

УДК: 576.315.45

## ЯДЕРЦЕВА АКТИВНІСТЬ У МЕРИСТЕМІ ПРОРОСТКІВ ПЛЮСОВИХ ДЕРЕВ СОСНИ ЗВИЧАЙНОЇ

В. П. ВОЙТЮК, В. В. АНДРЕЄВА

Волинський національний університет імені Лесі Українки

Україна, 43025, м. Луцьк, вул. Потапова, 9

e-mail: vpvvm@mail.ru, Andreeva25@list.ru

*Проведено цитогенетичне вивчення кореневої меристеми проростків клонів плюсових дерев сосни звичайної з метою встановлення відмінностей між окремими клонами та впливу старіння на ядерцеву активність проростків. Виявлено значну мінливість кількості ядерців в ядрі в межах корінця. Встановлено, що окремі клони істотно відрізняються між собою за середньою кількістю ядерців в клітині, середнім об'ємом ядерця та часткою клітин з високим показником відношення сумарної площі ядерців до площі клітини.*

*Ключові слова: ядерцева активність, плюсове дерево, сосна звичайна.*

**Вступ.** Поряд з класичними методами аналізу деревних порід актуальним є вивчення цитогенетичних ознак, зокрема ядерцевої активності [1]. Основною універсальною функцією ядерця є синтез рибосом, включаючи транскрипцію рРНК, дозрівання транскриптів пре-рРНК і збір рибосомних субодниць [2–4]. Крім того, ядерце і його білки беруть участь в регуляції клітинного циклу, апоптозу і старіння [3]. Аналіз морфологічних характеристик ядерців (кількість ядерців в ядрі та їхнього розміру) дає кількісну оцінку активності генів рибосомної РНК [5, 6]. Виявлено також позитивну кореляцію морфологічних змін ядерця з його активністю [7].

З літератури відомо, що підвищення функціональної активності ядерців свідчить з одного боку про гетерозис [8, 9, 10], а з іншого – про рівень загальної комбінаційної здатності [11]. За іншими даними, частка клітин з максимальною кількістю ядерців в ядрі свідчить про збільшення інтенсивності метаболічних процесів в клітинах [12] і може розглядатись як механізм адаптивної відповіді на стресову дію середовища [13–15, 16].

У сосни звичайної в клітинах присутні від 1 до 12 ядерців. У типових екологічно сприятливих умовах середовища кількість активних ядерців сосни звичайної становить 3–6 [17]. Найефективнішим для сосни з енергетичної точки зору є одночасне функціонування не більше ніж трьох пар хромосом з ядерцевими організаторами [18]. По мірі зростання географічної широти спостерігається зменшення їхньої кількості та об'ємів, як результат адаптивної мінливості [16, 19, 20]. Виявлена достовірна відмінність ядерцевої активності у представників чотирьох популяцій сосни крейдяної, а також широка норма реакції ознаки ядерцевої активності для сосни звичайної [21].

Метою даного дослідження було цитогенетичне вивчення ядерцевої активності насінневих проростків плюсових дерев сосни звичайної, що зростають в умовах західного регіону України.

© В. П. ВОЙТЮК, В. В. АНДРЕЄВА, 2009

### Матеріали і методи

У нашому дослідженні були використані насінневі проростки клонів плюсових дерев сосни звичайної Володимир-Волинської (ВВ-3 урожаїв 2003, 2006 і 2008 рр.), Львівської (Л-1 урожаїв 2003, 2008 рр., Л-5 урожаю 2008 р. та Л-4 урожаїв 2003, 2006, 2008 рр.) і Цуманської ценопопуляції (Ц-4 урожаю 2008 р. та Ц-8 урожаїв 2006 і 2008 рр.). Вибір клонів сосни звичайної обумовлений специфікою їх росту у вегетативному та насінному потомствах. Усі досліджувані клони є лідерами серед вегетативних потомств, крім Ц-8. За попередніми коротко- та середньостроковими оцінками випробних культур відзначились швидкорослістю усі потомства, окрім Ц-8 із середньою швидкістю росту на ранніх етапах онтогенезу.

Для вивчення цитогенетичних характеристик об'єктів готували давлені тимчасові мікропрепарати апікальної меристеми коренів проростків насіння.

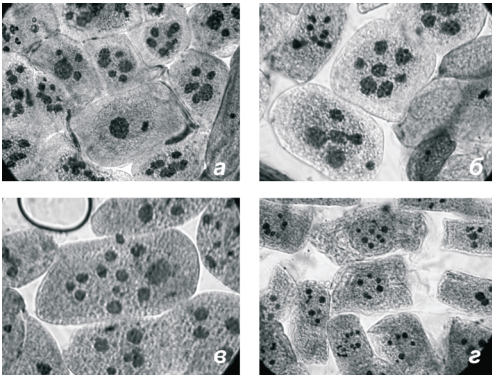
Перед забарвленням проводили гідроліз тканини корінців в 1н НСІ при +60°C і трикратно прополіскували дистильованою водою. Забарвлення проростків здійснювали азотнокислим сріблом за методикою Плотона та ін. [22]. Час забарвлення підбирали емпірично. Встановлено, що при кімнатній температурі найкраще забарвлення ядерець сосни відбувається за 50 хвилин. Всього було переглянуто понад 500 препаратів (корінців), із них 136 сфотографовано і проаналізовано по 100 клітин у кожному в 10 полях зору. Комплексну оцінку результатів дослідження виконано за допомогою методу координат [23] та кластерного аналізу.

### Результати та обговорення

Дослідженнями встановлено, що кількість активних ядерець у клонів сосни звичайної становить переважно 5–6 (табл. 1, рис. 1), при мінімальному значенні 1 і максимальному 12. Виявлено значну мінливість кількості ядерець в ядрі в межах ко-

**Таблиця 1.** Мінливість кількості ядерець у клітинах кореневої меристеми насінневих проростків клонів сосни звичайної залежно від року врожаю

Клони	Рік урожаю	Частка клітин (%) з кількістю ядерець						Середня кількість ядерець у клітині
		1-2	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	
ВВ-3	2003	6,8	22,9	44,5	20,2	5,58	1,0	5,4±0,3
	2006	2,8	22,3	50,4	21,4	2,7	0,5	5,5±0,2
	2008	2,7	20,3	44,7	22,9	6,7	2,6	5,9±0,2
Л-1	2003	6,0	30,3	39,2	18,6	3,6	2,2	5,3±0,2
	2008	4,8	29,1	47,1	16,4	3,5	1,0	5,4±0,2
Л-4	2003	3,4	17,9	35,5	26,0	10,2	6,9	6,4±0,2
	2006	9,4	29,7	34,4	17,5	6,1	2,8	5,5±0,3
	2008	5,8	19,9	36,5	24,2	9,8	3,9	6,0±0,2
Л-5	2008	3,5	16,6	44,1	26,5	7,2	2,0	6,0±0,2
Ц-4	2008	2,3	23,7	42,3	23,1	6,8	1,8	5,8±0,2
Ц-8	2006	1,8	14,9	36,7	31,4	11,2	4,0	6,5±0,2
	2008	1,1	15,9	40,7	29,7	8,1	4,4	6,4±0,2



**Рис. 1.** Мінливість кількості та розмірів ядерців у проростках плюсових дерев сосни звичайної урожаю 2008 р.: а, б, в – клон Ц-4; г – клон Л-5 ( $10 \times 100^{\times}$ )

різня ( $V > 20\%$ ). За середньою кількістю ядерців в клітині, середнім об'ємом ядерця корінці в межах клону достовірно відрізняються ( $t_{\phi} > t_{05}$ ).

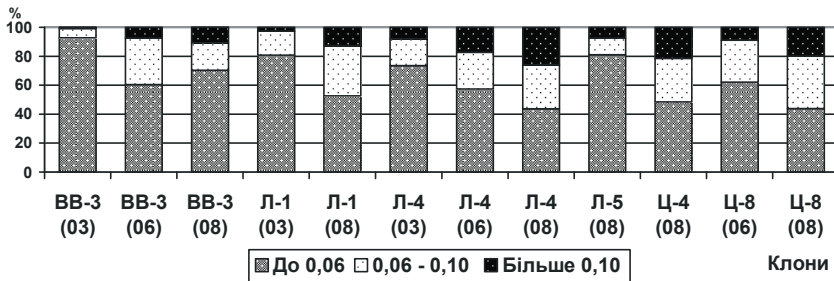
З метою встановлення активної площі взаємодії ядерців з цитоплазмою клітини

в цитологічний аналіз було введено показник відношення сумарної площі ядерців в ядрі до площі клітини (рис. 2).

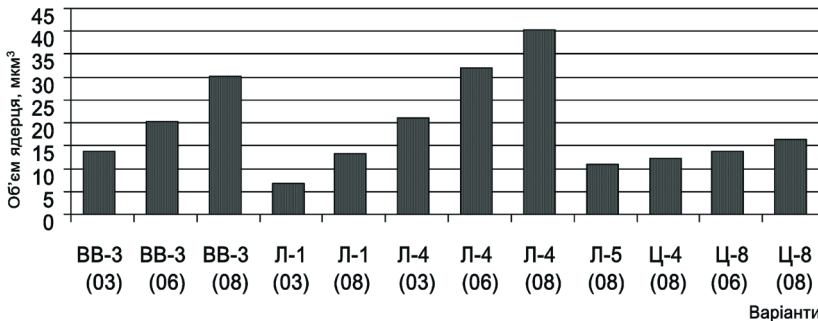
За показником відношення сумарної площі ядерців в ядрі до площі клітини клони ВВ-3 і Л-5 достовірно відрізняються від Л-4, Ц-4 і Ц-8.

Дослідження об'ємів ядерців показали, що найменші середні розміри ядерця ( $6,8 \text{ мкм}^3$ ) характерні для проростків клону Л-1 урожаю 2003 р. Максимальні розміри ядерця ( $40,3 \text{ мкм}^3$ ) характерні для меристеми проростків клону Л-4 урожаю 2008 р., дещо менші розміри ядерця ( $30 \text{ мкм}^3$ ) властиві проросткам клону ВВ-3 урожаю 2008 р.

Отже, старіння насіння усіх досліджуваних клонів проявляється у зменшенні середнього об'єму ядерців в клітинах апікальної меристеми проростків. Слід підкреслити, що дане явище не пов'язане із



**Рис. 2.** Співвідношення клітин (%) за показником відношення сумарної площі ядерців до площі клітини в проростках окремих клонів різних урожаїв. На осі абсцис наведено назву клону та рік урожаю (в дужках)



**Рис. 3.** Середній об'єм ядерця проростків клонів сосни звичайної різних урожаїв. На осі абсцис наведено назву клону та рік урожаю (в дужках)

зростанням середньої кількості ядерців на клітину, тобто тривалість зберігання насіння не впливає на кількість активно діючих ядерцевих організаторів.

Як видно з рис. 4, серед усіх досліджуваних варіантів найменша кількість проростків (50 %), клітини яких мають 1–2 ядерця в ядрі, характерна для клону Ц-8 урожаїв 2006 та 2008 рр. Кожен проросток клону Л-1 урожаю 2003 р. має клітини з мінімальною кількістю ядерців в ядрі (1–2 шт). У решти клонів частка таких корінців коливається від 60 % до 90 %.

Особливістю клону Ц-8 урожаїв 2006 і 2008 рр. є наявність найбільшої кількості проростків (відповідно 85 % та 75 %), клітини яких мають максимальну (11–12 шт) кількість ядерців в ядрі. Проростки ж клону ВВ-3 урожаю 2003 р. зовсім не мають клітин з максимальною кількістю ядерців. У решти досліджуваних варіантів частка таких проростків коливається від 30 % до 67 %.

Характерною рисою клону Л-4 є те, що всі проростки мають клітини, у яких ядерця займають більше 10% площі клітини (по-

казник відношення сумарної площі ядерців в ядрі до площі клітини становить 0,10 і більше). Крім того, кластерний аналіз підтвердив, що клон Л-4 є специфічним за дослідженими цитогенетичними ознаками.

З насіння врожаю 2003 р. частка проростків з максимальним значенням показника відношення сумарної площі ядерців в ядрі до площі клітини коливається від 43 % у ВВ-3 до 67 % у Л-4.

Старіння насіння клонів Л-1, Л-4 і Ц-8 проявляється у зменшенні відсотка проростків, клітини яких характеризуються максимальним значенням показника відношення сумарної площі ядерців в ядрі до площі клітини. Лише у клону ВВ-3 старіння насіння пов'язане зі зменшенням відсотка проростків, клітини яких мають максимальну кількість ядерців в ядрі. У клонів ВВ-3, Л-1, Л-4 дещо зростає частка проростків, клітини яких мають 1–2 ядерця в ядрі.

З метою встановлення ядерцевої активності клонів усі досліджені цитогенетичні ознаки (середній об'єм та кількість ядерців в клітині, частка клітин, що мають

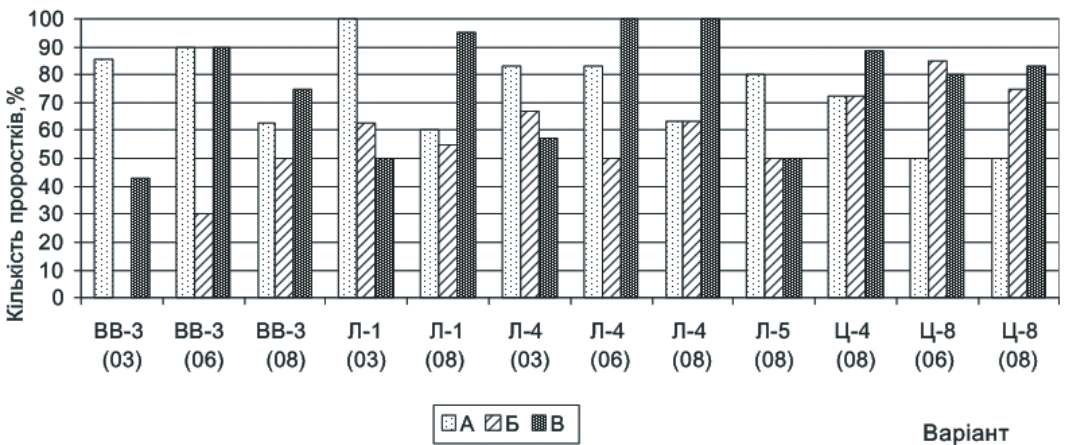


Рис. 4. Розподіл проростків клонів, клітини яких мають: А – 1-2 ядерця в ядрі; Б – 11-12 ядерців в ядрі; В – максимальне значення показника відношення сумарної площі ядерців в ядрі до площі клітини (більше 0,10)

більше 5 ядерць, середній показник відношення сумарної площі ядерць до площі клітини, а також частка клітин із середнім і високим показником відношення сумарної площі ядерць в ядрі до площі клітини) були використані у ранжируванні.

За комплексною оцінкою, виконаною методом координат [23], найвищий ранг має клон Л-4, проростки якого володіють найвищою ядерцевою активністю. Найнижча ядерцева активність притаманна проросткам клону Л-5, який характеризується швидким, але нестабільним ростом.

Для кожного клону за роками врожаю встановлено, що найвищі ранги займають врожаї 2008 р., нижчі – 2006 р., і найнижчі – 2003 р. Тобто, термін зберігання насіння призводить до зменшення ядерцевої активності усіх досліджуваних клонів.

### **Висновки**

Кількість активних ядерць у клонів сосни звичайної становить переважно 5–6, при мінімальному значенні 1 і максимальному 12. Виявлено значну мінливість кількості ядерць в ядрі в межах корінця ( $V > 20\%$ ). За середньою кількістю ядерць в клітині, середнім об'ємом ядерця корінці в межах клону достовірно відрізняються ( $t_{\phi} > t_{05}$ ).

Клони сосни характеризуються специфічністю за цитогенетичними ознаками: розподіл популяції клітин за кількістю ядерць, розподіл популяції клітин за показником відношення сумарної площі ядерць до площі клітини, середній об'єм ядерця.

За показником відношення сумарної площі ядерць в ядрі до площі клітини клони ВВ-3 і Л-5 достовірно відрізняються від Л-4, Ц-4 і Ц-8 ( $t_{\phi} > t_{05}$ ).

Найменші об'єми ядерць ( $6,8 \text{ мкм}^3$ ) характерні для проростків клону Л-1 урожаю 2003 р., а найбільші ( $40,3 \text{ мкм}^3$ ) – для клону Л-4 урожаю 2008 р.

Найвищою ядерцевою активністю за комплексною оцінкою цитогенетичних

ознак володіє клон Л-4. Найнижча ядерцева активність притаманна проросткам клону Л-5.

Термін зберігання насіння призводить до зменшення ядерцевої активності усіх досліджуваних клонів, зокрема зменшується середній об'єм ядерць в клітинах апікальної меристеми проростків при однаковій їхній кількості, зменшується відсоток проростків, клітини яких мають високе значення показника відношення сумарної площі ядерць в ядрі до площі клітини.

Роботу виконано в лабораторії генетики і селекції рослин біологічного факультету Волинського університету імені Лесі Українки.

### **Перелік літератури**

1. *Жарская О. О., Зацепина О. В.* Динамика и механизмы реорганизации ядрышка в митозе // *Цитология.* – 2007. – Т. 49. – С. 355–369.
2. *Hadjiolov A. A.* The nucleolus and ribosome biogenesis // In: *Cell Biol. Monographs.* Wien; New York: Springer–Werlag. – 1985. – Vol. 12, № 1. – 268 p.
3. *Olson M. O., Hingorani K., Szebeni A.* Conventional and nonconventional roles of the nucleolus // *Int. Rev. Cytology.* – 2002. – Vol. 219. – P. 196–266.
4. *Andersen J. S.* Nucleolar proteome dynamics // *Nature.* – 2005. – Vol. 433, № 77. – P. 83.
5. *Челидзе П. В.* Ультраструктура и функции ядрышка интерфазной клетки – Тбилиси: Мецинереба, 1985. – 119 с.
6. *Архипчук В. В.* Взаимосвязь между количеством и размерами ядрышек в клетках карповых рыб // *Цитология и генетика.* – 1991. – Т. 25, № 4. – С. 8–13.
7. *Соболь М. А.* Роль ядрышка в реакциях растительных клеток на действие физических факторов окружающей среды // *Цитология и генетика.* – 2001. – Т. 35. – № 3. – С. 72–84.
8. *Шахбазов В. Г., Шестопалова Н. Т.* Некоторые особенности ядрышка и ядра в клетках



- гибридного лука // Докл. АН СССР, 1971.– Т. 196, №5.– С. 1207–1208.
9. Рупошев А. Р. Цитолого-биохимическое изучение гетерозисного гибрида кукурузы "Слава"– Докл. ТСХА. – 1978.– Вып. 181.– С. 140–141.
  10. Малышева Н. С., Гилязетдинов Ш. Я., Яхин И. А. О цитофизиологических особенностях разнокачественности родительских форм гетерозисных гибридов кукурузы / В. Кн.: Проблема гетерозиса и пути его использования в растениеводстве.– Уфа: БФ АН СССР, 1982.– С. 69–77.
  11. Чугункова Т. В., Дубровна О. В., Лялько І. І. Генетичні і цитогенетичні основи гетерозису у рослин. – К.: Логос, 2006. – 260 с.
  12. Калашник Н. А., Хайдарова Т. Г. Ядрышковые организаторы хромосом как адаптивные элементы хвойных видов // Методы оценки состояния и устойчивости лесных экосистем : тез. докл. международ. совещания, 8 – 13 августа, 1999, Красноярск. – Красноярск, 1999. – С. 79–80.
  13. Калашник Н. А., Преснухина Н. П. Популяционная изменчивость кариотипа сосны обыкновенной в Башкирии // Цитология и генетика. – 1991. – Т. 25, № 3. – С. 12–17.
  14. Сенькевич Е. В. Цитогенетика сосны обыкновенной и березы повислой в районе Нововоронежской АЭС в связи с вопросами оценки загрязнения окружающей среды: дисс. ... канд. биол. наук : 03.00.16. – Воронеж, 2007. – 284 с.
  15. Муратова Е. Н., Матвеева М. В. Кариологические особенности пихты сибирской *Abies sibirica* Ledeb. в различных условиях произрастания // Экология. – 1996. – № 2. – С. 96–103.
  16. Буторина А. К., Калаев В. Н., Карпова С. С. Цитологические нарушения в соматических клетках человека и березы повислой в районах г. Воронежа с различной интенсивностью антропогенного загрязнения // Экология. – 2002. – № 6. – С. 438–441.
  17. Черкашина О. Н. Цитогенетический мониторинг насаждений сосны обыкновенной в условиях Хреновского и Усманского боров: автореф. дисс. на соиск. научн. степени канд. биол. наук : спец. 03.00.16 "Экология". – Воронеж, 2007. – 22 с.
  18. Буторина А. К., Калаев В. Н., Миронов А. Н. Цитогенетическая изменчивость в популяциях сосны обыкновенной // Экология. – 2001. – Т. 32, № 3. – С. 198–202.
  19. Седельникова Т. С., Муратова Е. Н. Генеративные органы и кариотип сосны обыкновенной на олиготрофных болотах Западной Сибири // Лесоведение.– 1991.– Вып. 3.– С. 34–44.
  20. Седельникова Т. С., Муратова Е. Н., Ефремов С. П. Кариологические особенности видов хвойных на болотах и суходолах Западной Сибири // Krilovia. – 2000. – Т. 2, № 1. – С. 73–80.
  21. Гришаева И. Г. Цитогенетика сосны меловой (в связи с вопросами экологии и таксономии): дисс. ... канд. биол. наук : 03.00.16. – Воронеж, 2004. – 124 с.
  22. Ploton D., Menager M., Jeannesson P., Himber G., Pigeon F., Adnet J. J. Improvement in the staining and in the visualization of the argyrophilic proteins of the nucleolar organizer region at the optical level // Histochemical Journal. – 1986. – Vol. 18. – P. 5–14.
  23. Булыгин Ю. Е. Улучшенная математическая модель комплексной оценки экотипов древесных пород // Лесное хозяйство. – 1985. – № 11.– С. 41–43.

Представлено В.А. Кунахом  
Надійшла 13.10.2009

#### ЯДРЫШКОВАЯ АКТИВНОСТЬ В МЕРИСТЕМЕ ПРОРОСТКОВ ПЛЮСОВЫХ ДЕРЕВЬЕВ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ

В. П. Войтюк, В. В. Андреева

Вольнский национальный университет  
имени Леси Украинки  
Украина, 43025, г. Луцк, ул. Потапова, 9  
e-mail: vpvpm@mail.ru, Andreeva25@list.ru

Проведено цитогенетическое изучение корневой меристемы проростков клонов плюсовых деревьев сосны обыкновенной с целью установления отличий между отдельными плюсовыми деревьями и влияния старения на ядрышковую активность проростков. Выявлено значительную изменчивость количества ядрышек в ядре в пределах корешка.

Установлено, що окремі клони суттєво відрізняються між собою за середнім кількістю ядрышек в клітці, середнім об'ємом ядрышка і долей кліток з високим показателем відношення сумарної площі ядрышек до площі клітки.

*Ключевые слова:* ядрышкова активність, плюсове дерево, сосна звичайна.

#### NUCLEOLUS ACTIVITY IN SPROUT MERISTEM OF SCOTCH PINE PLUS TREES

*V. Voytyuk, V. Andreeva*

Volyn Lesya Ukrainka National university  
Ukraine, 43025, Lutsk, Potapov 9 st.  
e-mail: vpvpm@mail.ru, Andreeva25@list.ru

The cytogenetic studies on root meristem of Scotch pine plus tree clones with the purpose of establishment of differences between individual clones and senescence effect on nucleolus activity of sprouts have been conducted. Considerable variability in nucleus nucleoli number within the root was revealed. Individual clones were found to differ significantly between each other by the mean number of nucleoli within the cell, average nucleoli volume and proportion of cells showing high index of ratio total nucleoli area to cell area.

*Key words:* nucleolus activity, plus tree, Scotch pine.