



УДК 575:630.17

## ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ МЕТОД ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ УСТОЙЧИВЫХ ГЕНОТИПОВ

**Т.В. Баранова**

Воронежский государственный  
университет,  
Россия, 394068, г. Воронеж,  
ул. Ботанический сад, 1

E-mail: [tanyavostric@rambler.ru](mailto:tanyavostric@rambler.ru)

В результате изучения цитогенетических характеристик ели колючей обнаружено три экземпляра, устойчивые к техногенной нагрузке. Предлагается использовать отобранные растения как маточники для сбора материала и получения резистентных форм для озеленения загрязненных территорий.

Ключевые слова: цитогенетические характеристики, устойчивые генотипы, интродуцент.

### Введение

Адаптация организма заключается в физиологических реакциях, направленных на поддержание внутренней среды (гомеостаза). Благодаря этому, организм в непривычных условиях может противостоять экстремальным факторам среды и сохранять нормальную жизнедеятельность. Чаще всего адаптивные изменения наблюдаются при небольших концентрациях загрязнителей в окружающей среде. Однако, в зоне сильного антропогенного влияния (на территории промышленного предприятия или в прилегающей к нему зоне), при значительных концентрациях токсикантов у растений отмечаются грубые морфофункциональные нарушения. В условиях техногенной нагрузки происходят изменения морфологических, физиологических, биохимических и других показателей, в том числе и цитогенетических. Изучение адаптации организма возможно осуществить с помощью цитогенетического метода.

Для нормального функционирования организма пределы изменчивости определяются границами нормы реакции. Под воздействием сильных техногенных нагрузок и других стрессоров повышается число возникающих мутаций, которое превосходит уровень спонтанного мутагенеза. Это приводит к состоянию нестабильности генома. Стабильность развития организма оценивают по морфологическим, физиологическим, цитогенетическим показателям [1-3]. Нестабильность – состояние генома, когда в клетках организма наблюдается повышенное количество спонтанных повреждений, высокая частота мутаций и темпов мутирования, повышение уровня амплификации генов и изменение характера генной экспрессии. На организменном уровне нестабильность генома проявляется увеличением риска опухолевой и других патологий [4]. На клеточном уровне нестабильность генома выражается в повышении числа органических (патологий митоза) и функциональных нарушений, к которым иногда относят остаточные ядрышки в митозе. Хотя существует мнение, что это один из способов амплификации генов и приспособления организма к стрессовым условиям. Нестабильность генома, в том числе и данный феномен, были отмечены нами ранее у аборигенного вида для зоны Центрального Черноземья – березы повислой – в техногенно загрязненном (Левобережном) районе г. Воронежа [5].

На эколого-биологические особенности интродуцентов оказывает влияние приспособленность к условиям произрастания на родине, генетическая память вида (преадаптация). На явлении постепенной адаптации растений к новым условиям основана ступенчатая акклиматизация интродуцентов. Состояние и самочувствие растений зависит от их внутренних особенностей, которые можно фиксировать с помощью анатомического, биохимического и цитологического методов. Последний достаточно трудоемок, но регистрирует множество структурных (мутаций) и функциональных нарушений (модификаций). Для использования данного метода при отборе перспективных интродуцентов достаточно отметить крупный размер клеток хвойных, являющихся удобными объектами цитогенетических исследований.

Многие хвойные интродуценты, в том числе и ель колючая, часто используемая в озеленении городской территории, достаточно газоустойчивы. Поэтому подбор видов и форм хвойных, перспективных для озеленения территории Центрального Черноземья, и способов выращивания посадочного материала становятся актуальными задачами в условиях меняющегося климата. Существует множество способов отбора перспективных интродуцентов. Исследования цитогенетических характеристик практически не используются для этого. Однако они отражают изменения клеток и генетического аппарата и могут служить основой выявления устойчивых форм. При изучении цитогенетических показателей используются различные мето-



дики, отличающиеся применением разнообразных красителей, способов обработки материала (с мацерацией, без мацерации), которым могут быть апикальные меристемы кончиков корней прорастающих семян и интеркалярные меристемы распускающихся почек растений. Последние чаще используются в случаях, когда сбор семян не представляется возможным. Для лиственных, имеющих мелкие хромосомы, данная методика более трудоемка, чем для хвойных, поэтому при анализе цитогенетических характеристик лиственных чаще используются корешки проростков семян. Но при исследовании хвойных применяются обе методики. Однако при изучении генотипов (и фенотипов) отдельных экземпляров предпочтительнее анализировать интеркалярные меристемы распускающихся почек, поскольку они отражают истинное состояние генетического аппарата растения. Семенное потомство частично показывает цитогенетические характеристики материнского экземпляра, являясь следующим поколением, и несет определенный мутационный груз, дополнительные мутации и рекомбинации, которые могут быть не свойственны материнскому растению. В связи с этим цель исследования состояла в выявлении наиболее устойчивых генотипов ели колючей по цитогенетическим характеристикам.

### Материал и методика

Несмотря на крупные хромосомы, характерные для хвойных и способные стать «мишенями» для мутагенов, ель колючая (форма голубая) является ценным декоративным газоустойчивым интродуцентом в условиях Центрального Черноземья, часто используется в озеленении города. При интродукции ель колючая (форма голубая) практически не образует семян, поэтому материалом для цитогенетического исследования служили интеркалярные меристемы распускающихся вегетативных почек. Для исследования отобрали четыре дерева. Исследуемые деревья ели колючей (*Picea pungens* Engelm) произрастали в Левобережном районе г. Воронежа – в районе сильной техногенной нагрузки. В последнее время экологическая обстановка в Воронеже достаточно напряжена. Атмосферный воздух загрязнен взвешенными частицами различного происхождения и газообразными соединениями:  $CO$ ,  $NO_2$ ,  $SO_2$ , различными углеводородами, в том числе фенолом, формальдегидом, толуолом, ксилолом, стиролом, бензапиреном. Они являются основными компонентами промышленных выбросов в атмосферу предприятий города. Наибольшее количество загрязняющих атмосферу веществ поступает от предприятий Левобережного р-на. Концентрации сернистого газа, ксилола, толуола, хлористого водорода более чем в 2 раза превышают ПДК.

Цитогенетические показатели изучали на постоянных давленных препаратах, изготовленных из интеркалярной меристемы почек ели (семь препаратов по каждому варианту) по стандартной методике [5]. При исследовании препаратов учитывали общее количество просмотренных клеток на каждом препарате, митотический индекс (МИ), количество делящихся клеток, находящихся в той или иной фазе митоза, и патологических митозов (ПМ). Затем рассчитывали МИ (отношение количества делящихся клеток к общему количеству клеток по препаратам), доли профаз и ПМ. Результаты обработаны с использованием статистического пакета компьютерных программ Stadia.

### Результаты и их обсуждение

Одним из основных критериев успешной адаптации растений является их приспособленность к температуре, влажности и почвенным условиям. В таком аспекте более конкурентоспособными будут растения с широкой нормой реакции к внешним факторам, лучше адаптирующиеся в новых и меняющихся условиях современного климата с часто повторяющимися периодами весенне-летней засухи на фоне техногенного загрязнения. При таких условиях отмечаются синергические эффекты, выражающиеся в резких изменениях различных эколого-биологических показателей.

По мнению некоторых авторов [6], отличия в устойчивости к загрязнению у отдельных растений связаны с уровнем индивидуальной гетерозиготности, повышение которой увеличивает устойчивость и улучшает их адаптивные возможности. А по предположению Ю.П. Алтухова [7], высокогетерозиготные растения могут нести большое количество рецессивных леталей и полuletалей, которые также отрицательно влияют на их приспособляемость. Кроме того, в условиях антропогенного стресса чаще появляются новые мутации, чем в чистых зонах, которые в совокупности с уже имеющимися нарушениями генетического аппарата могут проявляться у последующих поколений. Накапливаясь, мутационные изменения, в основном рецессивные мутации, а зачастую летальные, составляют генетический груз популяции. Чаще всего мутации не являются полезными, приводя геном в состояние нестабильности.

При анализе цитогенетических показателей у четырех деревьев ели колючей выявлено, что МИ дерева №4 достоверно выше, чем у остальных, хотя количество клеток в стадии мета-



фазы достоверно ниже. Высокое значение МИ у данного дерева связано с увеличением количества профаз, отмеченного ранее и у других объектов в условиях антропогенной нагрузки. У дерева №4 происходит задержка клеток в профазе (они не могут перейти к следующей стадии митоза в связи с нарушениями). На это указывают повышенное количество ПМ и уменьшенное количество метафаз (табл.). На характер подобных изменений может влиять и разная индивидуальная чувствительность организмов к антропогенному стрессу, которая определяется неоднозначностью их нормы реакции по признаку резистентности к неблагоприятным условиям. Ранее нами отмечалось различие нормы реакции по признаку газоустойчивости у нескольких деревьев аборигенного вида Центрального Черноземья – березы повислой – при изучении цитогенетических характеристик [8]. Можно предположить, что полученные значения цитогенетических показателей ели колючей связаны с несколькими причинами. Например, действием стиролсодержащих выбросов завода по производству синтетического каучука, вблизи которого произрастают анализируемые растения. Соединения стирола с другими антропогенными поллютантами (например, выхлопными газами автотранспорта) способны привести к синергичному эффекту. Установлено, что ель является биоиндикатором промышленного загрязнения стиролом второй степени, т. е. она среднеустойчива к этому загрязнителю по показателям биопотенциалов [9]. Поскольку ель колючая интродуцент, что является дополнительным стрессовым фактором, и относится к хвойным (имеет крупные хромосомы), это все-таки более чувствительный и менее адаптированный к городским условиям вид в зоне Центрального Черноземья, чем аборигены. Следовательно, генотип дерева №4 является менее устойчивым к техногенному загрязнению по сравнению с остальными, характеризуясь признаками нестабильности генома. Такие экземпляры не рекомендуется использовать в качестве маточных растений.

Таблица

**Цитогенетические характеристики в клетках меристемы хвоинок ели колючей (голубой формы), собранных в экологически загрязненном районе**

№ дерева	МИ, %	МИ без учета профаз, %	ПМ, %	ПМ без учета профаз, %	Число клеток по стадиям митоза, %			
					профаза	анафаза	метафаза	телофаза
1	13.3±0.5	6.4±0.5	3.1±0.3	6.4±0.5	47.3±2.9	24.5±0.9	14.0±1.5	14.2±1.7
2	13.5±0.3	7.1±0.2	3.6±0.4	6.8±0.9	47.2±0.9	30.7±1.5	12.7±0.7	9.3±1.2
3	13.5±0.5	7.5±0.5	3.6±0.3	6.6±0.5	45.0±2.4	30.3±1.6	14.4±1.6	10.7±1.6
4	15.5±0.4*	6.9±0.4	4.9±0.6	11.3±1.6*	55.2±2.4*	23.6±2.0	11.2±1.3	11.5±0.9

Обозначения: \*  $P < 0,05$  – цитогенетические характеристики дерева №4 достоверно отличаются от остальных.

В литературе отсутствует однозначное мнение об успешности внедрения растений на новых территориях в условиях техногенного загрязнения. Некоторые авторы [10] предполагают, что внедрение интродуцированных насаждений может иметь положительный эффект на территориях, подверженных антропогенному воздействию. Наши исследования выявляют стабильность генотипов по цитогенетическим характеристикам у трех экземпляров ели колючей из четырех в районе техногенной нагрузки.

### Заключение

Таким образом, выявлены цитогенетически стабильные генотипы ели колючей, которые могут служить маточными экземплярами для сбора материала для черенкования, впоследствии используемого в озеленении городской территории. Отобранные растения (три экземпляра) характеризуются небольшими пределами варьирования цитогенетических показателей. Можно предположить, что полученные от них растения будут относительно устойчивы к неблагоприятным изменениям в окружающей среде.

### Список литературы

1. Кряжева Н.Г., Чистякова Е.К., Захаров В.М. Анализ стабильности развития березы повислой в условиях химического загрязнения // Экология. – 1996. – № 6. – С. 441–444.
2. Чистякова Е.К., Кряжева Н.Г. Возможность использования показателей стабильности развития и фотосинтетической активности для исследования состояний природных популяций растений на примере березы повислой // Онтогенез. – 2001. – Т. 3, № 6. – С. 422–427.



3. Чубинишвили А.Т. Оценка стабильности развития и цитогенетического гомеостаза в популяциях европейских зеленых лягушек (комплекс *Rana esculenta*) в естественных и антропогенных условиях // Онтогенез. – 2001. – Т. 3, № 6. – С. 434–439.
4. Безлепкин В.Г., Газиев А.И. Индуцированная нестабильность генома половых клеток животных по мини- и микросателлитным последовательностям // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2001. – Т. 41, № 5. – С. 475–488.
5. Вострикова Т.В. Нестабильность цитогенетических показателей и нестабильность генома у березы повислой // Экология. – 2007. – № 2. – С. 88–92.
6. Коршиков И.И., Бычков С.А. Сравнительный анализ генетической изменчивости 2-х групп деревьев сосны крымской, отличающихся по степени повреждаемости поллютантами, в насаждениях г. Мариуполя // Цитология и генетика. – 2001. – Т. 35, № 2. – С. 30–39.
7. Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях. 2-е изд. – М.: Наука, 1989. – 328 с.
8. Вострикова Т.В., Буторина А.К. Цитогенетические реакции березы повислой на действие стрессовых факторов // Известия РАН. Серия биологическая. – 2006. – № 2. – С. 232–38.
9. Бельчинская Л.И. Биоиндикация промышленных токсикантов древесными растениями. – Воронеж: ВГЛТА, 2000. – 93 с.
10. Кузьмин А.В., Кузьмина Л.И., Полоскова Е.Ю. Структурная организация и потенциальная устойчивость интродуцированных насаждений *Larix sibirica* Ledeb. в условиях Кольского полуострова // Растительные ресурсы. – 2004. – Т. 40. – Вып. 2. – С. 18–28.

## CYTOGENETIC METHOD FOR RESISTANT GENOTYPES IDENTIFICATION

**T.V. Baranova**

Voronezh State University,  
1, Botanicheskoy Sad St., Voronezh,  
394068, Russia

E-mail: tanyavostric@rambler.ru

As a result of cytogenetic characteristics investigation of Colorado spruce (*Picea pungens*) three specimens of *Picea pungens* resistant to anthropogenic impact have been found. The selected plants are proposed to be used as the mother plants for material collecting and obtaining resistant forms for landscape gardening in contaminated areas.

Key words: cytogenetic characteristics, stable genotypes, introduced species.