

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ
ОСОБЕННОСТИ РАСТЕНИЙ В АНТРОПОГЕННО
ТРАНСФОРМИРОВАННОЙ СРЕДЕ

УДК 576.255:581.48:581.52

И.И. Коршиков, Ю.А. Ткачева, Е.В. Лаптева

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У СЕМЯН СОСНЫ КРЫМСКОЙ
(*PINUS PALLASIANA* D. DON) НАСАЖДЕНИЙ ТЕХНОГЕННО
ЗАГРЯЗНЕННЫХ И НАРУШЕННЫХ ТЕРРИТОРИЙ

Pinus pallasiana, проростки семян, цитогенетические изменения, насаждения промышленных районов

Введение

Возрастающее негативное влияние техногенно загрязненной окружающей среды на человека диктует необходимость проведения цитогенетического мониторинга в промышленных районах для оценки генотоксических действий химических и физических агентов на живые организмы. Цитогенетические исследования давно и широко используются в оценке мутационных событий, особенно индуцированного мутагенеза у человека и других организмов [1, 11]. Постоянно ведется поиск видов растений, в том числе древесных, достоверно реагирующих на влияние негативных факторов загрязненной среды, а также предпринимаются попытки выявить такие виды, которые по чувствительности к ним были бы сопоставимы с человеком [4]. Необходимость оценки потенциальной опасности загрязненной среды для городского населения обостряется в связи с повышением встречаемости пороков развития у детей и увеличением количества онкологических заболеваний [8, 21].

В последние десятилетия цитогенетические изменения у живых организмов становятся базовыми элементами комплексного интегрального экологического мониторинга окружающей среды, особенно в крупных промышленных регионах. Для выявления генотоксичности загрязненной среды применяют разные тест-объекты, чаще древесные растения, в основном хвойные, произрастающие в районах распространения загрязнителей [14, 25]. В цитогенетическом анализе этих видов используют целый ряд общепринятых критериев и показателей: патологии митоза, ядрышковая активность и микроядерный тест [3, 10, 15, 17]. Распространенность растений в промышленных регионах – одно из условий возможности их использования для индикационных целей состояния загрязненности окружающей среды. В степной зоне Украины насаждения сосны крымской (*Pinus pallasiana* D. Don) по площади в настоящее время превосходят ее природные популяции в Горном Крыму [18]. Этот вид с 60-х годов XX века успешно и широко используется для озеленения индустриальных городов, а также в рекультивации промышленно трансформированных территорий, например, железорудных отвалов Криворожья [9, 18]. Наши предварительные исследования показывают, что у семян растений *P. pallasiana*, произрастающих на техногенно загрязненных территориях, возрастает доля цитогенетических нарушений [19, 20], однако эффективность каждого из критериев и их чувствительность на действие загрязнителей среды не была выяснена.

Цель и задачи исследований

Цель работы – сравнительный анализ цитогенетических изменений у семян растений *P. pallasiana* из насаждений, произрастающих на территориях разных по уровню и типу загрязнения среды в степной зоне Украины.

Объекты и методика исследований

Исследовано семенное потомство 20–40-летних насаждений в городах Донецк и Мариуполь, где доминируют эмиссии металлургических предприятий («Донецксталь – металлургический завод», «Металлургический комбинат «Азовсталь», «Мариупольский металлургический комбинат им. Ильича») и выхлопные газы автотранспорта; в пгт. Новоамвросиевка, возле крупного цементного комбината («HEIDELBERGCEMENT Украина»); в г. Кривой Рог, вблизи от Криворожского металлургического комбината (КМК), на Первомайском железорудном отвале Северного горно-обогатительного комбината (ПЖО) в дендрарии Криворожского ботанического сада НАН Украины (КБС).

Семена собирали с 25–30 деревьев в названных насаждениях. Для анализа использовали по 10 семян каждого растения. Контролем служили семена *P. pallasiana* из природной популяции Горного Крыма (район пгт. Никита), собранные с 40 деревьев возрастом от 80 до 100 лет, а в качестве условного контроля использовали семенное потомство насаждения в дендропарке «Аскания-Нова», где нет промышленных источников загрязнения среды.

Для цитогенетического анализа были выбраны общепризнанные параметры: патологии митоза, хромосомные аберрации, ядрышковая активность и ядерно-ядрышковое соотношение, микроядерный тест. Анализ проводили на временных препаратах меристематических тканей корешков проростков семян. Семена проращивали в чашках Петри на влажной фильтровальной бумаге в термостате при температуре 23–25°C. Корешки длиной 1,0–1,5 см фиксировали в уксусном этаноле (1:3). Для анализа митоза и хромосомных аномалий препараты окрашивали 2%-ным раствором ацетоорсеина [27], для визуализации микроядер – 1% - ным раствором ацетогематоксилина [11]. При окрашивании ядрышек применяли 50%-й раствор азотнокислого серебра [24, 42]. Давленные препараты готовили по стандартной методике [26]. Просмотр микропрепаратов осуществляли с помощью микроскопа Carl Zeiss Primo Star при увеличении 400. Для фотографирования препаратов применяли фотонасадку на основе цифровой камеры Canon PowerShot A640. Промеры осуществляли на цифровых снимках с помощью программного обеспечения Axio Vision Rel. 4.7.

Результаты исследований и их обсуждение

Ядро. Ему принадлежит особая роль в определении состава и свойств отдельной клетки и организма в целом, так как в ядре локализован их наследственный аппарат. Остов ядра представляет собой ядерный матрикс, почти полностью состоящий из негистоновых высокомолекулярных белков. Они формируют фиброзную периферическую и внутриядерную фибриллярно-гранулярную сеть. Ядерный матрикс представляет значительную часть ядра и является чрезвычайно лабильной и активной структурой, которая изменяется при патологических процессах [12]. В наших исследованиях четко прослеживается тенденция снижения размеров ядра в интерфазных клетках корешков проростков семян *P. pallasiana* из всех семи насаждений в степной зоне Украины (табл.). Наибольшее уменьшение площади ядра (на 34,9% по сравнению с контрольной крымской популяцией) отмечено у семян растений условного контроля (дендропарк «Аскания-Нова») и у произрастающих в Кривом Роге, вблизи КМК. В цитогенетике для анализа влияния внешних и внутренних факторов на развитие клетки нередко используют ядерно-цитоплазматическое соотношение (ЯЦС). Мы не могли применить этот показатель, так как для этого необходимо было определить объем цитоплазмы, что методически довольно проблематично. Следует отметить, что основная роль цитоплазмы сводится к поддержанию жизнедеятельности ядра и она играет роль своего рода «буфера» между средой и ядром. Вероятно изменение размеров ядра у семян *P. pallasiana* интродукционных насаждений является следствием ядерно-цитоплазматических взаимодействий, а уменьшение объема ядра, очевидно, связано с изменениями негистонового белковоядерного матрикса [12]. Так как растения *P. pallasiana* в исследуемых насаждениях не повреждены, то в целом морфометрические изменения ядра в клетках их семян можно рассматривать как адаптивные. Однако вряд ли в клетках семян происходят программные изменения на уровне ДНК, хотя не исключены отклонения в экспрессии отдельных генов.

Таблица. Цитогенетические изменения и нарушения в клетках корешков проростков семян *Pinus pallasiana* D. Don из разных по уровню и типам техногенного загрязнения насаждений степной зоны Украины в сравнении с проростками семян природной популяции

Место произрастания растений (источники загрязнения)	Средняя площадь, %		Ядерно-ядрышковое соотношение, %	Среднее количество ядрышек в ядре, %	Количество клеток с микроядрами, %	Патологии митоза, %
	ядра	ядрышка				
пгт. Никита, Крым (контроль)	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Дендропарк «Аскания-Нова» (условный контроль)	65,1	100,7	109,5	123,0	88,4	207,7
Дендрарий КБС, (ПЖО)	86,5	129,7	63,0	96,3	-	2246,2
Кривой Рог, (железорудный отвал)	82,8	118,6	66,9	100,4	-	5453,8
Кривой Рог, (КМК)	67,2	92,8	70,0	106,2	403,2	4338,5
Донецк, (выхлопные газы автотранспорта)	73,8	66,1	106,8	111,5	253,7	1038,5
Мариуполь, (металлургические комбинаты)	97,9	86,0	118,6	109,6	295,8	1261,5
Новоамвросиевка, (цементный комбинат)	86,8	91,3	113,4	107,6	181,1	646,2

Ядрышко. В клетках высших эукариот ядрышко присутствует преимущественно на стадии интерфазы и временно разбирается при митозе [10]. В клеточном ядре ядрышко – наиболее крупный (1–5 мкм) структурный домен, который принято называть «фабрикой рибосом» [41]. При своей эволюционной консервативности ядрышко относится к числу наиболее пластичных элементов клеточного ядра, организация и функциональная активность которого изменяется в ответ на многие воздействия неблагоприятных факторов среды [38]. Количество ядрышек в интерфазных клетках зависит от количества ядрышкообразующих хромосом, а также от участков хромосом, где локализованы рибосомальные гены. Эти участки именуются ядрышкообразующими районами или ядрышковыми организаторами (ЯО). Однако не всегда число ядрышек соответствует числу ЯО, так как не все они могут быть активны в интерфазе, а сами ядрышки могут сливаться [10].

Наши исследования показали, что только у растений *P. pallasiana* двух насаждений (КБС, ПЖО) площадь ядрышка в интерфазных клетках корешков проростков семян была больше на 18,6–29,7%, чем у таких же проростков семян природной популяции (см. табл.). У растений дендропарка «Аскания-Нова» средняя площадь ядрышка соответствовала контролю, а в остальных четырех насаждениях этот показатель был меньше на 7,2–33,9%. Ядрышкам принадлежит важная роль в процессах синтеза белка. Возрастание объема ядрышка свидетельствует об усилении биосинтетических процессов в клетке и наоборот [16, 33, 35]. Нами установлено, что использование размерности ядрышка в клетках проростков *P. pallasiana* для оценки генотоксичности среды в промышленных регионах малоэффективно. По-видимому, данный тест можно применять в системе анализа жизнеспособности семян в интродукционных насаждениях.

В цитогенетическом анализе интерфазных клеток растений широко применяют ядерно-ядрышковое соотношение (ЯЯС). Его рассматривают как объективный критерий уровня био-

синтеза белка у разных видов [23, 35], а в первую очередь как показатель влияния факторов внешней среды на активность ЯО. Показатель ЯЯС зависит от вариабельности двух величин – площади ядра и суммарной площади ядрышек. Так как в клетках семян *P. pallasiana* площадь, а вероятно и объем ядра, уменьшались, а изменение площади ядрышек было разнонаправленным, то результатом этого являются неоднозначные изменения ЯЯС у семян разных насаждений. У растений Криворожья этот показатель был меньше на 30–37 %, чем у растений природной популяции. В остальных насаждениях относительные значения рассчитываемого соотношения были выше, чем в контроле, на 6,8–118,6%. У семян растений сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) загрязненных территорий Урала ЯЯС составляет 69,5–76,0% от растений из заповедных местобитаний [30]. В клетках лука батуна (*Allium fistulosum* L.) через 1 мин. после лазерного облучения при выращивании на среде с мутагеном размеры ядрышек существенно уменьшались [1]. У высокопродуктивных гибридов сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) прослеживается тенденция увеличения размеров ядрышек в клетках [34]. В клетках каллюсных линий женьшеня (*Panax ginseng* С.А. Меу), по сравнению с нативными растениями, возростала площадь ядра и ядрышек, а ЯЯС снижалось на 25% [31]. В клеточных культурах винограда амурского (*Vitis amurensis* Rupr.), обработанных ДНК-деметилюющим агентом 5-азациитидином при низкой концентрации отмечено увеличение площади ядра (на 12,5%) и ядрышка (на 54,3%), а в случае высокой его концентрации – уменьшение площади обеих структур соответственно на 52,4% и 34,4%. В обоих вариантах опыта ЯЯС снижалось на 27,4% [29].

Среднее количество ядрышек в ядре клеток семян растений *P. pallasiana* интродукционных насаждений было близким к контролю, либо больше на 6,2–23,0% (см. табл.). Характерно, что наибольшее ядрышек выявлено в клетках семян растений из дендропарка в «Аскания-Нова». К тому же растения этого насаждения отличались очень низкой продуктивностью полноценных семян из-за явного преобладания в их шишках пустых семян. Увеличение количества ядрышек в клетках связывают с появлением дополнительных вторичных перетяжек в хромосомах, что приводит к образованию в них новых ядрышкообразующих участков. Повышенное количество ядрышек может сопровождаться возрастанием функциональной активности генов рибосомальной РНК [34]. По мнению В.В. Архипчука [1], который изучал влияние облучения и мутагенов на растения и рыб, количественные характеристики ядрышек в их клетках позволяют оценивать действие различных факторов на геном. Он рассматривает эти показатели, как наиболее информативные для многоядрышковых клеток. Результаты наших исследований свидетельствуют о неоднозначных изменениях размерно-количественных характеристик ядрышек в клетках семян растений *P. pallasiana*, которые подвергаются воздействию разных по физико-химическому составу загрязнителей среды. По этой причине показатели ядрышковой активности в клетках корешков проростков семян *P. pallasiana* не являются надежными индикаторами для оценки генотоксичности техногенно загрязненной среды.

Микроядра – это внутриклеточные хроматиновые образования с собственной оболочкой, которые обособлены от ядра, хотя отдельные из них могут быть к нему прикреплены. Для оценки мутагенности агентов различной природы уже давно нашел широкое применение микроядерный тест [11, 39]. В качественно-количественном анализе микроядер используют периферическую кровь человека и животных, а также интерфазные клетки разных видов животных и растений [13, 17]. Результаты наших исследований свидетельствуют, что в корешках проростков семян *P. pallasiana* из насаждений техногенно загрязненных территорий в 1,8–4,0 раза возрастает количество клеток с микроядрами по сравнению с проростками из семян природной популяции (см. табл.). Четырехкратное превышение контрольного уровня отмечено у семян растений, произрастающих возле КМК. Надо отметить, что валовый объем выбросов промышленных производств г. Кривой Рог – один из самых больших в нашей стране [36]. В других исследованиях показано, что микроядра в клетке формируются из ацентрических фрагментов и оставших хромосом, а также при нарушениях функции митотического веретена деления. Не все типы хромосомных aberrаций сопровождаются образованием микроядер, так как они не всегда связаны

с появлением ацентрических фрагментов. Крупные микроядра образуются в клетках в основном в связи с нарушением веретена деления, а мелкие – как следствие структурных aberrаций хромосом [11]. В ходе митоза микроядра могут попадать только в одну из дочерних клеток. Отдельные клетки несут микроядра на протяжении многих лет, а поэтому их образование не всегда приурочено к последнему делению клетки [17]. Характер микроядерных образований (прикрепленные к ядру или изолированные) различен у разных видов организмов. Кроме того, встречаемость микроядер, например, у рыб разного возраста, неодинакова, что связывают с процессами замедления и активации клеточных митозов [22, 40]. Проблема использования микроядерного теста даже в отношении человека заключается в отсутствии его унификации, что затрудняет получение однозначных данных [17]. Очевидно, что изменение частоты встречаемости клеток с микроядрами в корешках проростков семян *P. pallasiana* имеет реальную перспективу для оценки генотоксичности влияния физических и химических агентов загрязненной среды. В то же время необходимо проследить за изменением числа микроядер в клетках семян в зависимости от возраста растений и их жизненного состояния.

Патологии митоза. Хромосомные aberrации и патологии митоза – основные критерии в оценке генотоксичности действия физических и химических агентов загрязненной среды. Во многих работах с хвойными показано, что частоты встречаемости этих цитогенетических нарушений заметно повышаются у растений, произрастающих на загрязненных территориях [4, 5, 14]. Уровень и спектр хромосомных aberrаций растений нередко используют для выяснения мутагенности в районах радионуклидного загрязнения, а также при непосредственной оценке мутагенов [2, 6, 25, 32, 37]. В этих исследованиях показан широкий спектр патологий митоза и хромосомных aberrаций, которые включают такие нарушения: отставания, опережения, неравномерное расхождение, слипание, фрагментацию хромосом, образование хромосомных и хроматидных мостов, кольцевых хромосом, многополюсный митоз. Все эти нарушения выявлены в клетках корешков проростков семян *P. pallasiana* из техногенно загрязненных территорий. При этом прослеживается некоторая специфика проявления этих нарушений в зависимости от физико-химических особенностей загрязнителей, а также от особенностей загрязненности среды – воздушной или почвенной. Наиболее высокий уровень патологий митоза и хромосомных aberrаций установлен для семян растений, произрастающих в Криворожье. Даже у растений из дендрария КБС патологии митоза встречались в 10,8 раз чаще, чем у растений дендропарка «Аскания-Нова». Наиболее высокий уровень нарушений выявлен у семян растений, произрастающих на железорудном отвале: он был в 26,3 раза выше, чем в условном контроле. На отвале растения испытывают лишь фоновое воздействие загрязненного воздуха, а основная масса загрязнителей, прежде всего тяжелых металлов, локализована в горной породе отвала. Несмотря на то, что растения *P. pallasiana* на ПЖО находятся в хорошем жизненном состоянии, в клетках их органов, включая репродуктивные, вероятно, накапливаются тяжелые металлы. Кроме того, растения, произрастающие на породных отвалах, постоянно испытывают воздействие малых доз излучения в связи с тем, что в породе присутствуют редкоземельные элементы. Высокий уровень патологий митоза (в 20,9 раза чаще, чем у семян условного контроля) обнаружен у растений, произрастающих вблизи КМК. Этот уровень был в 4,2 раза выше, чем у растений другого географически отдаленного металлургического центра – г. Мариуполя. В г. Донецк патологии митоза у семян *P. pallasiana* встречались в 5 раз чаще, чем у растений условного контроля, однако в 2,2 реже в сравнении с растениями дендрария КБС. Последнее обстоятельство связано с тем, что растения дендрария КБС находятся в зоне прямого воздействия выбросов крупного Северного горнообогатительного комбината. Наименьший уровень патологий митоза у семян растений *P. pallasiana* промышленно загрязненных и урбанизированных территорий выявлен в насаждении вблизи крупного цементного комбината. Превышение по сравнению с условным контролем составило 3,1 раза. Надо отметить, что у растений, испытывающих воздействие аэрополлютантов и/или загрязненного субстрата, возрастает не только частота встречаемости патологий митоза, но и расширяется их спектр. Например, у семян растений техногенных и урбанизирован-

ных экотопов появляются кольцевые хромосомы и многополюсный митоз, которые практически не встречаются у семян растений из контрольных местообитаний.

Хромосомные aberrации возникают в случае разрывов ДНК. Время возникновения и механизмы повреждения хромосом могут быть самые разные. Они пока остаются плохо изученными. Так, наиболее часто встречающиеся у проростков семян *P. pallasiana* мосты могут быть следствием разрывов хромосом и образования фрагментов, имеющих центромеры. Ацентрические фрагменты часто опаздывают в митозе и из них в интерфазе формируются микроядра [17]. Даже природа возникновения микроядер разная: появление в клетках крупных микроядер в основном связывают с нарушениями веретена деления, а мелких – преимущественно со структурными aberrациями хромосом [11]. Не вдаваясь в анализ сложных механизмов возникновения патологий митоза и других нарушений, можно констатировать, что у семян растений *P. pallasiana*, подверженных воздействию выбросов различных промышленных производств, выхлопных газов автотранспорта, а также произрастающих на железорудном отвале, снижается цитогенетическая стабильность. Изменение цитогенетических показателей у семян растений дендропарка «Аскания-Нова» в сравнении с семенами природной популяции Крыма можно рассматривать как вариации в пределах нормы, так как на растения в дендропарке действуют только не всегда благоприятные природно-климатические факторы. В остальных вариантах наших наблюдений загрязненная окружающая среда обладала мутагенной активностью, вызывая спонтанный мутагенез у семян растений *P. pallasiana*. Семенное потомство этого вида в 6 из 8 исследованных насаждений имело повышенный уровень нагруженности aberrантными клетками, особенно растения насаждений Криворожья. Молекулярно-генетические механизмы действия разных по физико-химической природе загрязнителей среды, очевидно, могут значительно различаться, однако их количественное проявление у семян *P. pallasiana* однозначно: уменьшение размеров ядра в интерфазных клетках, увеличение количества микроядер и явное возрастание патологий митоза. Эти три цитогенетических параметра являются наиболее информативными для определения эффектов влияния загрязненной среды на семенное потомство *P. pallasiana* в промышленных регионах. Их можно рассматривать как экологически зависимые признаки растений от техногенного загрязнения среды обитания. Так как частота и спектр цитогенетических нарушений могут определяться особенностями генотипа (гомо- или гетерозигота), то для целей мониторинга генотоксичности загрязненной среды это необходимо учитывать, предварительно выделив из них две группы растений – с низкой и высокой цитогенетической стабильностью. Это повысит результативность таких исследований, особенно в случае действия низких концентраций токсических веществ в среде.

Выводы

Таким образом, у семян растений *P. pallasiana*, произрастающих на техногенно загрязненных, нарушенных и урбанизированных территориях заметно изменяется ряд цитогенетических показателей: уменьшается размер ядра в интерфазных клетках, увеличивается количество микроядер и значительно возрастает уровень патологий митоза. При проведении дополнительных исследований в градиенте концентраций загрязняющих веществ эти цитогенетические характеристики проростков семян *P. pallasiana* могут быть использованы для мониторинга генотоксичности загрязненной среды в промышленных регионах.

1. **Архипчук В.В.** Использование ядрышковых характеристик в биотестировании / В.В. Архипчук // Цитология и генетика. – 1995. – № 3. – С. 6–12.
Arkhipchuk, V.V., Using of the Nucleolar Characteristics in Bioassay, *Tsitologiya i genetika* (Cytology and Genetics), 1995, no. 3, pp. 6–12.
2. **Батушак С.П.** Цитогенетична активність радіонуклідних забруднень чорнобильського аварійного викиду за умов пролонгованого і хронічного впливу на насіння озимої пшениці / С.П. Батушак // Физиология и биохимия культ. растений. – 2007. – Т. 39, № 3. – С. 225–232.

- Batushchak, S.P.**, Cytogenetic Activity of Radionuclide Pollution Caused by Chernobyl Accidental Release under Conditions of a Prolonged and Chronical Influence on Winter Wheat Seeds, *Fiziologiya i biokhimiya kult. rastenii* (Physiology and Biochemistry of the Cultivated Plants), 2007, vol. 39, no. 3, pp. 225–232.
3. **Буторина А.К.** Анализ чувствительности различных критериев цитогенетического мониторинга / А.К. Буторина, В.Н. Калаев // *Экология*. – 2000. – № 3. – С. 206–210.
Butorina, A.K., and Kalaev, V.N., Sensitivity Analysis of Various Criteria in Cytogenetic Monitoring, *Ekologiya* (Ecology), 2000, no. 3, pp. 206–210.
 4. **Буторина А.К.** Цитогенетическая характеристика семенного потомства некоторых видов древесных растений в условиях антропогенного загрязнения г. Воронежа / А.К. Буторина, В.Н. Калаев, Т.В. Вострикова [и др.] // *Цитология*. – 2000. – Т. 42, № 2. – С. 196–200.
Butorina, A.K., Kalaev, V.M., and Vostrikova, T.V., Cytogenetic Characterization of the Seed Progeny in Some Tree Species Under Conditions of Anthropogenic Pollution in Voronezh, *Tsitologiya* (Cytology), 2000, vol. 42, no. 2, pp. 196–200.
 5. **Вострикова Т.В.** Цитогенетическая реакция древесных растений в условиях техногенной нагрузки / Т.В. Вострикова // *Лесн. хоз-во*, 2010. – № 6. – С. 26–28.
Vostrikova, T.V., Cytogenetic Response of Woody Plants in the Conditions of Technogenous Pressing, *Lesn. hoz-vo* (Forest Economy), 2010, no. 6, pp. 26–28.
 6. **Генопротекторный** эффект гумату натрия за умов індукованого оксидантного стресу / В.М. Шкарупа, І.Р. Барияк, Л.В. Неумержицька [и др.] // *Цитология и генетика*. – 2010. – Т. 44, № 1. – С. 54–56.
Genoprotection Effect of Natrium Humate in Conditions of the Induced Oxidative Stress, Shkarupa, V.M., Barylyak, I.R., and Neumerzhitska, L.V., *Tsitologiya i genetika* (Cytology and Genetics), 2010, vol. 44, no. 1, pp. 54–56.
 7. **Гераськин С.А.** Оценка методами биоиндикации техногенного воздействия на популяции *Pinus sylvestris* L. в районе предприятия по хранению радиоактивных отходов / С.А. Гераськин, Д.В. Васильев, В.Г. Дикарев [и др.] // *Экология*. – 2005. – № 4. – С. 275–285.
Geraskin, S.A., Vasiliev, D.V., and Dikarev, V.G., Evaluation of Anthropogenous Impact on *Pinus sylvestris* L. Populations in the Area of Radioactive Waste Storage Facilities Using Bioindication Methods, *Ekologiya* (Ecology), 2005, no. 4, pp. 275–285.
 8. **Дубинин Н.П.** Загрязнение биосферы мутагенами и генофонд человека / Н.П. Дубинин, В.А. Дюков // Докл. АН СССР. – 1990. – Т. 315, № 1. – С. 210–214.
Dubinin, N.P., and Dyukov, V.A., Biosphere Pollution with Mutagens and the Human Gene Pool, *Doklady AN SSSR* (Reports of USSR Academy of Sciences), 1990, vol. 315, no. 1, pp. 210–214.
 9. **Естественное** возобновление сосны крымской (*Pinus pallasiana* D. Don) на железорудном отвале Криворожья / [И.И. Коршиков, О.В. Красноштан, Н.С. Терлыга и др.] // *Інтродукція рослин*. – 2005. – № 4. – С. 46–51.
Natural Regeneration of *Pinus pallasiana* D. Don in Kryvorizhzhie Iron Ore Dump, Korshikov, I.I., Krasnoshtan, O.V., and Terlyga, N.S., *Introduktsiya Roslyn* (Plant Introduction), 2005, no. 4, pp. 46–51.
 10. **Жарская О.О.** Динамика и механизмы реорганизации ядрышка в митозе / О.О. Жарская, О.В. Зацепина // *Цитология*. – 2007. – Т. 49, № 5. – С. 355–369.
Zharskaya, O.O., and Zatsepina, O.V., Dynamics and Mechanisms of the Nucleolus Reorganization During Mitosis, *Tsitologiya* (Cytology), 2007, vol. 49, no. 5, pp. 355–369.
 11. **Жулева Л.Ю.** Использование микроядерного теста для оценки экологической обстановки в районах Астраханской области / Л.Ю. Жулева, Н.П. Дубинин // *Генетика*. – 1994. – Т. 30, № 7. – С. 999–1004.
Zhuleva, L.Yu., and Dubinin, N.P., The Use of Micronuclear Test to Assess the Environmental Situation in the Astrakhan Region, *Genetika* (Genetics), 1994, vol. 30, no. 7, pp. 999–1004.
 12. **Збарский И.Б.** Организация клеточного ядра / И.Б. Збарский. – М.: Медицина, 1998. – 366 с.
Zbarskii, I.B., Organization of the Cell Nucleus, Moscow: *Meditsina* (Medicine), 1998.
 13. **Ильинских Н.Н.** Использование микроядерного теста в скрининге и мониторинге мутагенов / Н.Н. Ильинских, И.Н. Ильинских, В.Н. Некрасов // *Цитология и генетика*. – 1988. – Т. 22, № 1. – С. 67–72.
Iiinskikh, N.N., Iiinskikh, I.N., and Nekrasov, V.N., The Use of Micronuclear Test in Screening and Monitoring of Mutagens, *Tsitologiya i genetika* (Cytology and Genetics), 1988, vol. 22, no. 1, pp. 67–72.
 14. **Калашник Н.А.** Индикация загрязнения среды цитогенетическими методами на примере хвойных видов / Н.А. Калашник // *Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології*. – Київ: Логос, 2007. – Т. 2. – С. 330–334.
Kalashnik, N.A., Indication of Environmental Pollution Using Cytogenetic Methods on the Example of Conifers, *Dosyagnennya i problemy genetiki, selektsii and biotekhnologii* (The Advances and Problems of Genetics, Selection and Biotechnology), Kiev: Logos, 2007, vol. 2, pp. 330–334.

15. **Калашник Н.А.** Хромосомные нарушения как индикатор оценки степени техногенного воздействия на хвойные насаждения / Н.А. Калашник // *Экология*. – 2008. – № 4. – С. 276–286.
Kalashnik, N.A., Chromosomal Abnormalities As An Indicator of the Anthropogenic Impact Degree on the Coniferous Forests, *Ekologiya* (Ecology), 2008, no. 4, pp. 276–286.
16. **Кикнадзе И.И.** Функциональная организация хромосом / Ия Ивановна Кикнадзе. – Л.: Наука, 1972. – 211 с.
Kiknadze, I.I., *Funktsionalnaya organizatsiya khromosom* (Functional Organization of Chromosomes), Leningrad: Nauka, 1972.
17. **Ковалева О.А.** Цитогенетические аномалии в соматических клетках млекопитающих / О.А. Ковалева // *Цитология и генетика*. – 2008. – Т. 42, № 1. – С. 58–72.
Kovaleva, O.A., Cytogenetic Abnormalities in Mammalian Somatic Cells, *Tsitologiya i genetika* (Cytology and Genetics), 2008, vol. 42, no. 1, pp. 58–72.
18. **Коршиков И.И.** Популяционно-генетические проблемы дендротехногенной интродукции (на примере сосны крымской) / И.И. Коршиков, Н.С. Терлыга, С.А. Бычков. – Донецк: Лебедь. – 2002. – 328 с.
Korshikov, I.I., Terlyga, N.S., and Bychkov, S.A., *Populyatsionno-geneticheskie problemy dendrotekhnoгенnoi introduksii (na primere sosny krymskoi)* (Population Genetic Problems of Tree Introduction in Urban Conditions (on example of *Pinus pallasiana* D. Don), Donetsk: Lebed, 2002.
19. **Коршиков И.И.** Сравнительный анализ цитогенетических нарушений у семенного потомства двух видов хвойных в условиях загрязненной среды / И.И. Коршиков, Ю.А. Ткачева // *Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології: зб. наук. пр. IX з'їзду УГТіС*. – Київ. – 2012. – Т. 4. – С. 242–246.
Korshikov, I.I., and Tkacheva, Yu.A., Comparative Analysis of Cytogenetic Abnormalities in the Seed Progeny of Two Conifer Species in a Polluted Environment, in *Dosyagnennya i problemy genetiki, selektsii and biotekhnologii: sb. nauch. pr. IX ziizdu UGTiS* (The Advances and Problems of Genetics, Selection and Biotechnology. Proc. of IX Session of the Ukrainian Society of Geneticists and Selectioners), Kiev, 2012, vol. 4, pp. 242–246.
20. **Коршиков И.И.** Ядерно-ядрышковые характеристики семенного потомства сосны крымской (*Pinus pallasiana* D. Don) природной популяции и насаждений техногенно загрязненных территорий / И.И. Коршиков, Ю.А. Ткачева // *Промышленная ботаника*. – 2011. – Вып. 11. – С. 168–173.
Korshikov, I.I., and Tkacheva, Yu.A., Nuclear-nucleolar Characteristics of the *Pinus pallasiana* D. Don Seed Progeny in a Natural Population and Stands in Technogenous Polluted Areas, *Prom. Bot.* (Industrial Botany), 2011, vol. 11, pp. 168–173.
21. **Куролап С.А.** Оценка риска для здоровья населения при техногенном загрязнении городской среды / С.А. Куролап, Н.П. Мамчик, О.В. Клепиков // Воронеж: Изд-во Воронеж. гос. ун-та, 2006. – 220 с.
Kurolap, S.A., Mamchik, N.P., and Klepikov, O.V., Assessment of Public Health Risks Due to Technogenous Pollution of the Urban Environment, Voronezh, Izd. Voronezhskogo Univ., 2006.
22. **Лугаськова Н.В.** Видовая специфика цитогенетической стабильности рыб в условиях эвтрофного водоема / Н.В. Лугаськова // *Экология*. – 2003. – № 3. – С. 235–240.
Lugaskova, N.V., Species Specificity of Fish Cytogenetic Stability in Eutrophic Conditions, *Ekologiya* (Ecology), 2003, no. 3, pp. 235–240.
23. **Машкин С.И.** Сезонная динамика числа и размеров ядрышек, ядер и ядерно-ядрышковых отношений у представителей подсем. Сливовых при их интродукции / С.И. Машкин, М.Н. Назарова // *Цитология*. – 1976. – Т. 18, № 12. – С. 1438–1443.
Mashkin, S.I., and Nazarova, M.N., Seasonal Dynamics of the Nucleoli Number and Size, and Also the Nuclear-Nucleolar Ratios Among Representatives of the Prunaceae Subfamily in the Course of Their Introduction, *Tsitologiya* (Cytology), 1976, vol. 18, no. 12, pp. 1438–1443.
24. **Муратова Е.Н.** Методики окрашивания ядрышек для кариологического анализа хвойных / Е.Н. Муратова // *Ботан. журн.* – 1995. – Т. 80, № 2. – С. 82–86.
Muratova, E.N., Nucleolar Staining Methods for Caryological Analysis of Conifers, *Botan. zhurn.* (Botan. Journal), 1995, vol. 80, no. 2, pp. 82–86.
25. **Оксьом В.П.** Частота і спектр хромосомних аберацій як тест чутливості до дії мутагенних чинників на прикладі озимої пшениці / В.П. Оксьом // *Физиология и биохимия культ. растений*. – 2010. – Т. 42, № 3. – С. 232–240.
Oksiom, V.P., Frequency and Range of Chromosomal Aberrations As a Sensitivity Test for Mutagenic Agents on the Example of Winter Wheat, *Fiziologiya i biokhimiya kult. rastenii* (Physiology and Biochemistry of the Cultivated Plants), 2010, vol. 42, no. 3, pp. 232–240.
26. **Паушева З.П.** Практикум по цитологии растений / Зоя Петровна Паушева. – М.: Колос, 1980. – 304 с.
Pausheva, Z.P., The Practical Training on Plant Cytology, Moscow: Kolos, 1980.
27. **Правдин Л.Ф.** Методика кариологического изучения хвойных пород / Л.Ф. Правдин, В.А. Бударрагин, М.В. Круклис [и др.] // *Лесоведение*. – 1972. – № 2. – С. 67–72.

- Pravdin, L.F.**, Budaragin, V.A., and Krukliis, M.V., Methodology for Caryological Study of Conifers, *Lesovedenie* (Silviculture), 1972, no. 2, pp. 67–72.
- 28. Решетников В.Н.** Клеточные ядра высших растений: Состав, структура, функции / Владимир Николаевич Решетников. – Мн.: Наука і тэхніка, 1992. – 88 с.
Reshetnikov, V.N., *Kletochnye yadra vysshikh rastenii: Sostav, struktura, funktsii* (Cell Nuclei of Higher Plants: the Composition, Structure, Function), Minsk: Navuka i tehnika, 1992.
- 29. Тюнин А.П.** Влияние 5-азациитидина на кариологические показатели в клеточных культурах винограда амурского (*Vitis amurensis* Rupr.) / А.П. Тюнин, Л.С. Лаувс, К.В. Кисилев // Весник Крас ГАУ. – 2012. – №10. – С. 48–54.
Tyunin, A.P., Lauvs, L.S., and Kiselev, K.V., Effect of 5-Azacytidine on Caryological Indicators in Cell Cultures of *Vitis amurensis* Rupr.), *Vestnik KrasGAU* (Bulletin of the Krasnoyarsk State Agrarian University), 2012, no. 10, pp. 48–54.
- 30. Хайдарова Т.Г.** Ядрышковые организаторы хромосом как адаптивные элементы хвойных видов / Т.Г. Хайдарова, Н.А. Калашник // Цитология. – 1999. – Т. 41, № 12. – С. 1086–1089.
Khaidarova, T.G., and Kalashnik, N.A., Chromosome Nucleolar Organizers As Adaptive Elements of Conifers, *Tsitologiya* (Cytology), 1999, vol. 41, no. 12, pp. 1086–1089.
- 31. Хроленко Ю.А.** Количественные характеристики ядрышек в клетках *Panax ginseng* in vivo и in vitro / Хроленко Ю.А., Бурундукова О.Л., Луве Л.С. [и др.] // Turczaninowia. – 2011. – Т. 14, № 1. – С. 104–108.
Khrolenko, Yu.A., Burundukova, O.L., and Luve, L.S., Quantitative Characteristics of Nucleoli in *Panax ginseng* Cells in Vivo and in Vitro, *Turczaninowia*, 2011, vol. 14, no. 1, pp. 104–108.
- 32. Цитогенетический метод определения влияния пороговых величин антропогенных факторов на геном растений и животных / В.В. Архипчук, В.Д. Романенко, М.В. Архипчук [и др.] // Доклады АН, 1992. – Т. 326, № 5. – С. 908–910.
Cytogenetic Method for Determining the Effects of Anthropogenous Factors Thresholds on Plant and Animal Genomes, Arhipchuk, V.V., Romanenko, V.D., and Arhipchuk, M.V., *Doklady AN* (Reports of the Academy of Sciences), 1992, vol. 326, no. 5, pp. 908–910.**
- 33. Челидзе П.В.** Ультраструктура и функции ядрышка в интерфазной клетке / П.В. Челидзе. – Тбилиси: Мецниереба. – 1985. – 118 с.
Tchelidze, P.V., Ultrastructure and Function of the Nucleolus in Interphase Cells, Tbilisi: Metsniereba, 1985.
- 34. Чугункова Т.В.** Цитогенетические особенности свеклы при инбридинге и гетерозисе / Т.В. Чугункова // Физиология и биохимия культ. растений. – 2006. – Т. 38, № 2. – С. 153–159.
Chugunkova, T.V., Cytogenetic Features of Beet with Inbreeding and Heterosis, *Fiziologiya i biokhimiya kult. rastenii* (Physiology and Biochemistry of the Cultivated Plants), vol. 38, no. 2, pp. 153–159.
- 35. 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.
Shakhbazov, V.G., and Shestopalova, N.G., Some Features of the Nucleoli and the Nuclei in Cells of Hybrid Onion, *Doklady AN SSSR* (Reports of the USSR Academy of Sciences), 1971, vol. 196, no. 5, pp. 1207–1208.
- 36. Экологические и социально-гигиенические проблемы и пути оздоровления крупного промышленного региона / А.Е. Лысый, С.А. Рыженко, И.П. Козырин [и др.]. – Кривой Рог. – 2007. – 425 с.
Environmental and Socio-Hygienic Problems and the Ways to Healthier Environments in a Large Industrial Region, Lysyi, A.Ye., Ryzhenko, S.A., and Kozyarin, I.P., Krivoy Rog, 2007.**
- 37. Якимчук Р.А.** Ефективність дії радіаційного випромінення зони відчуження ЧАЕС при створенні селекційно-цінного матеріалу озимої пшениці / Р.А. Якимчук, В.В. Моргун // Вісник Українського т-ва генетиків та селекціонерів. – 2011. – № 2. – С. 288–293.
Yakimchuk, R.A., and Morgun, V.V., Efficiency of Radiation Effect of the Exclusion Zone of the Chernobyl NPS in the Course of Winter Wheat Selection, *Visnyk Ukrayinskogo t-va genetikiv ta selektsioneriv* (Bulletin of the Ukrainian Society of Genetisists and Selectioners), 2011, no. 2, pp. 288–293.
- 38. Cheutin, T.**, Misteli, T., and Dunder, M., Dynamics of Nucleolar Components, The Nucleolus, N.Y.: Kluwer Academic Plenum Publishers, 2004, pp. 29–40.
- 39. Fenech, M.**, and Morley, A.A., Measurement of Micronuclei in Lymphocytes, *Mutat. Res.*, 1985, vol. 147, pp. 29–36.
- 40. Hoofman, R.N.**, and de Raat, W.K., Induction of Nuclear Anomalies (Micronuclei) in the Peripheral Blood Erythrocytes of the Eastern Mudminnow (*Umbra Pigmaea*) by Ethyl Methanossulphonate, *Mutat. Res.*, 1982, vol. 104, pp. 147–152.
- 41. Olson, M.O.**, Hingorani, K., and Szebeni, A., Conventional and Nonconventional Roles of the Nucleolus, *Int. Rev. Cytol.*, 2002, vol. 219, pp. 199–266.

42. **Trere, D.**, Technical and Methodological Aspects of Silver Staining and Measurement of Nucleolar Organizer Region (NOR), *Zentralbl. Pathol.*, 1994, vol. 140, pp. 11–14.

¹Донецкий ботанический сад НАН Украины

²Криворожский ботанический сад НАН Украины

Получено 03.05.2013

УДК 576.255:581.48:581.52

ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ЗМІНИ У НАСІННЯ СОСНИ КРИМСЬКОЇ (*PINUS PALLASIANA* D. DON)
НАСАДЖЕНЬ ТЕХНОГЕННО ЗАБРУДНЕНИХ ТА ПОРУШЕНИХ ТЕРИТОРІЙ

Коршиков І.І.¹, Ткачова Ю.О.¹, Лаптева О.В.²

¹ Донецький ботанічний сад НАН України

² Криворізький ботанічний сад НАН України

Визначали цитогенетичні зміни у клітинах корінців проростків насіння з семи насаджень сосни кримської (*Pinus pallasiana* D. Don), що знаходяться на територіях заповідника, ботанічного саду, промислових міст Донецького та Криворізького регіонів, залізорудного відвалу у степовій зоні України. Встановлено, що порівняно з контролем (природна популяція Криму), в інтерфазних клітинах насіння із степової зони зменшується площа ядра (в 2,0–54,5 разів) і значно збільшується кількість клітин з патологіями мітозу. У насіння техногенних екотопів у 1,8–4,0 рази зростає кількість клітин з мікроядрами. Однозначних змін у розмірі ядерця, їх кількості та ядерно-ядерцевому співвідношенні не встановлено. Пропонується використовувати мікроядерний тест та рівень патологій мітозу у насіння *P. pallasiana* для оцінювання генотоксичності забруднювачів середовища.

UDC 576.255:581.48:581.52

GYTOGENETIC CHANGES IN *PINUS PALLASIANA* D. DON SEEDS SAMPLED IN THE STANDS
FROM TECHNOGENOUS POLLUTED AND DISTURBED AREAS

Korshikov I.I.¹, Tkachova Yu.A.¹, Lapteva Ye.V.²

¹Donetsk Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Ukraine

²Kryvyi Rih Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Ukraine

In this study, we investigated cytogenetic changes in seedling root cells of *Pinus pallasiana* D. Don seeds sampled in seven stands growing in a natural reserve, botanical garden, industrial cities of Donetsk and Kryvyi Rih regions and in an ore mining dump in the steppe of Ukraine. Nuclear area of interphase cells is 2.0 to 54.5 smaller and the number of cells with pathological mitosis is significantly higher in seeds from steppe stands compared to control (a natural population in the Crimea). The number of cells with micronuclei is 1.8 to 4.0 times higher in seeds from technogenous ecotopes. We have observed no unambiguous changes in nuclei sizes, their number and nucleus-nucleolus ratio. We suggest using of micronuclear test and pathological mitosis in *P. pallasiana* seeds for assessment of environmental pollutants' genotoxicity.