



І.І. КОРШИКОВ¹, О.В. ЛАПТЄВА², Ю.О. ТКАЧОВА¹

¹ Донецький ботанічний сад НАН України
проспект Ілліча, 110, м. Донецьк, 83059, Україна
dbsgenetics@gmail.com

² Криворізький ботанічний сад НАН України
вул. Маршака, 50, м. Кривий Ріг, 50089, Україна
botgard@ukpost.ua

МІНЛИВІСТЬ КІЛЬКІСНО-РОЗМІРНИХ ХАРАКТЕРИСТИК ЯДЕРЕЦЬ ТА ЯДЕР У КЛІТИНАХ НАСІННЯ *PINUS PALLASIANA* D. DON (ЗАПОВІДНІ Й АНТРОПОГЕННО ЗМІНЕНІ ТЕРИТОРІЇ СТЕПОВОЇ ЗОНИ УКРАЇНИ)

К л ю ч о в і с л о в а: *Pinus pallasiana*, популяція, насадження, проростки насіння, ядерцева активність, ядерно-ядерцеве співвідношення

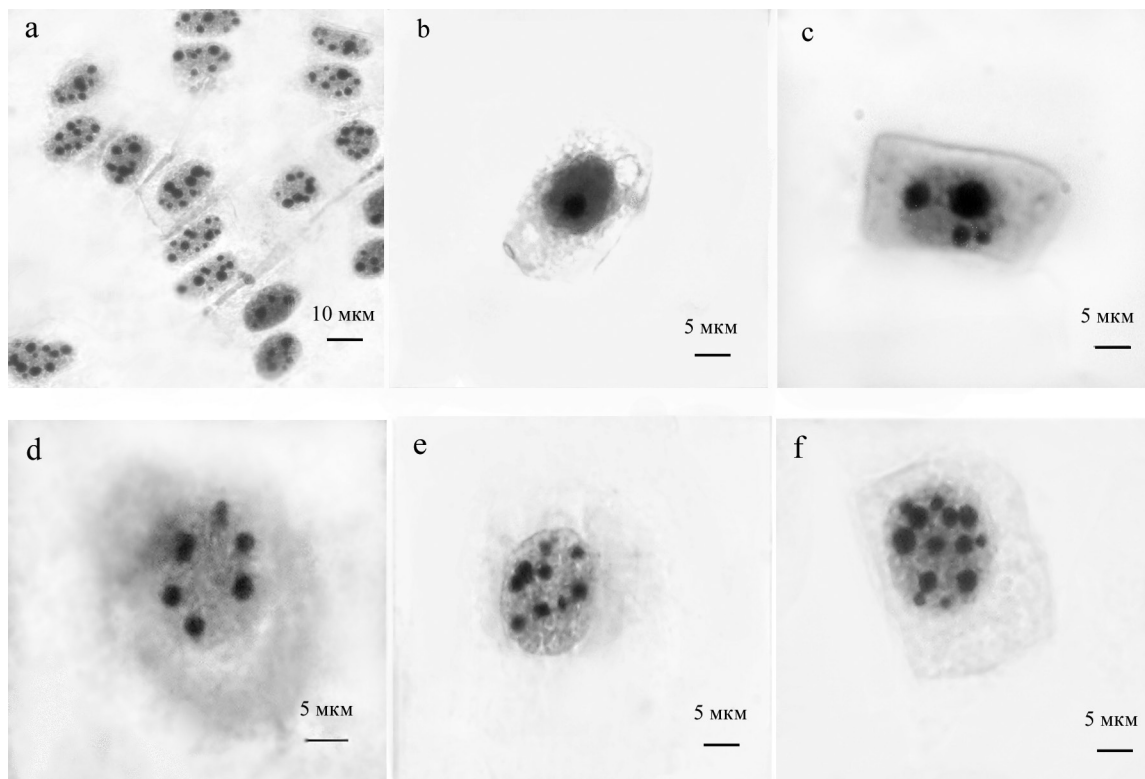
Вступ

Ділянку хромосоми, яку займають рибосомні гени, прийнято називати ядерцеутворювальними районами або ядерцевими організаторами (ЯО). У каріотипі лише окремі хромосоми мають ЯО, і саме вони відповідають за кількість ядерців в інтерфазних клітинах. Однак у більшості типів клітин ядерцеві може бути менше від ЯО, оскільки вони мають тенденцію до злиття в ядрі (Severine et al., 2010). Загалом ядерце є морфологічним вираженням активності ЯО (Дуброва, Малахова, 1980). Ядерце — найбільший (1–5 мкм) структурний еволюційно-консервативний домен, який називають «фабрикою рибосом» (Olson et al., 2002; Andersen et al., 2005; Жарская, Зацепина, 2007), водночас це один із найпластичніших компонентів ядра. Стрес призводить до реорганізації ядерцевої архітектури в клітинах (Maue, Grummt, 2005; Severine et al., 2010). У відповідь на різні зовнішні

впливи морфологія та функціональна активність ядерця змінюється, насамперед та, яка пов'язана із синтезом білків (Rubbi, Milner, 2003; Cheutin et al., 2004). Специфічні білки ядерця беруть участь у регуляції клітинного циклу, старіння й апоптозу (Heinet et al., 2012). У вищих еукаріот ядерце наявне зазвичай в інтерфазних клітинах і тимчасово розбирається в ході мітозу (Olson et al., 2002). У різних типах клітин одного організму ядерця можуть морфологічно відрізнятися, а найбільш значущих структурних і функціональних перебудов вони зазнають під час поділу клітин у ході мітозу (Жарская, Зацепина, 2007).

Ступінь функціонування ЯО і його гетерогенність у рослин природних популяцій використовують для оцінки їхнього еколого-генетичного потенціалу, а також для з'ясування впливу фізико-хімічних чинників забрудненого середовища. Так, популяції рослин *Vicia cracca* L., що зростали в районі дії електромагнітного поля ЛЕП-500, мали відмінності від рослин за межами його

© І.І. КОРШИКОВ, О.В. ЛАПТЄВА, Ю.О. ТКАЧОВА, 2013



Інтерфазні клітини з ядерцями в кореневій меристемі насіння *Pinus pallasiana* D. Don: *a* — природна популяція; *b* — м. Донецьк; *c* — дендрарій Криворізького ботанічного саду; *d* — м. Кривий Ріг; *e* — залізорудний відвал у м. Кривому Розі; *f* — дендропарк «Асканія-Нова»

The interphase cells with nucleoli in the root meristem of the *Pinus pallasiana* D. Don seeds: *a* — natural population; *b* — Donetsk; *c* — arboretum of the Botanical Garden in Krivoy Rog; *d* — Krivoy Rog; *e* — iron ore heap in Krivoy Rog; *f* — arboretum «Askaniya-Nova»

впливу в розмірах ядерців і за частотами розподілу рослин із різною їх кількістю в клітинах (Бондарь и др., 1987). Показана зміна активності ЯО та ядерно-ядерцевого співвідношення в насінні деревних рослин залежно від ґрунтово-кліматичних умов їх зростання, що розглядають як результат адаптивної мінливості (Седельникова, Муратова, 1999). Ядерно-ядерцеве співвідношення вважається добрим показником активності білосинтезувальної системи клітин (Шахбазов, Шестипалова, 1971; Дуброва, 1986; Чугункова, 2006). У системі досліджень ядерцевого поліморфізму і впливу екологічних чинників на ЯО цікаві хвойні, в яких кількість ядерців в інтерфазному ядрі значно більша, ніж у клітинах листяних видів (Буторина и др., 2008).

Хвойні, зокрема *Pinus pallasiana* D. Don, розповсюджені в насадженнях великих промислових регіонів степової зони України. Тут *P. pallasiana* доволі стійка і може активно відновлюватися в екстремальних умовах, наприклад, на залізорудних відвалах Криворіжжя (Коршиков и др., 2005). У

промислових регіонах на цей та інші види, крім несприятливих природно-кліматичних умов, нерідко впливає техногенно забруднене середовище.

Мета нашої роботи — визначення особливостей ядерної та ядерцевої кількісно-розмірної мінливості в насінні *P. pallasiana* на заповідних, забруднених і техногенно порушених територіях степової зони України.

Об'єкти та методика досліджень

Для з'ясування особливостей розмірної та кількісної мінливості ядерців і ядер у клітинах насіння *P. pallasiana*, яку зумовлює вплив природно-кліматичних чинників степової зони України, досліджували 70-річне насадження у біосферному заповіднику «Асканія-Нова». Зміни, спричинені кумулятивною дією умов району інтродукції і техногенним забрудненням, аналізували в насінневому потомстві насадження з м. Донецька, розташованого вздовж дороги з інтенсивним рухом автотранспорту; з дендрарію

Таблиця 1. Варіабельність за кількістю та площею ядерць у корінців проростків насіння *Pinus pallasiana* D. Don

Клітина, №	Кількість ядерць, шт.	Варіабельність площі ядерця, мкм ²	Загальна площа ядерць, мкм ²
1	7	0,90—1,90	9,23
2	7	2,04—2,70	17,14
3	6	2,86—4,20	20,78
4	6	3,48—7,52	30,01
5	5	3,87—5,13	23,41
6	5	6,60—9,61	40,16

Криворізького ботанічного саду (КБС), який зазнає впливу викидів Північного гірничо-збагачувального комбінату (ПГЗК); з м. Кривого Рогу (біля металургійного комбінату); з Первомайського залізорудного відвалу ГЗК. Насіння зібрано з 20—30 дерев без очевидних ознак пошкодження та всихання, віком від 25 до 40 років. Природну популяцію *P. pallasiana* з Гірського Криму (40 дерев у районі смт Нікіта) використовували як контроль, оскільки рослини тут, порівняно з районами інтродукції, зростають у сприятливих умовах, а цитогенетичні зміни в насінні можуть мати стохастичний характер.

Насіння з кожного деревостану змішували, а потім випадкову вибірку пророщували в чашках Петрі на вологому фільтрувальному папері в термостаті за температури 23—25° С. У дослідженні використовували корінці завдовжки 1,0—1,5 см, які фіксували оцтовим алкоголем (1:3). Для забарвлення ядерць застосовували загальноприйняту методику (Муратова, 1995). Слід зазначити, що селективне забарвлення азотнокислим сріблом — зручний та адекватний метод для оцінювання активності ядерцеутворювальних регіонів хромосом в інтерфазі (Ward, 1977; Hozak et al., 1992; Tereg, 1994). Корінці залишали у 50 % розчині азотнокислого срібла на 3 год за температури 60° С. Після забарвлення корінці промивали та готували вичавлені препарати за стандартною методикою

(Паушева, 1988). Мікропрепарати переглядали під мікроскопом *Carl Zeiss Primo star* за збільшення 40 × 10, фотографували цифровою фотокамерою *Canon PowerShot A620*. Розміри ядер та ядерць визначали за допомогою програмного забезпечення *Axio Vision Rel. 4.7*. Вимірювали умовну площу ядра та ядерця за їхніми проекціями. Кількість ядерць підраховували на 1000 клітин із кожної вибірки. Функціональний стан ЯО оцінювали за величиною ядерно-ядерцевого співвідношення в клітинах меристеми корінців проростків. Показник ядерно-ядерцевого співвідношення встановлювали як частку від ділення значень сумарної площі ядер на сумарну площу ядерць.

Результати досліджень та їх обговорення

Незалежно від походження насіння *P. pallasiana*, клітини корінців проростків здебільшого багатоядерцеві (рисунок, *a*). При цьому в одному й тому самому корінці є клітини з гомоморфними (рисунок, *d*) і гетероморфними ядерцями (рисунок, *c*, *e*, *f*). Така розмірна мінливість ядерць спостерігається в клітинах насіння рослин з усіх досліджуваних місць зростання. В одному препараті з корінця проростка насіння *P. pallasiana* також зафіксована значна клітинна варіабельність за розмірами ядерць (рисунок, *a*).

У корінцях проростків трапляються клітини (№ 1) з маленькими за площею ядерцями (табл. 1) і відповідно — загальною площею в ядрі та клітині тільки з великими ядрами (№ 6), в яких сумарна площа вчетверо більша. Крім того, є багато клітин, які відрізняються високою внутрішньоклітинною мінливістю ядерць за розміром. У таких клітинах одночасно наявні великі, середні та дрібні ядерця.

При цьому окремі ядра за розмірами в одній клітині відрізняються більш як удесятеро (табл. 2). Клітини можуть мати менше ядерць, але їхня сукупна площа може бути значно більшою, ніж у клітин з більшою кількістю ядерць.

Таблиця 2. Варіабельність розмірів ядерць у клітинах корінців проростків насіння *Pinus pallasiana* D. Don

Клітина, №	Усього ядерць в ядрі, шт.	Великі та середні ядерця в клітині		Дрібні ядерця в клітині		Загальна площа ядерць у клітині, мкм ²
		кількість, шт.	варіабельність площі, мкм ²	кількість, шт.	варіабельність площі, мкм ²	
1	7	2	6,42; 6,46	5	1,43—3,94	26,27
2	8	2	4,60; 5,55	6	0,44—1,32	16,05
3	5	1	11,93	4	0,89—2,82	18,96
4	8	3	4,77—8,51	5	1,12—3,19	31,97
5	6	3	7,20—13,13	3	1,02—3,79	35,17
6	6	3	5,32—15,37	3	3,31—3,54	40,69

Мінливість ядерць за розмірами давно встановлена для клітин різного типу одного організму. Однак причини, які призводять до такої варіабельності, не з'ясовані (Челидзе, Зацепина, 1988; Жарская, Зацепина, 2007). Ядерця в клітинах відрізняються не тільки за розмірами, а й за інтенсивністю забарвлення AgNO_3 . Відомо, що ядерця відзначаються різною аргентофілією, яка зумовлена кількістю білків, збагачених сульфгідрильними та дисульфідними зв'язками (Cheutin et al., 2004). Можливо, це пов'язано з різною кількістю фібрилярного та гранулярного компонентів, а також внутрішньоядерцевого хроматину. Однак дані про таку будову ядерць можна отримати лише за допомогою методів електронної мікроскопії (Cheutin et al., 2004). Наявність великих ядерць у клітинах можна пояснити тим, що вони мають виражену тенденцію до злиття в ядрі (Жарская, Зацепина, 2007). Очевидно, мінливість розмірів ядерць в одній клітині насіння зумовлена впливом несприятливих чинників навколишнього середовища на материнські рослини. Для з'ясування цих закономірностей потрібен порівняльний аналіз частоти трапляння та співвідношення клітин із гомо- і гетероморфними ядерцями в рослин із різних умов зростання, що виходить за межі завдань даної роботи, однак ця значна за обсягом робота не входила в наше завдання. Морфологія та розміри ядерць пов'язані з їхніми функціями, що, в свою чергу, залежить від росту клітин та обмінних процесів (Severine et al., 2010).

У насіння рослин двох з п'яти інтродукційних насаджень *P. pallasiana* середня кількість ядерць на ядро була на рівні цього показника в природній популяції або суттєво відрізнялася (табл. 3). 92,1 % інтерфазних клітин проростків з насіння природної популяції містили 3—7 ядерць, а частка клітин, які мали 8—11 ядерць, становила 5,3 %. Майже такий самий розподіл клітин із різною кількістю ядерць характерний для насаджень дендрарію КБС і залізородного відвалу. У насінні з біосферного заповідника «Асканія-Нова» найбільша частка клітин (86,4 %) припадала на ті, що мали 4—9 ядерць, а в насадженні з м. Донецька — це насіння з 4—8 ядерцями в клітинах (89 %).

Зміна кількості ядерць — чутливий показник стресового впливу на рослини чинників навколишнього середовища (Буторина и др., 2008). Однак це не завжди підтверджується, що показано на прикладі *Quercus robur* L., в якого наявні лише 1—2 ядерця в клітинах (Буторина и др., 2000). Стосовно твердження, що живі організми на стресовий вплив чинників довкілля відповідають збільшенням кількості ядерць у клітинах (Архипчук, 1995), то це не завжди має місце у потомства *P. pallasiana*. Можливо, це пов'язано з високою природною варіабельністю кількості ядерць, яка, наприклад, відзначена в клітинах корінців проростків з насіння столітніх дерев *Pinus sylvestris* L. із природних популяцій центру ареалу виду (Буторина и др., 2008). У відів роду *Actaea* L. кількість ядерць в яд-

Таблиця 3. Частота ядер із різною кількістю ядерць в інтерфазних клітинах проростків *Pinus pallasiana* D. Дон з природної популяції Криму та різних насаджень степової зони України

Місцезростання рослин	Частота ядер із різною кількістю ядерць, %														Середня кількість ядерць на ядро M±m
	кількість ядерць у ядрі, шт.														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
р-н смт Нікіта (Крим)	0,3	2,3	10,7	18,9	23,6	28,1	10,8	3,3	1,6	0,3	0,1	0	0	0	5,20±0,05
Дендропарк «Асканія-Нова»	0,1	1,3	5,8	10,2	18,1	20,2	16,5	13,6	7,8	4,0	1,1	0,7	0,5	0,1	6,40±0,06***
м. Донецьк	0,3	1,7	4,5	13,9	22,1	26	18,2	8,8	2,9	1,3	0,2	0	0	0	5,80±0,05***
Дендрарій Криворізького ботанічного саду	0	3,6	12,1	23,1	23,6	22,4	10,2	4,0	1,0	0	0	0	0	0	5,01±0,05**
м. Кривий Ріг	0	3,4	7,8	15,8	23,2	24,1	14,5	6,6	3,1	1,0	0,5	0	0	0	5,52±0,53
Залізородний відвал у м. Кривому Розі	0	3,2	8,9	20,7	25,2	24,5	10,9	3,9	1,5	1,2	0	0	0	0	5,22±0,05

П р и м і т к а: різниця з контролем достовірна за * — $P \leq 0,95$, ** — $P \leq 0,99$, *** — $P \leq 0,999$.

рах меристематичних клітин відповідала кількості вторинних перетяжок їхніх хромосом (Дуброва, Малахова, 1986). У насінні інтродукційних насаджень *P. pallasiana* в степовій зоні більше число клітин (понад вісім ядерць) може пояснюватися активацією в останніх латентних ядерцеутворювальних районів хромосом або підвищенням їх функціонального рівня. Стресові фактори можуть стимулювати функції ядерцевих організаторів, зокрема за рахунок додаткових, раніше не активних (Smetana, Busch, 1974; Жарская, Зацепина, 2007). Це встановлено і для *P. sylvestris* (Буторина і др., 2008). Загальна кількість ядерць в ядрі збільшується під час поліплоїдії або анеуплоїдії (Кикнадзе, 1972; Челидзе, 1985). Зростання частоти трапляння клітин у корінцях проростків *P. pallasiana* з великою кількістю ядерць (8 і більше) в насіння інтродукційних насаджень можна пояснити реакцією окремих, найчутливіших до стресу, дерев. Такі зміни розглядають як компенсаційні, які можуть бути пов'язані з сегregaцією та фрагментацією ядерць (Severine et al., 2010). Не виключено, що дерева в межах однієї популяції або насаджень, завдяки генетичній мінливості, відрізняються одне від одного в несприятливих умовах зростання за рівнем активації специфічних реакцій на стрес. Відомо, що ядерця належать до центрального чутливого вузла, який реагує на зміни метаболізму клітини і координує її відповіді на стрес (Severine et al., 2010). До чутливих дерев у *P. pallasiana* можна віднести ті, що мають підвищену кількість ядерць та високу варіабельність їхніх розмірів у клітинах насіння. Збільшення кількості

ядерць у клітинах насіння *P. pallasiana* в районах із високою напругою природно-кліматичних чинників та забрудненим середовищем можна розглядати як реалізацію фундаментального фактора надійності живих організмів, пов'язану з модифікацією ядерцеорганізуючих регіонів хромосом.

У всіх інтродукційних насаджень *P. pallasiana* відзначено суттєве зменшення розмірів ядра в клітинах насіння порівняно з насінням природної популяції Криму (табл. 4). Це може свідчити про зміни в структурі ядерць. Як відомо, ядерця мають гранулярний, фібрилярний та щільний фібрилярний компонент, хроматин і білковий сітчастий матрикс (Cheutin et al., 2004).

Дерева, що зростають у м. Донецьку, мали достовірно меншу площу ядерць у насінні порівняно з іншими насадженнями. Зменшення площі ядра і ядерць може бути індикатором слабкої анаболічної активності в клітинах такого насіння. У двох варіантах — дендрарій КБС і насадження на залізородному відвалі — середня площа ядерць у клітинах насіння значно більша, ніж у насіння контрольного варіанта. Такі зміни можна розглядати як адаптивну відповідь на умови зростання рослин цих насаджень, що перебувають у доброму стані. До того ж насіння цих двох насаджень мало найбільші ядра порівняно з іншими інтродукційними деревостанами. У цілому наші дослідження показують, що несприятливі умови зростання *P. pallasiana* у степовій зоні спричинюють формування насінневого потомства, зазвичай — зі зменшеним розміром площі ядра в

Таблиця 4. Середня площа ядра і ядерць та ядерно-ядерцеве співвідношення в клітинах проростків *Pinus pallasiana* D. Don із природної популяції Криму та інтродукційних насаджень степової зони

Місцезростання	Середня площа ядра, мкм ²		Середня площа ядерць в ядрі, мкм ²		Ядерно-ядерцеве співвідношення	
	M±m	CV,%	M±m	CV,%	M±m	CV,%
p-н смт Нікіта (Крим)	192,6±10,2	37,5	28,6±1,4	33,7	7,2±0,4	42,1
Дендропарк «Асканія-Нова»	125,3±4,7***	33,2	28,8±1,7	60,0	7,9±0,7	36,8
м. Донецьк	142,2±7,6***	37,7	18,9±0,8***	35,7	7,7±0,3	53,6
Дендрарій Криворізького ботанічного саду	166,6±3,39*	20,4	37,1±0,73***	19,67	4,6±0,08***	18,4
м. Кривий Ріг	129,5±2,36***	18,2	26,5±0,71	26,7	5,1±0,10***	19,6
Залізородний відвал у м. Кривому Розі	159,4±3,4**	21,3	33,9±0,84***	27,63	4,8±0,11***	21,64

П р и м і т к а: різниця з контролем достовірна за* — P ≤ 0,95, ** — P ≤ 0,99, *** — P ≤ 0,999.

клітинах. Вважається, що площа ядер відповідає їхньому об'єму (Сушков, Селетова, 1982).

Стосовно ядерець у насіння *P. pallasiana* встановлено як збільшення, так і зменшення їхньої площі, а також збереження на рівні природної популяції. Така мінливість розмірів ядра і ядерець призводить до того, що співвідношення їхніх площ у клітинах проростків двох насаджень (м. Донецьк, «Асканія-Нова») мало відрізняються від популяційного, а з трьох деревостанів Криворіжжя воно значно менше. У більшості варіантів дослідження середня площа ядра і ядерно-ядерцеве співвідношення відзначалися високим рівнем варіювання, що підтверджується підвищеними значеннями коефіцієнта варіації (CV). Раніше було показано, що ядерно-ядерцеве співвідношення в меристематичних тканинах проростків насіння *P. sylvestris* із районів високого техногенного забруднення на Уралі варіювало в межах 7,59—7,96, а з незабруднених, в тому числі заповідних, — 10,24—11,46 (Хайдарова, Калашник, 1999). Однак так буває не завжди. Після лазерного опромінення, а також лабораторного вирощування насіння *Allium fistulosum* L. на середовищі з мутагеном розміри ядерець у меристематичних тканинах суттєво зменшувалися. Причому клітини з одним ядерцем точніше відображають зміни в ядерцевій активності, ніж клітини з двома ядерцями (відповідно зменшення площі на 26,0—30,0 % і 4,1—4,2 %) (Архипчук, 1995).

Клітини меристематичних тканин корінців проростків насіння *P. pallasiana* з різних екоотопів відзначаються за середньою площею одного ядерця (табл. 5). При цьому в насіння з кожного екоотопу розподіл серед 100 проаналізованих клітин за цим показником має свою специфіку.

Так, у проростків насіння природної популяції середня площа одного ядерця варіювала від 3 до 13 мкм², тоді як у насіння з насадження м. Донецька 96 % клітин мали ядерця з площею 2—5 мкм². Найбільший розмах цього показника спостерігався в насіння трьох насаджень Криворіжжя, де діапазон змін становив 1—21 мкм². Характерно, що в 11 (м. Кривий Ріг) і 29 клітин (дендрарій КБС) насіння середня площа одного ядерця перевищувала 10 мкм². Таких клітин у насіння природної популяції було 17, а в інших насадженнях — усього 1—4. За даними цитохімічних та біохімічних досліджень, головним компонентом ядерець є білок, на який припадає 70—80 % від сухої маси ядерець (Cheutin et al., 2004). Можливо, кількісно-якісні зміни в білковому комплексі або сітчастому матриксі, а також у співвідношенні гранулярно-фібрилярних компонент, зокрема в нуклосомах, є вирішальним чинником, який впливає на розміри ядерець у клітинах *P. pallasiana*.

У хвойних в умовах екологічного стресу збільшується об'єм ядерцевого матеріалу в клітинах, що може бути результатом підвищення активності генів рибосомальної РНК у зв'язку з

Таблиця 5. Частка клітин з різною середньою площею ядерця в меристематичних тканинах корінців проростків насіння *Pinus pallasiana* D. Дон з природної популяції Криму та інтродукційних насаджень степової зони

Інтервали середньої площі ядерця в ядрі, мкм ²	Популяція в р-ні смт Нікіта (Крим)	Дендропарк «Асканія-Нова»	м. Донецьк	Дендрарій Криворізького ботанічного саду	м. Кривий Ріг	Залізородний відвал у м. Кривому Розі
1,01—2,0	0	3	40	0	2	0
2,01—3,0	0	14	32	0	2	4
3,01—4,0	8	23	14	1	14	5
4,01—5,0	12	15	10	5	20	14
5,01—6,0	28	16	0	10	18	12
6,01—7,0	12	9	0	13	17	15
7,01—8,0	6	13	0	13	7	7
8,01—9,0	10	4	0	13	6	8
9,01—10,0	7	2	0	16	3	13
10,01—11,0	6	1	0	11	3	8
11,01—12,0	5	0	4	4	1	4
12,01—13,0	6	0	0	4	4	5
13,01—15,0	0	0	0	5	1	3
15,01—17,0	0	0	0	1	1	2
17,01—21,0	0	0	0	4	1	0

інтенсифікацією білоксинтезувальних процесів (Хайдарова, Калашник, 1999). Адже головна функція ядерець — швидке складання малих та великих субодиноць рибосом (Lempiainen, Shore, 2009). Різні типи клітинних стресів можуть супроводжуватися значними змінами в організації та складі ядерець. Це, зокрема, інфекції, УФ-опромінення, хімічні токсичні речовини, що спричиняють сегрегацію ядерець, яка характеризується конденсацією і подальшим розділенням фібрилярного і гранулярного компонентів (Gresco, 2009; Severine et al., 2010). Протеома та структура ядерець постійно змінюються у відповідь на метаболічні зміни в клітинах (Hiscox, 2007). Встановлені морфометричні зміни в ядрі та ядерецях клітин насіння інтродукційних насаджень *P. pallasiana* можуть зумовлюватися не тільки впливом зовнішнього середовища, а й особливостями запилення рослин. У невеликих інтродукційних насадженнях може зростати частка насіння, яке утворюється внаслідок самозапилення рослин, що значно збільшує гомозиготацію насіння (Коршиков, 2010). Підвищений рівень гомозиготності генотипу за інбридінгу призводить і до певних цитогенетичних змін (Чугункова, 2006).

Кількісні характеристики ядерець (число і розміри) розглядаються як досить чутливий метод визначення впливу на клітину антропогенних чинників довкілля. Такий спосіб оцінки функціональної активності генетичного апарату є універсальним і може використовуватися для різних організмів (Архипчук, 1995). Очевидно, що для аналізу цитогенетичних змін у насіння *P. pallasiana*, як і інших деревних видів, які зростають у несприятливих умовах інтродукційного ареалу або зазнають впливу викидів промислових підприємств, треба оперувати не тільки статистичними показниками ядра і ядерець, а й описувати морфоструктурні зміни, котрі відбуваються в них. Однак метод із використанням AgNO_3 для цього не годиться.

Таким чином, у клітинах насіння *P. pallasiana* з природної популяції Криму й інтродукційних насаджень на техногенно забруднених, порушених, урбанізованих і заповідних територіях степової зони відзначена висока мінливість кількості ядерець, їхніх розмірів та загальної площі. В одному корінці насіння є клітини з гомо- і гетероморфними ядерецями, а також клітини, ядереця яких суттєво відрізняються за розмірами. Для клітин із проростків насіння всіх інтродукційних насаджень

характерне ядро значно менших розмірів, аніж для насіння популяції. Середня площа ядерець на одне ядро в клітинах насіння інтродуцентів змінюється неоднозначно: зменшується, збільшується або залишається на рівні контролю. Тільки в насіння рослин трьох насаджень Криворіжжя ядерно-ядерецьове співвідношення суттєво менше, ніж у насіння природної популяції. Потомство природного і штучних деревостанів *P. pallasiana* зазвичай відрізняється за частотою ядер із різною кількістю ядерець і середньою площею останнього.

Результати наших досліджень засвідчили, що як несприятливі природно-кліматичні чинники степової зони, так і техногенне забруднення повітря та ґрунту впливають на цитогенетичні показники ядра і ядерець в клітинах насіння *P. pallasiana*. Такі дослідження мають перспективу щодо з'ясування участі цитогенетичних змін у пристосуванні потомства інтродуцентів до умов зростання і, безперечно, сприятимуть глибинному розумінню біології ядерець у клітинах рослин.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Архипчук В.В. Использование ядрышковых характеристик в биотестировании // Цитология и генетика. — 1995. — № 3. — С. 6—12.
- Бондарь Л.М., Частоколенко Л.В., Баранова В.А. Популяционный анализ активности ядрышкового организатора у растений *Vicia cracca* L. // Генетика. — 1987. — 23, № 2. — С. 317—324.
- Буторина А.К., Калаев В.Н., Вострикова Т.В. и др. Цитогенетическая характеристика семенного потомства некоторых видов древесных растений в условиях антропогенного загрязнения г. Воронежа // Цитология. — 2000. — 42, № 2. — С. 196—200.
- Буторина А.К., Ермолаева О.В., Черкашина О.Н. Перспективы использования цитогенетического анализа в лесоводстве на примере оценки состояния островных боров Воронежской области // Успехи совр. биологии. — 2008. — 128, № 4. — С. 400—408.
- Дуброва Н.А. Изучение дифференциальной активности ядрышковых организаторов хромосом у дикорастущих растений сем. *Ranunculaceae* // Цитология и генетика. — 1986. — № 4. — С. 302—303.
- Дуброва Н.А., Малахова Л.А. Изучение полиморфизма ядрышкообразующих хромосом у видов рода *Actaea* L. (*Ranunculaceae* Juss.) // Цитология и генетика. — 1980. — № 5. — С. 3—8.
- Жарская О.О., Зацепина О.В. Динамика и механизмы реорганизации ядрышка в митозе // Цитология. — 2007. — 49, № 5. — С. 355—369.
- Кикнадзе И.И. Функциональная организация хромосом. — Л.: Наука, 1972. — 211 с.
- Коршиков И.И., Красноштан О.В., Терлыга Н.С. и др. Естественное возобновление сосны крымской (*Pinus pallasiana* D. Don) на железорудном отвале Криворожья // Интродукция растений. — 2005. — № 4. — С. 46—51.

- Коршиков И.И. Популяционная генетика и репродуктивная биология сосны крымской. — Донецк, 2010. — 244 с.
- Муратова Е.Н. Методики окрашивания ядрышек для кариологического анализа хвойных // Ботан. журн. — 1995. — **80**, № 2. — С. 82—86.
- Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. — М.: Агропромиздат, 1988. — 271 с.
- Седельникова Т.С., Муратова Е.Н. Генеративные органы и кариотип сосны обыкновенной на олиготрофных болотах Западной Сибири // Лесоведение. — 1999. — Вып. 3. — С. 34—44.
- Сушков Ф.В., Сенетова Н.Г. К методике определения площадей ядер клеток однослойных культур тканей // Цитология. — 1982. — **24**, № 3. — С. 357—361.
- Челидзе В.П., Зацепина О.В. Морфофункциональная классификация ядрышек // Успехи совр. биологии. — 1988. — **105**, № 2. — С. 252—268.
- Челидзе П.В. Ультраструктура и функции ядрышка в интерфазной клетке. — Тбилиси: Мецниереба, 1985. — 118 с.
- Чугункова Т.В. Цитогенетические особенности свеклы при инбридинге и гетерозисе // Физиол. и биохим. культ. растений. — 2006. — **38**, № 2. — С. 153—159.
- Хайдарова Т.Г., Калашник Н.А. Ядрышковые организаторы хромосом как адаптивные элементы хвойных видов // Цитология. — 1999. — **41**, № 12. — С. 1086.
- Шахбазов В.Г., Шестопалова Н.Г. Некоторые особенности ядрышка и ядра в клетках гибридного лука // Докл. АН СССР. — 1971. — **196**, № 5. — С. 1207—1208.
- Andersen J.S., Lam Y.W., Leung A.K., Ong S.E. et al. Nucleolar proteome dynamics // Nature. — 2005. — **433**. — P. 77—83.
- Cheutin T., Misteli T., Dundr M. Dynamics of nucleolar components / The nucleolus. — New York: Kluwer Acad. Plenum Publishers, 2004. — P. 29—40.
- Greco A. Involvement of the nucleolus in replication of human viruses // Rev. Med. Virol. — 2009. — **19**. — P. 201—214.
- Hein N., Sanij E., Quin J. et al. The nucleolus and ribosomal genes in aging and senescence / Invited book chapter — Senescence Intech Open access Publisher, 2012. — P. 171—208.
- Hiscox J.A. RNA viruses: hijacking the dynamic nucleolus // Nat. Rev. Microbiol. — 2007. — **5**. — P. 119—127.
- Hozak P., Rousset P., Hernandez-Verdun D. Procedures for specific detection of silver-stained nucleolar proteins on western blots // J. Histochem. Cytochem. — 1992. — **40**(8). — P. 1089—1096.
- Lempiainen H., Shore D. Growth control and ribosome biogenesis // Curr. Opin. Cell Biol. — 2009. — **21**. — P. 855—863.
- Mayer Ch., Grummt I. Cellular stress and nucleolar function // Cell Cycle. — 2005. — **4**(8). — P. 1036—1038.
- Olson M.O., Hingorani K., Szébeni A. Conventional and nonconventional roles of the nucleolus // Int. Rev. Cytol. — 2002. — **219**. — P. 199—266.
- Rubbi C.P., Milner J. Disruption of the nucleolus mediates stabilization of p53 in response to DNA damage and other stresses // EMBO J. — 2003. — **22**. — P. 6068—6077.
- Severine B., Westman B.J., Saska H. et al. The Nucleolus under stress // Molecular Cell. — 2010. — **40**. — P. 216—227.
- Smetana K., Busch H. The nucleolus and nucleolar DNA / The cell nucleus. — New York: Acad. Press, 1974. — P. 73—147.
- Trere D. Technical and methodological aspects of silver staining and measurement of nucleolar organizer region (NOR) // Zentralbl. Pathol. — 1994. — **140**. — P. 11—14.
- Ward O.G. Dimorphic nucleolar organizer regions in the frog *Rana blairi* // Can. J. Genet. Cytol. — 1977. — **19**(1). — P. 51—57.

Рекомендує до друку Надійшла 28.03.2013 р.
Є.Л. Кордюм

И.И. Коршиков¹, Е.В. Лантева², Ю.А. Ткачева¹

¹Донецкий ботанический сад НАН Украины

²Криворожский ботанический сад НАН Украины

ИЗМЕНЧИВОСТЬ КОЛИЧЕСТВЕННО-РАЗМЕРНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ЯДРЫШЕК И ЯДЕР В КЛЕТКАХ СЕМЯН *PINUS PALLASIANA* D. DON (ЗАПОВЕДНЫЕ И АНТРОПОГЕННО ИЗМЕНЕННЫЕ ТЕРРИТОРИИ СТЕПНОЙ ЗОНЫ УКРАИНЫ)

Изнучена количественная и размерная изменчивость ядрышек в интерфазных клетках корешков проростков *Pinus pallasiana* D. Don, выращенных из семян, собранных в природной популяции Крыма и в насаждениях заповедных, техногенно загрязненных, нарушенных и урбанизированных территорий степной зоны Украины. Установлено, что в клетках проростков из семян интродукционных насаждений площадь ядра была существенно меньше, чем в природном контроле. Отмечена вариабельность количества ядрышек в ядре, их общей площади и отдельных ядрышек. Прослеживается тенденция к уменьшению ядерно-ядрышкового соотношения в клетках семян из насаждений техногенно загрязненных территорий.

Ключевые слова: *Pinus pallasiana*, популяция, насаждения, проростки семян, ядрышковая активность, ядерно-ядрышковое соотношение.

I.I. Korshikov¹, Ye.V. Lapteva², Yu.A. Tkachova¹

¹Donetsk Botanical Garden, National Academy of Sciences of Ukraine

²Krivoy Rog Botanical Garden, National Academy of Sciences of Ukraine

VARIATION IN QUANTITATIVE-DIMENSIONAL CHARACTERISTICS OF NUCLEOLI AND NUCLEI IN SEED CELLS OF *PINUS PALLASIANA* D. DON (PROTECTED AND HUMAN-DISTURBED AREAS IN THE STEPPE ZONE OF UKRAINE)

A quantitative and dimensional variation in nucleoli of the seedling root interphase cells of *Pinus pallasiana* D. Don has been studied. The seedlings were grown from seeds collected in the Crimean natural population and in the plantations on protected, technogenically contaminated, disturbed and urban areas in the steppe zone of Ukraine. The nuclear area in seedling cells of seeds from the plantations is found to be significantly smaller than in the cells of seeds from the control natural populations. Variability of the nucleoli number within the nucleus, of their total area and individual nucleoli areas was noted. There is a tendency towards the lower nucleus-nucleolus ratio in the seed cells from the technogenous areas.

Key words: *Pinus pallasiana*, population, plantation, seedlings, nucleolar activity, nucleus-nucleolus ratio.