

## ОЦЕНКА ВСТРЕЧАЕМОСТИ В-ХРОМОСОМ ЕЛИ СИБИРСКОЙ В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОГО СТРЕССА

© О. С. Владимирова, Е. Н. Муратова

УДК 576.316.353.7:582.475

Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, г. Красноярск, Россия

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых МК-2536.2005.4, РФФИ-ККФН «Енисей-2005» (проект № 05-04-97717)

В работе представлены результаты кариологического изучения ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.), произрастающей в условиях антропогенного стресса и естественных популяциях с оптимальными условиями. Изучали как материнский кариотип отдельных деревьев, так и кариотип семенного потомства. Полученные данные свидетельствуют о более широком распространении добавочных хромосом в кариотипе ели сибирской в городских условиях по сравнению с популяциями, находящимися в более благоприятных экологических условиях. Предполагается адаптивная роль В-хромосом, обеспечивающая устойчивость организмов в неблагоприятных воздействиях. Обсуждается возможность использования данных о встречаемости (или о наличии) добавочных хромосом как одного из критериев для цитогенетического мониторинга.

Results of karyological study of Siberian spruce from some stands in conditions of anthropogenic stress (Krasnoyarsk, Chernogorsk, Achinsk) and natural populations in optimum conditions are given. Study of individual trees mother karyotypes and karyotypes of seeds has been conducted. The most of trees and seeds from cities have in addition to typical chromosome number ( $2n = 24$ ) one, two or three additional chromosomes ( $2n = 24 + 1B$ ;  $2n = 24 + 2B$ ;  $2n = 24 + 3B$ ). System of B-chromosomes is importance for population and species adaptation and possibly plays role for adaptation of *Picea obovata* in condition of anthropogenic contamination.

### Введение

В последние годы загрязнение окружающей среды стало одной из острых и глобальных проблем. Кариологические и цитогенетические исследования показали, что у растений, подвергшихся антропогенному стрессу, отмечены патологии в митозе, нарушение ядрышковых характеристик, хромосомные мутации, появление и повышение частоты встречаемости добавочных хромосом [1-6].

Одним из самых используемых в городском озеленении видов является ель сибирская - *Picea obovata* Ledeb. Этот вид отличается декоративной кроной и имеет красивые формы с желтоватой, голубоватой и сизой хвоей. [7]. Кроме того, еловые насаждения обеспечивают также

бактерицидность приземного слоя воздуха, образуя своего рода «противомикробную зону» и выполняют функцию биологических фильтров атмосферы [8].

В кариологическом отношении ель сибирская является одним из наиболее изученных видов рода *Picea* [9-19]. Это стабильный диплоид с соматическим числом хромосом  $2n = 24$ . Однако интересной особенностью кариотипа данного вида является наличие добавочных хромосом (В-хромосом). Добавочные хромосомы хорошо отличаются от хромосом основного набора меньшими размерами, составляющими 25-30 % от размера самых крупных А-хромосом (или хромосом основного набора). В-хромосомы ели сибирской, также как у большинства представителей рода *Picea*,

относятся к двум морфологическим типам - метацентрическому (тип  $V_1$ ) и субметацентрическому (тип  $V_2$ ).

Роль и происхождение добавочных хромосом до сих пор не выяснены. Известно, что присутствие В-хромосом в кариотипе изменяет метаболизм всей клетки, оказывает влияние на важнейшие биологические процессы. Такие как длительность клеточного цикла, генетическую активность хромосом, поведение хромосом в митозе и мейозе, содержание РНК и гистонов, частоту клеточных делений [17, 20-25].

Многими авторами высказано предположение о том, что присутствие В-хромосом связано со стрессовыми условиями произрастания и с повышенной адаптивностью растений, имеющих такие хромосомы [2, 4, 17, 19, 22, 26]. В настоящей работе представлены результаты кариологического исследования ели сибирской, произрастающей в различных географических и экологических условиях.

#### **Объекты и методика**

Для кариологического исследования ели сибирской, произрастающей в условиях антропогенного стресса были выбраны: 1) ачинская естественная популяция (окрестности г. Ачинска, Красноярский край), 2) городские насаждения в г. Красноярске и 3) городские насаждения в г. Черногорске (Хакасия).

Для сравнения изучали четыре природные популяции Красноярского края: 1) качинская популяция (ст. Кача, Емельяновский л/з,) в 50 км от города, 2) водораздельная популяция (ж/д платформа Водораздел, Емельяновский л/з) в 60 км от города, 3) козульская популяция (окрестности п. Козулька, Козульский л/з) более 100 км от города, 4) шиндинская популяция (Курагинский район, верховье р. Шинда). Всего было изучено 7 местопроизрастаний ели сибирской.

Материалом для изучения материнского кариотипа являлись меристематические ткани молодой хвои, собранной с каждого дерева по отдельности (г. Красноярск, пл. Водораздел, ст. Кача). На меристематических тканях проростков семян изучали кариотип семенного потомства в популяции (г. Ачинск, ст. Кача, п. Козулька) или насаждении (г. Черногорск). Деревья из красноярских насаждений были отобраны из

5 районов города (около Большого концертного зала, около автовокзала «Взлетка», в Центральном парке им. М.

Горького, около здания Театра юного зрителя, на острове Отдыха). Из этих районов изучили 44 дерева ели сибирской примерно 10-15 - летнего возраста. Кроме того, изучались декоративные формы ели сибирской, произрастающие в дендрарии Института леса им. В.Н. Сукачева СО РАН г. Красноярска - *P. obovata* f. *seminskiensis* Lucznik - семирская форма; *P. obovata* f. *densifolia* Lucznik - длиннохвойная; *P. obovata* f. *lucifera* Lucznik - светящаяся; *P. obovata* f. *lutescens* Lucznik - желтая; *P. obovata* f. *pendula* Lucznik - плакучая. Всего в г. Красноярске для исследования материнского кариотипа было отобрано 52 дерева.

В ачинской популяции была собрана смесь семян с 30 деревьев, в г. Черногорске - с 20. На ст. Кача и пл. Водораздел отобраны по 25 растений близкого возраста в каждой популяции для изучения материнского кариотипа. Кроме того, в качинской популяции были собраны семена с 25 деревьев. В шиндинской популяции семена собирали с 20 деревьев, а в козульской - с 30. Таким образом, материнский кариотип изучался на 50 деревьях ели сибирской из естественных популяций (ст. Кача и пл. Водораздел) и на 52 деревьях из городских посадок (г. Красноярск). Кариотип семенного потомства изучался на смеси семян, полученных с 57 городских деревьев (г. Красноярск, г. Черногорск, г. Ачинск) и 75 деревьев естественных популяций (п. Козулька, ст. Кача, верховье р. Шинда). Хвою брали в разных частях кроны с 10 веток каждого дерева и анализировали по 100 метафазных пластинок. Исследовали не менее 30 проростков семян с клеточными делениями из каждого происхождения. Кариологический анализ проводили по принятым методикам для хвойных видов [15, 26, 27].

#### **Результаты и обсуждение**

При изучении материнского кариотипа ели сибирской из водораздельной популяции добавочных хромосом обнаружено не было, все деревья характеризовались кариотипом с типичным числом хромосом -  $2n = 24$ . В качинской популяции у двух деревьев были найдены В-хромосомы метацентрического типа -  $2n = 24 + 1V_1$  (рисунок 1). Всего из 50 деревьев, произрастающих в естественных популяциях с оптимальными экологическими условиями В-хромосомы обнаружены в материнском кариотипе у двух. Таким образом, встречаемость добавочных

хромосом составила в данном случае 4%.

В насаждениях г. Красноярска, напротив, добавочные хромосомы отмечены во всех изученных районах. Так, в кариотипе ели сибирской, произрастающей в районах БКЗ, «Взлетки», парка и ТЮЗа наряду с типичным набором хромосом ( $2n = 24$ ) была обнаружена В-хромосома метацентрического типа -  $2n = 24 + 1V_1$ . В кариотипе ели сибирской из насаждений на о. Отдыха отмечены одна и две добавочные хромосомы  $V_1$ -типа -  $2n = 24$ ;  $2n = 24 + 1V_1$ . У

декоративных форм ели сибирской из дендрария в кариотипе обнаружены В-хромосомы двух морфологических типов - мета- и субметацентрического ( $2n = 24$ ;  $2n = 24 + 1V_1$ ;  $2n = 24 + 1V_2$ ;  $2n = 24 + 1V_1 + 1V_2$ ). В общей сложности добавочные хромосомы в материнском кариотипе ели сибирской, произрастающей в условиях г. Красноярска отмечены у 22-х деревьев из 52-х изученных, что составляет 42.3%. Подробно результаты проведенного исследования представлены в таблице.



Рисунок 1 - Материнский кариотип ели сибирской из качинской популяции ( $2n = 24 + 1V$ ). В-хромосома указана стрелкой. Окраска ацетогематоксилином. Об. 90х, ок. 10

Изучение кариотипа семенного потомства, показало, что в самых экологически чистых условиях произрастания (шиндинская популяция) одна добавочная хромосома  $V_1$ -типа встречалась лишь в 6.0% случаев. В качинской популяции

7.7% проростков содержали одну добавочную хромосому и 1.5% - две В-хромосомы. Все В-хромосомы, обнаруженные в качинской популяции относились к метацентрикам (рисунок 2).



Рисунок 2 - Кариотип семенного потомства ели сибирской из качинской популяции ( $2n = 24 + 1V$ ). В-хромосома указана стрелкой. Окраска ацетогематоксилином. Об. 90х, ок. 10

Таблица - Встречаемость В-хромосом в материнском кариотипе и семенном потомстве ели сибирской в оптимальных и стрессовых условиях произрастания

Место сбора материала	Материнский кариотип						Кариотип семенного потомства						
	Количество изученных деревьев			Оптимальные условия			Количество изученных проростков			Число хромосом (2n) и частота его встречаемости, %			
	24	24+1В	24+2В	24+3В	24+2В	24+3В	30	65	50	84.3	24+1В	24+2В	24+3В
Верховье р.Шинда	-	-	-	-	-	-	30		94.0	6.0	0	0	0
Кача	25	92	0	0	0	65		90.8	7.7	1.5	0	0	
Водораздел	25	100	0	0	0	-		-	-	-	-	-	
Козулька	-	-	-	-	-	50		68.0	28.0	4.0	4.0	0	
Всего:	50	96.0	4.0	0	0	145		84.3	13.9	1.8	1.8	0	
Условия антропогенного стресса													
Красноярск	52	57.7	38.5	0	3.8	312		43.3	42.0	14.7	14.7	0	
Ачинск	-	-	-	-	-	50		62.0	24.0	12.0	12.0	2.0	
Черногорск	-	-	-	-	-	30		26.7	66.7	6.6	6.6	0	
Всего:	52	57.7	38.5	0	3.8	392		44.0	44.2	11.1	11.1	0.7	

В козульской популяции процент проростков семян с В-хромосомами немного выше - кариотип  $2n = 24 + 1B_1$  и  $2n = 24 + 1B_2$  содержали 28.0% проростков. Кариотип с двумя добавочными хромосомами -  $2n = 24 + 2B_1$ ,  $2n = 24 + 2B_2$ ,  $2n = 24 + 1B_1 + 1B_2$  имели 4% проростков. С помощью кариологического анализа определили, что из 145 проростков семян ели сибирской, произрастающей вдали от промышленного центра, В-хромосомы имеют 15.7%. Следует отметить, что в проростках и хвое с добавочными хромосомами последние были выявлены во всех клетках, доступных для изучения.

Что касается проростков семян городских деревьев ели сибирской, то большинство из них (55.3%) содержат от 1

до 3 добавочных хромосом двух морфологических типов -  $B_1$  и  $B_2$ . Кариотип ели сибирской из ачинской популяции с тремя В-хромосомами представлен на рисунке 3. Максимальное число проростков с В-хромосомами выявлено в г. Черногорске. Из 30 изученных проростков, добавочные хромосомы найдены в 22-х, что составляет 73.3%. Кроме того, у ели из Черногорска был отмечен высокий процент ядрышек аномальной морфологии - около 80% (рисунок 4). Т.С. Седельникова и Е.Н. Муратова [28] отмечали необычные по морфологии ядрышки у сосны обыкновенной с «ведьминой метлой». Ядрышки кольцевидной формы наблюдались у дуба черешчатого в зоне Чернобыльской АЭС [29].



Рисунок 3 - Кариотип семенного потомства ели сибирской из ачинской популяции ( $2n = 24 + 3B$ ). В-хромосомы указаны стрелками. Окраска ацетогематоксилином. Об. 90х, ок. 10

Известно, что морфологический тип ядрышка отражает уровни основных процессов, связанных с биогенезом рибосом. При обычной функциональной нагрузке, соответствующей физиологическим потребностям определенной группы клеток, скорости этих процессов постоянны, поэтому структура ядрышка остается практически неизменной. Резкие изменения уровней этих процессов могут проявляться в морфологическом отношении [30]. Вероятно, стрессовые условия для ели сибирской в Хакасии каким-то образом повлияли на функциональную систему ядрышка и

повлекли за собой аномалии в морфологии этой структуры.

Полученные данные свидетельствуют о более широком распространении добавочных хромосом в кариотипе ели сибирской, произрастающей в условиях антропогенного стресса по сравнению с естественными популяциями, находящимися в более благоприятных экологических условиях. Эти факты подтверждают точку зрения большинства авторов о том, что добавочные хромосомы являются адаптивным элементом вида и обеспечивают устойчивость организмов при неблагоприятных воздействиях [17, 24].

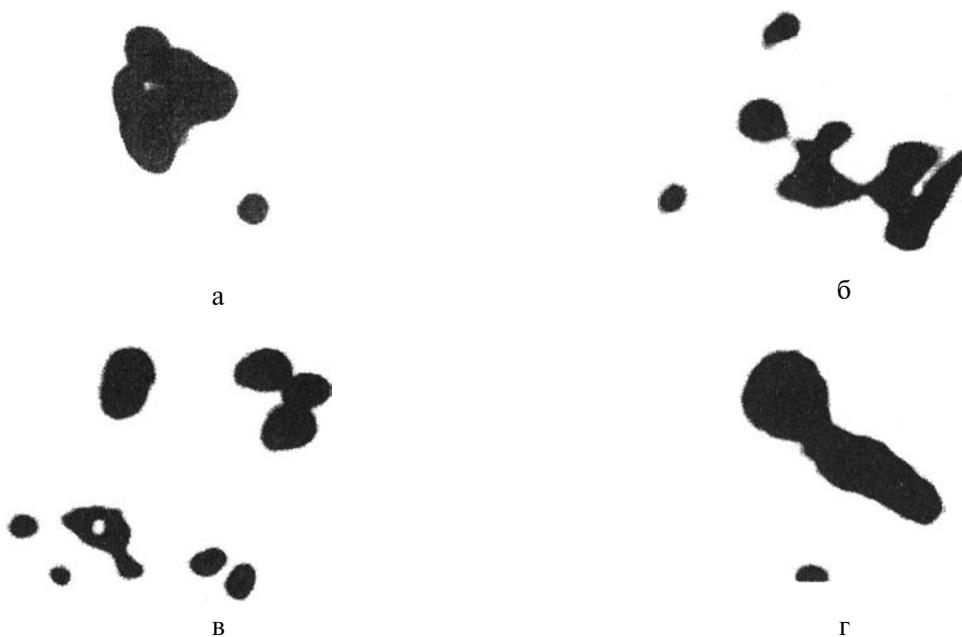


Рисунок 4 а-г - Ядрышки аномальной формы в интерфазных ядрах ели сибирской из черногорской популяции. Окраска азотнокислым серебром. Об. 90х, ок. 10

Учитывая полученные результаты, можно предположить, что В-хромосомы каким-то образом связаны с повышенной адаптивностью растений к стрессовым городским условиям и могут считаться одним из критериев для цитогенетического мониторинга.

#### Библиографический список

1. Цитленок, С.И., Пулькина, С.В. Использование *Centaurea scabiosa* L. и *Crepis sibirica* L. в качестве тест-объектов при оценке загрязненности окружающей среды // Проблемы эволюционной цитогенетики, селекции и интродукции. Материалы научных чтений, посвященных 100-летию проф. В.П. Чехова. - Томск, 1997. - С. 80-82.
2. Дмитриева, С.А., Парфенов, В.И., Давидчик, Т.О. Цитогенетический мониторинг природных популяций растений в связи с воздействием выбросов Чернобыльской катастрофы // Цитология. - 1999. - Т. 41. - № 12. - С. 1062-1063.
3. Калашник, Н.А., Шафикова, Л.М., Лихонос, Т.А., Сагитова, С.М. Индикация загрязнения окружающей среды с использованием кариологических методов // Цитология. - 1999. - Т. 41. - № 12. - С. 1065.
4. Буторина, А.К., Богданова, Е.В. Адаптивное значение и возможное происхождение В-хромосом у ели колючей // Цитология. - 2001. - Т. 43. - № 8. - С. 809-814.
5. Буторина, А.К., Калаев, В.Н., Карпова, С.С. Особенности протекания митоза и ядрышковые характеристики семенного потомства березы повислой в условиях антропогенного загрязнения // Цитология. - 2002. - Т. 44. - № 4. - С. 392-399.
6. Артюхов, В.Г., Калаев, В.Н., Сенькевич, Е.В., Вахтель, В.М., Савко, А.Д. Цитогенетические показатели семенного потомства лиственных древесных растений в 1-километровой зоне нововоронежской АЭС // Радиационная биология. Радиоэкология. - 2004. - Т. 44. - № 4. - С. 445-457.
7. Лоскутов, Р.И. Декоративные древесные растения для озеленения городов и поселков. - Красноярск: Изд-во Краснояр. ун-та, 1993. - 184 с.
8. Бобров, Р.В. Лесная эстетика. - М.: Агропромиздат, 1989. - 188 с.
9. Круклис, М.В. Кариологические особенности *Picea obovata* // Лесоведение. - 1971б. - № 2. - С. 75-84.
10. Скупченко, Л.А. Кариотип ели сибирской на севере Коми АССР // Лесоведение. - 1975. - № 2. - С. 70-74.
11. Правдин, Л.Ф., Шершукова, О.П., Абатурова, Г.А. Кариологические исследования хвойных древесных пород // Научные основы селекции хвойных пород. - М.: Наука, 1978. - С. 35-65.
12. Шершукова, О.П. Кариотип ели сибирской *Picea obovata* Ledeb. популяции Алтая // Научные основы селекции хвойных

древесных пород. - М.: Наука, 1978. - С. 82-86.

13. Медведева, Н.С., Муратова, Е.Н. Кариологическое исследование ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.) из Якутской АССР // Изв. СО АН СССР. Сер. биол. наук. - 1987. - Вып. 1, № 6. - С. 15-21.

14. Брока, М.В. В-хромосомный полиморфизм в природных популяциях *Picea obovata* Ledeb. // Роль селекции в улучшении латвийских лесов. - Рига: Зинатне, 1990. - С. 105-118.

15. Муратова, Е.Н. Кариосистематика семейства *Pinaceae* Lindl. Сибири и Дальнего Востока: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. - Новосибирск, 1995. - 32 с.

16. Фарушкина, Г.Г., Путенихин, В.П., Бахтиярова, Р.М. Кариотипическая изменчивость ели сибирской на Южном Урале // Лесоведение. - 1997. - № 2. - С. 78-84.

17. Муратова, Е.Н. В-хромосомы голосеменных // Успехи соврем. биол. - 2000. - Т. 120, № 5. - С. 452-465.

18. Владимирова, О.С. Добавочные хромосомы хвойных (на примере представителей рода *Picea* A. Dietr.): Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. - Красноярск, 2002. - 23 с.

19. Седельникова, Т.С., Муратова, Е.Н., Пименов, А.В., Ефремов, С.П. Кариологические особенности болотных и суходольных популяций *Picea obovata* в Западной Сибири // Ботан. журн. - 2004. - Т. 89. - № 5. - С. 718-733.

20. Teoh, S.B., Rees, H. B-chromosomes in White spruce // Proc. Roy. Soc. London, 1977. - Vol. 198, N 1133. - P. 325-344.

21. Круклис, М.В. Цитогенетическое изучение В-хромосом ели сибирской (*Picea*

*obovata* Ledeb.) // Лесоселекционные исследования: Тез. межресп. совещ. - Рига, 1978. - С. 15-18.

22. Мошкович, А.М. Добавочные хромосомы покрытосеменных растений. Кишинев: Штиинца, 1979. - 163 с.

23. Jones, R.N., Rees, H. B-chromosomes. - London; N. Y.; Paris: Acad. Press, 1982. - 266 p.

24. Прокофьева-Бельговская, А.А. Гетерохроматические районы хромосом. - М.: Наука, 1986. - 431 с.

25. Агапова, Н.Д., Васильева, М.Г. Кариосистематика // Итоги науки и техники. - М.: ВИНТИ, 1987. - Сер. Ботаника. - Т. 6: Современные методы систематики высших растений. - Вып. 1. - С. 96-137.

26. Правдин, Л.Ф., Бударягин, В.А., Круклис, М.В., Шершукова, О.П. Методика кариологического изучения хвойных пород // Лесоведение. - 1972. - № 2. - С. 67-75.

27. Муратова, Е.Н. Методики окрашивания ядрышек для кариологического анализа хвойных // Ботан. журн. - 1995а. - Т. 80, № 2. - С. 82-86.

28. Седельникова, Т.С., Муратова, Е.Н. Кариологическое изучение *Pinus sylvestris* (*Pinaceae*) с «ведьминой метлой», растущей на болоте // Ботан. журн. - 2001. - Т. 86. - № 12. - С. 50-60.

29. Буторина, А.К., Исаков, Ю.Н., Пуфлинг хромосом в метафазе-телофазе митотического цикла у дуба черешчатого // Докл. АН СССР. - 1989. - Т. 308. - № 4. - С. 987-988.

30. Челидзе, П.В., Зацепина, О.В. Морфофункциональная классификация ядрышек // Успехи соврем. биол. - 1988. - Т. 105. - Вып. 2. - С. 252-268.

Поступило в редакцию 25 декабря 2005 г.

Рецензия от 30 января 2005 г.