

УДК 576.316:582.47

Т.С. Седельникова

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ХВОЙНЫХ КАК ИНДИКАТОР УРОВНЯ ЭКСТРЕМАЛЬНОСТИ ЭКОСИСТЕМ

хвойные, мониторинг, число хромосом, хромосомные мутации

Использование цитогенетических методов индикации уровня нарушенности лесных экосистем, сформированных различными видами хвойных, позволяет оценить не только состояние древостоев, но и прогнозировать их устойчивость, определять перспективы интродукции и создания искусственных насаждений в конкретных условиях произрастания. Наиболее чувствительными и информативными критериями цитогенетического анализа популяций хвойных являются определение числа хромосом, анализ хромосомных мутаций и патологий митоза [3, 9].

Цели и задачи исследований

Целью настоящего исследования явилось проведение цитогенетических исследований естественных (автохтонных) и искусственных популяций хвойных в экотопах с различной степенью природной и антропогенной экстремальности, а также в условиях интродукции. Для сравнения приведены данные цитогенетического исследования популяций хвойных в оптимальных или фоновых их местопроизрастаниях в пределах ареалов видов. В задачи исследования входили: анализ числа хромосом в соматических клетках, уровня встречаемости и спектра хромосомных перестроек, патологий митоза, а также соответствующая оценка общего состояния исследуемых популяций хвойных.

Объекты и методики исследований

Семенной материал для данных исследований был собран в различных регионах России, Украины, Болгарии, Чехии, Франции. Для анализа использовали меристематические ткани кончиков корешков проросших семян. Семена проращивали в чашках Петри, затем проростки обрабатывали 1% раствором колхицина в течение 4–6 часов. После промывания производили фиксацию проростков спиртово-уксусной смесью (3:1). Подсчет числа хромосом и исследование хромосомных мутаций производили на стадии метафазы. Патологии митоза изучали на стадии ана-, телофазы без предобработки проростков колхицином. Материал окрашивали 1% раствором железоацетогематоксилина. Для просмотра использовали «давленные» препараты, приготовленные стандартным способом. Препараты просматривали под микроскопом Axiostar plus (Carl Zeiss) с применением системы формирования изображений AxioVision (окуляр × 10, объектив × 90).

Результаты исследований и их обсуждение

В результате проведенных исследований установлено, что изменчивость числа хромосом (миксоплоидия, анеуплоидия, наличие добавочных или В-хромосом) достаточно широко распространена в популяциях видов семейства Pinaceae Lindl.,

произрастающих в естественно-экстремальных экотопах – на болотах, в горах, на границах ареалов видов и за их пределами, а также в зонах влияния антропогенных факторов. Миксоплоидия ($2n = 24, 25$; $2n = 24, 36$; $2n = 24, 36, 48$; $2n = 24, 48$) и, в единичных случаях, анеуплоидия ($2n = 25$; $2n = 26$) обнаружены в семенном потомстве деревьев болотных популяций ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.), лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.), пихты сибирской (*Abies sibirica* Ledeb.) из Западной Сибири (Томская область). Миксоплоидные проростки ($2n = 24, 48$) встречались в семенном потомстве сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) за пределами южной границы ареала в сухостепных условиях произрастания в окрестностях г. Калач-на-Дону (Волгоградская обл.). Миксоплоидия ($2n = 24, 25, 36$; $2n = 24, 48$) выявлена у сосны горной (*Pinus mugo* Turta), произрастающей в горах на севере Чехии [6, 9].

Наиболее высокий для видов семейства Pinaceae уровень изменчивости хромосомных чисел ($2n = 19, 20, 24, 48$; $2n = 21, 23, 24, 27$; $2n = 24, 25, 36$; $2n = 24, 36$; $2n = 24, 36, 48$; $2n = 24, 48$) отмечен в популяциях субарктической расы *L. sibirica* f. *polaris* Djil., произрастающих в условиях Крайнего Севера на северо-восточной границе ареала в зоне влияния аэрозольных сернистых эмиссий ГМК «Норильский никель» и испытывающих исключительно высокое суммарное воздействие естественной и техногенной экстремальности. В данной популяции *L. sibirica* впервые для вида были выявлены В-хромосомы ($24 + 1В$) субметацентрического типа [10].

В-хромосомы особенно часто встречаются в популяциях видов рода *Picea* A. Dietr., произрастающих в условиях природной или антропогенной экстремальности. Так, В-хромосомы ($24 + 1В$) метацентрического и субметацентрического типов найдены у *P. obovata* на эвтрофных болотах Западной Сибири, в высокогорных популяциях ели тянь-шаньской (*Picea shrenkiana* Fisch. et S.A. Mey.) на хребте Кунгей Алатау [6, 9]. У ели обыкновенной (*Picea abies* (L.) H. Karst.) В-хромосомы ($24 + 1-4В$) впервые обнаружены на южном пределе распространения вида в горном массиве Западные Родопы в условиях повышенной концентрации естественных радионуклидов U 238 и Ra 226 [11].

Увеличение изменчивости числа хромосом хвойных часто происходит при их интродукции в различных географических регионах, далеких от естественных ареалов, что может являться следствием акклиматизации и адаптации растений в новых условиях произрастания. Высокая вариабельность хромосомных чисел (миксоплоидия) выявлена в семенном потомстве некоторых видов сосен (род *Pinus* L.) в дендрарии «Софронка» в окрестностях г. Пльзень в Чехии: сосны приморской (*Pinus pinaster* Aiton), интродуцированной из Сербии ($2n = 24, 36$), сосны горной древовидной (*Pinus uncinata* Mill. ex Mirb.), интродуцированной из Испании ($2n = 24, 25$; $2n = 24, 48$; $2n = 24, 25, 48$). У межвидового гибрида сосны скрученной и сосны Банка (*Pinus contorta* Dougl. ex Loud. × *Pinus banksiana* Lamb.) в условиях интродукции в дендрарии «Софронка» также наблюдалась миксоплоидия ($2n = 24, 36$; $2n = 24, 48$) [9].

У представителей семейства Cupressaceae Gray – туи восточной (*Thuja orientalis* L.), кипарисовика Лавсона (*Chamaecyparis lawsoniana* (A. Murr.) Parl.) и кипариса аризонского (*Cupressus arizonica* Greene) при их интродукции из Северной Америки и Восточной Азии в дендрарии Лесотехнического университета (г. София) и ряд регионов Болгарии (гг. Благоевград, Кюстендип, Априлци; Средние Родопы, окрестности с. Петково; горный массив Рила, лесхоз «Рильский монастырь»), обнаружена миксоплоидия ($2n = 22, 26$; $2n = 22, 33$; $2n = 22, 33, 44$; $2n = 22, 44$) [8].

При исследовании числа хромосом у 4-х культиваров североамериканского вида туя западная (*Thuja occidentalis* L.), интродуцированных в Национальном дендрологическом парке «Софиевка» (г. Умань, Украина), и отличающихся по ряду морфологических признаков (высоте дерева, форме кроны, окраске хвои),

миксоплоидия ($2n = 22, 33, 44$; $2n = 22, 33$) была выявлена с высокой частотой встречаемости [7].

Наряду с изменениями числа хромосом, популяции хвойных, произрастающие в экстремальных экотопах, характеризуются повышением встречаемости хромосомных мутаций в семенном потомстве (табл.).

Таблица. Хромосомные нарушения в метафазных клетках хвойных в различных условиях произрастания

Таксон	Регион сбора материала	Экстремальность экотопа	Встречаемость, %
<i>Abies sibirica</i>	Россия, Томская обл., Томский р-н	произрастает на эвтрофном болоте	7,5
<i>Picea obovata</i>	Россия, Томская обл., Томский р-н	произрастает на эвтрофном болоте	9,4
<i>Pinus sylvestris</i>	Россия, Красноярский край, Шушенский р-н	произрастает на южной границе ареала	5,1
<i>Pinus sylvestris</i>	Россия, Волгоградская обл., окрестности г. Калач-на-Дону	произрастает за пределами ареала; автотранспортные эмиссии	14,4
<i>Pinus sylvestris</i>	Россия, Красноярский край, Мотыгинский р-н	отвалы золотодобывающей промышленности	9,5
<i>Pinus sylvestris</i>	Россия, окрестности г. Красноярска	комплексные техногенные эмиссии	11,5
<i>Picea abies</i>	Болгария, Западные Родопы, местность «Дрангов камък»	произрастает на южной границе ареала, повышенная концентрация естественных радионуклидов U238, Ra226	8,0
<i>Larix sibirica</i> f. <i>polaris</i>	Россия, окрестности г. Норильска	произрастает на северной границе ареала; техногенные эмиссии	22,8
<i>Pinus pinaster</i>	Чехия, окрестности г. Пльзень, дендрарий «Софронка»	произрастает в условиях интродукции	–
<i>Pinus uncinata</i>	Чехия, окрестности г. Пльзень, дендрарий «Софронка»	произрастает в условиях интродукции	1,6
<i>Thuja occidentalis</i> 'Wareana Lutescens'	Украина, Черкасская обл., г. Умань, парк «Софиевка»	произрастает в условиях интродукции	1,9
<i>Pinus sylvestris</i>	Россия, Красноярский край, Манский, Енисейский, Курагинский р-ны; Томская обл., Томский р-н	фоновые условия произрастания	0,4–0,9
<i>Larix sibirica</i>	Россия, Республика Хакасия, Ширинский р-н	фоновые условия произрастания	–
<i>Picea obovata</i>	Россия, Томская обл., Томский р-н	фоновые условия произрастания	2,1
<i>Abies sibirica</i>	Россия, Томская обл., Томский р-н	фоновые условия произрастания	2,7
<i>Picea abies</i>	Франция, парковые насаждения в окрестностях г. Парижа	фоновые условия произрастания	–

Спектр выявляемых хромосомных перестроек очень широкий и включает также редкие типы нарушений. Например, у *A. sibirica*, произрастающей на эвтрофных болотах Западной Сибири (Томская область), выявлены дицентрические хромосомы, кольцевые структуры, фрагменты, комплексные нарушения, а также обнаружено отклонение положения центромеры от нормального у одной пары гомологов в результате перичентрической инверсии. При изучении митоза у данного вида в экстремальных условиях его произрастания на болотах выявлены многополюсные митозы, отстающие и забегающие хромосомы, одиночные и парные мосты, фрагменты. Для пихты подобный тип перестроек описан впервые. В семенном потомстве *P. obovata* из болотных местопроизрастаний этого же региона выявлены хромосомные перестройки, представленные кольцевыми структурами (в отдельных случаях встречающимися совместно с В-хромосомами), дицентрическими хромосомами, фрагментами [6].

Высокий уровень встречаемости и широкий спектр хромосомных мутаций выявлен в популяциях *P. sylvestris* на южной границе ареала (Шушенский р-н, Красноярский край), а также за ее пределами в искусственных насаждениях данного вида, произрастающих вдоль федеральной трассы М21 (окрестности г. Калач-на-Дону, Волгоградская область) и подверженных влиянию автотранспортных эмиссий (см. табл.). Хромосомные нарушения представлены кольцевыми хромосомами, «надетыми» кольцевыми хромосомами, ацентрическими кольцами, дицентрическими хромосомами, фрагментами. В насаждениях *P. sylvestris*, произрастающих на отвалах золотодобывающей промышленности (Мотыгинский р-н, Красноярский край), а также в окрестностях г. Красноярска в зоне влияния комплексных техногенных эмиссий с высокой частотой встречаемости выявлены такие нарушения, как кольцевые и дицентрические хромосомы, фрагменты, остаточное ядрышко.

В автохтонных популяциях *P. abies* из Западных Родоп (местность Дрангов камък, Болгария), произрастающих на южной границе ареала в районе, подверженном воздействию уранодобывающей промышленности и естественной радиоактивности, с достаточно высокой частотой встречаются хромосомные мутации, представленные фрагментами и кольцевыми хромосомами [11].

Цитогенетические эффекты кумулятивного воздействия естественной и техногенной экстремальности исследованы у *L. sibirica* f. *polaris* на Таймыре в окрестностях г. Норильска. Установлено, что семенное потомство норильской популяции *L. sibirica* характеризуется наиболее высокой для вида встречаемостью хромосомных нарушений разнообразного типа: мутации были обнаружены приблизительно в каждом третьем проростке и каждой пятой клетке, доступной для анализа. Наиболее часто отмечались кольцевые структуры, включающие кольцевые хромосомы и ацентрические кольца. Другие нарушения представлены хромосомными фрагментами, дицентрическими хромосомами. В единичных случаях найдены метафазные клетки с остаточным ядрышком, нарушениями спирализации хромосом и С-митозом, которые ранее в популяциях этого вида не выявлялись [10].

При интродукции различных видов хвойных также выявляются хромосомные перестройки, но частота их встречаемости, как правило, невысокая (см. табл.). В семенном потомстве сосен, интродуцированных в дендрарии «Софронка» (Чехия), фрагменты и кольцевые хромосомы наблюдались у *P. uncinata*, а у *P. pinaster* хромосомных мутаций отмечено не было [9]. В семенном потомстве культивара *T. occidentalis* 'Wareana Lutescens', интродуцированного в дендрологическом парке «Софиевка» (Украина), выявлены фрагменты, дицентрические хромосомы, у

культивара *T. occidentalis* 'Lutea' – фрагментация хромосом в клетках различной ploидности [7].

В оптимальных или условно фоновых условиях произрастания в популяциях *P. sylvestris* в Красноярском крае (Манский, Енисейский, Курагинский районы), *L. sibirica* в Республике Хакасия (Ширинский район), *P. obovata* и *A. sibirica* в Томской области (Томский район), в парковых насаждениях *P. abies* в окрестностях г. Парижа (Франция) изменения числа хромосом и хромосомные нарушения не выявлялись или встречались с низкой частотой (см. табл.).

Состояние хвойных древостоев, составляющих лесные экосистемы в условиях повышенной экстремальности, и диагностируемое очень высокими уровнями варибельности хромосомных чисел и встречаемости хромосомных мутаций, характеризуется как ослабленное или угнетенное, вплоть до их полной гибели. Визуально определяемыми признаками деградации деревьев являются снижение их прироста и продуктивности, суховершинность и многоствольность, усыхание боковых ветвей, пожелтение хвои, дефолиация.

При интродукции отклонения от диплоидного числа хромосом у видов и культиваров хвойных могут сопровождаться морфологическими модификациями формы кроны, окраски хвои, роста и габитуса деревьев (карликовость, «ведьмины метлы»), имеющими в ряде случаев декоративный эффект, что может использоваться в селекционных целях.

В оптимальных или фоновых условиях произрастания древостои хвойных, индицируемые отсутствием нарушений числа хромосом и низкой встречаемостью хромосомных мутаций, в основном бывают сформированы нормальными по габитусу деревьями.

Сходные данные опубликованы другими авторами. Так, увеличение уровня хромосомных мутаций, патологий митоза и других цитогенетических нарушений было отмечено у хвойных, произрастающих в естественно экстремальных экотопах, в условиях различного по характеру и степени промышленного загрязнения и повышенного радиоактивного фона в регионах России – на Южном Урале, Алтае, в Воронежской области, на территории Украины – в Донецкой, Криворожской и Волынской областях [1, 2, 4, 5].

Выводы

Полученные в результате исследований данные позволяют сделать следующие выводы:

1. В популяциях различных видов хвойных в условиях природной экстремальности, а также при их интродукции происходит постепенное векторизованное в соответствии с факторами произрастания изменение их генотипического состава, что диагностируется ростом изменчивости числа хромосом (миксоплоидией, анеуплоидией, появлением В-хромосом), а также повышением уровня и спектра хромосомных перестроек.

2. Насаждения хвойных, подвергающиеся техногенному и радиоактивному стрессу, а также произрастающие в условиях совместного воздействия природной и антропогенной экстремальности, характеризуются очень высоким уровнем и широким спектром нарушений числа хромосом, хромосомных мутаций и патологий митоза, что может свидетельствовать о слабой способности растений адаптироваться к ним.

3. В фоновых условиях произрастания древостоев хвойных наблюдается отсутствие нарушений числа хромосом и низкая встречаемость хромосомных перестроек.

Работа выполнена при поддержке Программы фундаментальных исследований Президиума РАН № 30 «Живая природа: современное состояние и проблемы развития».

- Егоркина Г.И.** Цитогенетические параметры сосны обыкновенной в Алтайском крае / Г.И. Егоркина // Лесоведение. – 2010. – № 6. – С. 39–45.
Egorkina, G.I., Cytogenetic parameters of Scotch pine in Altai region, *Lesovedenie* (Forestry), 2010, no 6, pp. 39–45.
- 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., Chromosome aberrations as indicator of estimation of degree of technogenic effect on conifer plantations, *Ecologiya* (Rus. J. Ecol.), 2008, no 4, pp. 276–286.
- Калаев В.Н.** Корреляционные связи между цитогенетическими характеристиками сосны обыкновенной в связи с вопросами выбора информативных показателей для цитогенетического мониторинга / В.Н. Калаев, В.Г. Артюхов, И.В. Игнатова, А.Д. Савко, Д.А. Дмитриев // Проблемы региональной экологии. – 2012. – № 3. – С. 24–32.
Kalaev, V.N., Artyukhov, V.G., Ignatova, I.V., Savko, A.D., and Dmitriev, D.A., Correlative relations between cytogenetic characteristics of Scots pine in connection with matters of choice of informative parameters of cytogenetic monitoring, *Problemy regionalnoy ekologii* (Problems of Regional Ecology), 2012, no 3, pp. 24–32.
- Коршиков И.И.** Патологии митоза (мосты) в клетках проростков семян трех видов хвойных популяций и насаждений техногенно загрязненных территорий / И.И. Коршиков, Ю.А. Ткачева, Е.В. Лаптева // Автохтонні та інтродуковані рослини. – 2013. – Вип. 9. – С. 92–102.
Korshikov, I.I., Tkacheva, Yu.A., and Lapteva, E.V., Abnormalities of the mitosis (bridges) in seedling cells of three conifer species in populations and plantations of the urban polluted areas, *Avtokhtonni ta introdukovani roslyny* (Autochthonous and alien plants), 2013, vol. 9, pp. 92–102.
- Машкина, О.С.** Цитогенетические реакции семенного потомства сосны обыкновенной на комбинированное антропогенное загрязнение в районе Новоліпецкого металлургического комбината / О.С. Машкина, В.Н. Калаев, Л.С. Мурая, Е.С. Леликова // Экологическая генетика. – 2009. – Т. VII, № 3. – С. 17–29.
Mashkina, O.S., Kalaev, V.N., Muraya, L.S., and Lelikova, Ye.S., Cytological reactions of Scots pine seed progeny on combined antropogenic pollution in the region of Novolipetsk metallurgical combine, *Ekologicheskaya genetika* (Ecological Genetics), 2009, vol. VII, no 3, pp. 17–29.
- Седельникова, Т.С.** Экологическая обусловленность дифференциации кариотипов болотных и суходольных популяций видов *Pinaceae* / Т.С. Седельникова, Е.Н. Муратова, А.В. Пименов // Ботанический журнал. – 2010. – Т. 95, № 11. – С. 1513–1520.
Sedel'nikova, T.S., Muratova, E.N., and Pimenov, A.V., Ecological background of the cariotype differentiation of peat-bog and dry-valley *Pinaceae* species, *Botanicheskiy zhurnal* (Russian Botanical Journal), 2010, vol. 95, no 11, pp. 1513–1520.
- Седельникова Т.С.** Числа хромосом культиваров туи западной в Национальном дендрологическом парке «Софиевка» / Т.С. Седельникова, А.В. Пименов, В.Н. Грабовой, В.А. Пономаренко // Генетика і селекція: 18–20 березня 2014 р.: досягнення та проблеми: тези доповід. міжн. наук. конф. – Умань, 2014. – С. 110–111.
Sedel'nikova, T.S., Pimenov, A.V., Grabovoy, V.N., and Ponomarenko, V.A., Chromosome numbers of cultivated Northern White Cedar in National dendrological park “Sofievka”, in: *Genetika i selektsia: dosyagnennya ta problemy: tezy dopov. mizhnar. nauk. konf.* (Genetics and breeding: progress and problems. Abstr. Int. Sci. Conf. (Uman, March 18–20, 2014), Uman, 2014, pp. 110–111.

8. **Седельникова Т.С.** Числа хромосом видов *Cupressaceae* при интродукции в Болгарии / Т.С. Седельникова, А.В. Пименов, А.Н. Ташев // Ботанический журнал.– 2011.– Т. 96, № 7. – С. 974–975.
Sedel'nikova T.S., Pimenov, A.V., and Tashev, A.N., Chromosome numbers of *Cupressaceae* species under the introduction in Bulgaria, *Botanicheskii zhurnal* (Russian Botanical Journal), 2011, vol. 96, no 7. pp. 974–975.
9. **Sedel'nikova, T.S.**, Muratova, E.N., and Pimenov, A.V., Variability of chromosome numbers in Gymnosperms, *Biology Bulletin Reviews*, 2011, vol. 1, no 2, pp. 100–109.
10. **Sedel'nikova, T.S.**, and Pimenov, A.V., Chromosomal mutations in Siberian Larch (*Larix sibirica* Ledeb.) on Taimyr Peninsula, *Biology Bulletin*, 2007, vol. 34, no 2, pp. 198–201.
11. **Tashev, A.N.**, Sedel'nikova, T.S., Pimenov, A.V., Supernumerary (B) chromosomes in populations of *Picea abies* (L.) H. Karst. from Western Rhodopes (Bulgaria), *Цитология и генетика* (Cytology and genetics). 2014, vol. 48, no 3, с. 30–36.

ФГБУН Институт леса им. В.Н. Сукачева
Сибирского отделения Российской академии наук

Поступила 14.07.2014

УДК 576.316:582.47

ЦИТОГЕНЕТИЧНИЙ МОНІТОРИНГ ПОПУЛЯЦІЙ ХВОЙНИХ ЯК ІНДИКАТОР РІВНЯ ЕКСТРЕМАЛЬНОСТІ ЕКОСИСТЕМ

Т.С. Седельнікова

ФДБУН Інститут лісу ім. В.М. Сукачова Сибірського відділення Російської академії наук

У ході цитогенетичних досліджень встановлено, що популяції та насадження хвойних в регіонах Росії, України, Болгарії, Франції та Чехії, які знаходяться у природно-екстремальних екоотопах, у зонах техногенного забруднення, а також в умовах інтродукції, порівняно з фоновими умовами в межах ареалів видів, характеризуються варіабельністю числа хромосом, високим рівнем і широким спектром хромосомних мутацій. Варіабельність хромосомних чисел, наявність хромосомних перебудов і мітотичних порушень в насадженнях хвойних, які зростають в екстремальних екоотопах і умовах інтродукції, можуть супроводжуватися змінами габітусу, росту і розвитку дерев.

хвойні, моніторинг, число хромосом, хромосомні мутації

UDC 576.316:582.47

CYTOGENETIC MONITORING OF POPULATIONS OF CONIFERS AS AN INDICATOR OF ECOSYSTEMS EXTREMITY LEVEL

T.S. Sedel'nikova

V.N. Sukachev Institute of Forest, Siberian Branch of Russian Academy of Science

As a result of cytogenetic monitoring it was revealed that populations and plantations of conifers in some regions of Russia, Ukraine, Bulgaria, France and Czech Republic growing in natural extreme ecotopes, in areas of technogenic pollution, and under introductions, as compared to background sites are characterized by variability of chromosome numbers, high level and wide spectrum of chromosome mutations. Variability of chromosome numbers and presence of chromosome aberrations and mitotic disorders in plantations of conifers growing under extreme ecotopes and under introductions may be accompanied by changes in habitus, growth and development.

conifers, monitoring, chromosome number, chromosome mutations