоведение. 1975. №2. С. 70-74.
- Стегний, В.Н. Эволюционное значение хромосомных инверсий // Журнал общ. биологии. 1984. Т.45. №1. С. 3-15.
- Шершукова, О.П. Кариотип ели сибирской Picea obovata Ledeb. популяции Алтая // Научные основы селекции хвойных древесных пород. – М.: Наука, 1978. С. 35-65.

CHROMOSOME ABERRATIONS IN SIBERIAN SPRUCE UNDER DIFFERENT NATURAL CONDITIONS OF THE SOUTHERN URALS

© 2017 N.A. Kalashnik

Botanical Garden-Institute, Ufa Research Center Russian RAS

Researches the chromosome aberrations in Siberian spruce under different natural conditions on the Southern Urals (high mountains, mountains, foothills, plains, valleys of the rivers, areas of natural geochemical anomalies). The results provide that test plots of species under studied differ in their level and nature of the chromosome aberrations, the highest level of aberrations observed in high mountains and areas of natural geochemical anomalies. Between test plots from extreme and optimal growth conditions established reliability of differences at different significance levels.

Key words: chromosome aberrations, Siberian spruce, different natural conditions, Southern Urals

Nadezhda Kalashnik, Candidate of Biology, Leading Research Fellow at the Laboratory of Plants Genetic and Biotechnology. E-mail: kalash.ufa@mail.ru