

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ НАСАЖДЕНИЙ ПИХТЫ СИБИРСКОЙ В УСЛОВИЯХ ПРОМЫШЛЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

Проведены цитогенетические исследования насаждений пихты сибирской из условий промышленного загрязнения в сравнении с контролем. Установлено, что из использованных методов наибольшей индикационной чувствительностью обладают: оценка аномальности пыльцевых зерен, оценка уровня хромосомных нарушений на стадии ана-телофазы митоза и стадиях ана-телофазы I и ана-телофазы II мейоза.

Ключевые слова: техногенное загрязнение, индикация, цитогенетические методы, пихта сибирская, Южный Урал.

В качестве индикаторов экологической нагрузки на территорию в настоящее время довольно часто используется оценка состояния растительных объектов, определяемая различными методами. Использование различных цитогенетических методов в мониторинговых наблюдениях некоторые исследователи считают одними из самых чувствительных способов эффективной и адекватной оценки влияния неблагоприятных экологических факторов на окружающую среду [3, 15]. Это мнение подтверждено анализом уровня хромосомных aberrаций в меристематических клетках растений в условиях поливалентного техногенного загрязнения [2, 6]. Высокая чувствительность цитогенетических биоиндикационных тест-систем дается авторами как при оценке общего мутационного фона [5] так и радиационного [4]. Цитогенетические исследования в условиях техногенного загрязнения успешно проводятся и на хвойных видах [8, 9, 12-14].

В настоящей работе представлены результаты исследования уровня аномалий, выявленных в соматической и генеративной тканях пихты сибирской, произрастающей на территории Южного Урала в условиях различного по характеру и интенсивности поливалентного промышленного загрязнения в сравнении с относительно чистыми, контрольными условиями.

В качестве объектов для исследования выбраны средневозрастные естественные насаждения пихты сибирской, произрастающие на территории Челябинской области. Всего исследовано 3 пробные площади (ПП), две из них из условий промышленного загрязнения (г. Аша, г. Сим) и третья из относительно чистых условий (пос. Точильный). При анализе результатов учитывалась комплексная характеристика интенсивности загрязненности территорий по состоянию атмосферного воздуха, водоемов и почвенного покрова в районе исследований. На выбранных ПП оценивалось жизненное состояние древостоев согласно классификации В.А.Алексеева [1].

В районе г. Аша ПП находится в черте города, вблизи от железнодорожного полотна, подвержена поливалентному техногенному загрязнению со стороны промышленных предприятий города – металлургического и химического заводов. Общие выбросы предприятий города и района составляют около 7 тыс. т в год. Загрязнение данной ПП может быть определено как умеренное или даже сильное. На ПП имеются деревья с видимыми повреждениями в виде усыхания боковых побегов и «покраснения» хвои, жизненное состояние древостоя определено как ослабленное.

В районе г. Сим ПП находится на окраине города, вблизи (200–300 м) от автотрассы. Помимо крупной автомагистрали, источником загрязнения в городе являются выбросы ОАО «Агрегат». Загрязнение данной ПП может быть определено как слабое или умеренное. В насаждении наблюдаются видимые повреждения в виде «покраснения» хвои у отдельных деревьев. Жизненное состояние древостоя определено как ослабленное.

В районе пос. Точильный ПП находится вдали от промышленных предприятий, на расстоянии 20-30 км северо-западнее городов Аша и Сим, использована нами как контрольная. Видимых повреждений древостоя на данной пробной площади не наблюдается, насаждение по жизненному состоянию охарактеризовано как здоровое.

При помощи комплекса цитогенетических методов исследовались соматическая (меристема проростков семян) и генеративная (мужской гаметофит) ткани изучаемого вида, определялись частоты хромосомных мутаций на различных стадиях митотического (метафаза, ана-телофаза) и мейотического (метафаза I и метафаза II, ана-телофаза I и ана-телофаза II) циклов, а также оценивалась аномальность и фертильность пыльцевых зерен [10, 11]. При исследовании выявлялись следующие типы аномалий: на стадии метафазы митоза – фрагменты, кольцевые, дицентрические и дополнительные хромосомы, анеуплоидные и по-

Таблица 1. Результаты исследования аномалий, выявленных в соматической и генеративной тканях пихты сибирской в различных условиях произрастания, в%

Местонахождение пробной площади	Митоз		Мейоз				Гаметогенез
	метафаза	анателофаза	метафаза I	анателофаза I	метафаза II	анателофаза II	пыльцевые зерна
г. Аша	5,00±0,69	5,94±0,75	0,90±0,30	2,20±0,46	0,60±0,24	2,30±0,47	12,40±1,04
г. Сим	4,00±1,96	4,83±0,72	1,00±0,31	2,20±0,46	0,40±0,20	1,40±0,37	10,6±0,97
пос. Точильный	3,00±0,54	3,10±0,55	0,50±0,22	0,80±0,28	0,30±0,17	0,60±0,24	8,10±0,86

Таблица 2. Показатели критерия χ^2 по уровню аномалий, выявленных в соматической и генеративной тканях пихты сибирской в различных условиях произрастания

Сравниваемые пробные площади	Митоз		Мейоз				Гаметогенез
	метафаза	анателофаза	метафаза I	анателофаза I	метафаза II	анателофаза II	пыльцевые зерна
г. Аша* – пос. Точильный	0,52	9,34	1,15	6,63	1,00	10,11	10,05
г. Сим* – пос. Точильный	0,15	3,93	1,68	6,63	0,14	3,23	3,69

липлоидные клетки; на стадии ана-телофазы митоза – мосты, фрагменты, кольцевые хромосомы, отставания и забегания хромосом, многополюсность; на стадиях мейоза – фрагменты, мосты, кольца, отставания и забегания хромосом, выбросы и слипания хромосом, триады микроспор; в процессе гаметогенеза – стерильные, мелкие, гипертрофированные пыльцевые зерна и пыльцевые зерна с аномалиями воздушных мешков. Статистическую обработку данных проводили общепринятыми методами, достоверность различий между исследуемыми пробными площадями по уровню выявленных аномалий определяли по критерию χ^2 [7].

Результаты исследования уровня хромосомных нарушений в соматической и генеративной тканях пихты сибирской описанных пробных площадей показали, что в условиях загрязнения у исследованного вида увеличивается процент аномалий. Так, уровень хромосомных нарушений выявленных у пихты сибирской в условиях загрязнения на стадиях митоза в 1,33-1,92 раза, а на стадиях мейоза в 1,33-3,83 раза выше, чем в относительно чистых условиях. В условиях загрязнения также наблюдается более высокий уровень аномалий, выявленных в процесс гаметогенеза, что существенно снижает фертильность зрелых пыльцевых зерен (табл.1).

В результате попарного сравнения уровня аномалий, выявленных в соматической и генеративной тканях пихты сибирской из условий техногенного загрязнения и условий контроля с использованием критерия χ^2 установлена достоверность

различий этих показателей при достаточно высоких уровнях значимости на стадиях ана-телофазы митоза, ана-телофаза I и ана-телофаза II мейоза и по критериям аномальности пыльцевых зерен. На стадиях метафазы митоза, метафазы I и метафазы II мейоза различия либо недостоверны, либо достоверны при более низких уровнях значимости (табл.2). Следует также отметить, что уровень достоверности различий исследованных показателей более высок при сравнении контроля с пробной площадью из условий более сильного загрязнения (г. Аша), чем из условий более слабого загрязнения (г. Сим).

Высокий уровень хромосомных нарушений, выявленных в процессе митоза и мейоза и высокая аномальность пыльцевых зерен у пихты сибирской из условий техногенного загрязнения, а также достоверные отличия загрязненных насаждений от контрольных по частоте встречаемости нарушений свидетельствуют о том, что большая часть выявленных аномалий вызвана воздействием на объекты исследования промышленных выбросов. Используемая в качестве объекта пихта сибирская и апробированные цитогенетические методы показали достаточно высокую индикаторную способность в оценке степени негативного влияния техногенного загрязнения на окружающую среду. Наиболее эффективными из использованных методов явились оценка уровня хромосомных нарушений на стадии ана-телофазы митоза и стадиях ана-телофаза I и ана-телофаза II мейоза и определение аномальности пыльцевых зерен.

29.08.2011

Список литературы:

1. Алексеев В.А. Диагностика жизненного состояния деревьев и древостоев // Лесоведение. 1989. №4. С. 51–57.
 2. Бессонова В.П., Грицай З.В., Юсыпова Т.И. Использование цитогенетических критериев для оценки мутагенности промышленных поллютантов // Цитология и генетика. 1996. Т.30, №5. С.70-76.

3. Буторина А.К., Калаев В.Н. Анализ чувствительности различных критериев цитогенетического мониторинга // Экология. 2000. №3. С.206-210.
4. Буторина А.К., Косиченко Н.Е., Щетинкин С.В. Цитогенетический мониторинг среды в зоне потенциальной опасности радиационного загрязнения // Генетика. 1994. Т.30. Приложение (Матер. 1-го съезда ВОГиС). С.19.
5. Горвая А.И., Дигурко В.М., Скворцова Т.В. Цитогенетическая оценка мутагенного фона в промышленном Приднпровье // Цитология и генетика. 1995. Т.29, №5. С. 16-22.
6. Гуськов Е.П., Вардуни Т.В., Шкурят Т.П. и др. Свободно-радикальные процессы и уровень aberrаций хромосом в листьях древесных растений как тест-системы на генотоксичность городской среды // Экология. 2000. №4. С. 270-275.
7. Животовский Л.А. Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991. 271 с.
8. Махнева С.Г. Состояние мужской генеративной системы сосны обыкновенной при техногенном загрязнении среды: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Екатеринбург, 2005. 24 с.
9. Муратова Е.Н., Зубарева О.Н. Цитогенетическое изучение сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в районе выбросов тепловой электростанции // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1990. №3. С.36-41.
10. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. М.: Колос, 1980. 304с.
11. Правдин Л.Ф., Бударагин В.А., Круклис М.В., Шершукова О.П. Методика кариологического изучения хвойных пород // Лесоведение. 1972. №2. С.67-75.
12. Романова Л.И., Третьякова И.Н. Особенности микроспорогенеза у лиственницы сибирской, растущей в условиях техногенного стресса // Онтогенез. 2005. Т.36, №2. С.128-133.
13. Третьякова И.Н., Носкова Н.Е. Пыльца сосны обыкновенной в условиях экологического стресса // Экология. 2004. №1. С.26-33.
14. Федорков А.Л. Микроспорогенез сосны при загрязнении среды в Российской Лапландии // Лесной журнал. 1995. №1. С. 48-50.
15. Экологический мониторинг. Методы биомониторинга / Под ред. Д.Б. Гелашвили. Н.Новгород: Изд-во ННГУ. 1995. Ч.2. 272 с.

Сведения об авторе: Калашник Надежда Александровна, ведущий научный сотрудник лаборатории генетики и цитологии растений Ботанического сада-института УНЦ РАН, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
450080, г.Уфа, ул. Менделеева 195, корп.3, тел.: (347) 2281355; 2526033,
e-mail: kalash.uфа@mail.ru, cyto.uфа@mail.ru,

UDC 502.3:582.475:575.224.23

Kalashnik N.A.

Botanical Garden-Institute, Ufa Research Center Russian Academy of Sciences, e-mail: kalash.uфа@mail.ru, cyto.uфа@mail.ru

CYTOGENETIC METHODS FOR ASSESSING THE STATE OF ABIES SIBIRICA FORESTS UNDER INDUSTRIAL POLLUTION

Cytogenetic studies of *Abies sibirica* were conducted under the conditions of industrial pollution as compared to a control one. The estimation of pollen grain anomaly and the level of chromosomal aberrations at anaphase mitosis stages, anaphase I and anaphase II meiosis stages among other used methods is determined to be characterized by the greatest indication sensitivity.

Key words: industrial pollution, indication, cytotogenetic methods, *Abies sibirica*, South Ural.

Bibliography:

1. Alekseev V.A. Diagnosis of life state of trees and stands // Lesovedenie. 1989. №4. S. 51-57.
2. Bessonova V.P., Gritsay Z.V., Yusyypiva T.I. Using cytogenetic criteria to assess the mutagenicity of industrial pollutants // Tsitologiya i genetika. 1996. T. 30, №5. S.70-76.
3. Butorina A.K., Calaev V. N. Sensitivity analysis of various criteria cytogenetic monitoring // Ekologiya. 2000. №3. S.206-210.
4. Butorina A.K., Kosichenko N.E., Shchetinkin S.V. Cytogenetic monitoring of environment in the area of potential danger of radiation contamination // Genetika. 1994. T. 30. Prilozhenie (Mater. 1-go s'ezda VOGIS). S.19.
5. Gorovaya A.I., Digurko V.M., Skvortsov T.V. Cytogenetic evaluation of the mutagenic background in industrial Dnieper // Tsitologiya i genetika. 1995. T.29, №5. S. 16-22.
6. Guskov E.P., Varduni T.V., Shkurat T.P. and other. Free-radical processes and the level of chromosomal aberrations in the leaves of woody plants as test systems for genotoxicity of the urban environment // Ekologiya. 2000. №4. S. 270-275.
7. Zhivotovskiy L.A. Population biometrics. Moskva: Nauka, 1991. 271 s.
8. Makhneva S.G. Status of male generative system of Scots pine in technogenic environmental pollution: Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk. Yekaterinburg, 2005. 24 s.
9. Muratova E.N., Zubarev O.N. Cytogenetic study of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in the emission of thermal power plants // Izv. AN SSSR. Ser. biol. 1990. №3. S.36-41.
10. Pausheva Z.P. Workshop on the cytology of plants. Moskva: Kolos, 1980. 304 s.
11. Pravdin L.F., Budaragin V.A., Krukliis M.V., Shershukova O.P. The method of karyological study of softwood // Lesovedenie. 1972. №2. S.67-75.
12. Romanova L.I., Tretyakov I.N. Features of microsporogenesis in the Siberian larch growing under conditions of anthropogenic stress // Ontogenez. 2005. T.36, №2. S.128-133.
13. Tretyakov I.N., Noskov N.E. Pine pollen in the environmental stress // Ekologiya. 2004. №1. P.26-33.
14. Fedorkov A.L. Microsporogenesis pine for environmental pollution in Russian Lapland // Lesnoi zhurnal. 1995. №1. S. 48-50.
15. Environmental monitoring. Biomonitoring methods / Pod red. D.B. Gelashvili. N. Novgorod: Izd-vo NNGU. 1995. CH.2. 272 s.