



# ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ И ГЕНЕТИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ФАКТОРЫ СРЕДЫ

УДК 576.356

© В. Г. Артюхов, В. Н. Калаев,  
С. С. Карпова

Воронежский государственный  
университет, г. Воронеж

## ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ СЕМЕННОГО ПОТОМСТВА ДЕРЕВЬЕВ БЕРЕЗЫ ПОВИСЛОЙ (*BETULA PENDULA ROTH*), ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В РАЗЛИЧНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

### ВВЕДЕНИЕ

✿ Проведено изучение цитогенетических показателей семенного потомства березы повислой (*Betula pendula Roth*) на территории некоторых районов г. Воронежа, подвергающихся значительному загрязнению, и на экологически чистой территории. В каждом из изученных районов выделены по четыре группы проростков: «мутабильная», «слабомутабильная» и две промежуточные по своим показателям группы, дана их цитогенетическая характеристика. Полученные материалы могут быть использованы для разработки рекомендаций по отбору материнских деревьев, продуцирующих устойчивое к неблагоприятным факторам семенное потомство.

✿ **Ключевые слова:** береза повислая; митотическая активность; остаточное ядрышко; патологический митоз; цитогенетическая изменчивость; ядрышковая активность.

Большой интерес биологов к древесным растениям, обусловленный их важным хозяйственным, средообразующим и природоохранным значением, привел к достаточно полному изучению морфологии, систематики, физиологии и биохимии наиболее распространенных видов древесных. В то же время в лесоводстве уделяется внимание вопросам генетического полиморфизма популяций видов-лесообразователей, то есть качественной и количественной дифференцированности, и, следовательно, типичности и воспроизводимости популяций. Эта дифференцированность проявляется в существовании групп особей, различающихся по генотипу и имеющих в связи с этим морфологические, физиологические, биохимические и цитологические особенности. Она направлена на оптимальное приспособление популяции к существующим условиям среды (Буторина и др., 2001; Кайданов, 1996; Фадеева и др., 1980). Таким образом, результаты глубокого изучения генетической структуры популяций древесных растений являются основой для разработки и осуществления комплексных программ по сохранению, воспроизведению и улучшению лесных ресурсов, в том числе и для отбора устойчивых форм древесных растений с целью их использования в озеленительных насаждениях городов. К настоящему времени достаточно полно исследована генетическая изменчивость хвойных (на уровне ДНК и изоферментов) (Политов, 2007), чего нельзя сказать о лиственных древесных. Цитогенетическая вариабельность растений изучена значительно хуже. Известны работы по анализу цитогенетической изменчивости у сосны обыкновенной (Буторина и др., 2000; Дорошев, 2004; Сенькевич, 2007; Черкашина, 2007). Однако по лиственным древесным растениям такие работы нам не встречались, поэтому была предпринята попытка оценить цитогенетическую изменчивость семенного потомства деревьев березы повислой (*Betula pendula Roth*), произрастающих на территориях с разным уровнем антропогенного загрязнения.

Береза повислая (*Betula pendula Roth*) является одной из основных лесообразующих пород Центрального Черноземья и широко используется для озеленения городов. Этот вид характеризуется значительным полиморфизмом по различным признакам, из которых достаточно полно изучены морфофизиологические как наиболее доступные (Попов, 2003). В связи с вышеизложенным представляет определенный теоретический и практический интерес изучение изменчивости цитогенетических характеристик семенного потомства в популяциях березы повислой, находящихся в различных экологических условиях. На основе результатов цитогенетических исследований семенного материала (анализа митотической и ядрышковой активности, частоты и спектра патологических митозов) можно прогнозировать качество насаждений (Буторина и др., 2001; Буторина, 1989a; Zoldos et al., 1997; Муратова, 1989; Архипчук и др., 1992). Это создает предпосылки для разработки рекомендаций по генетико-селекционному улучшению природных и искусственных популяций березы путем отбора материнских деревьев, проду-

Поступила в редакцию 29.10.2008  
Принята к публикации 10.03.2009

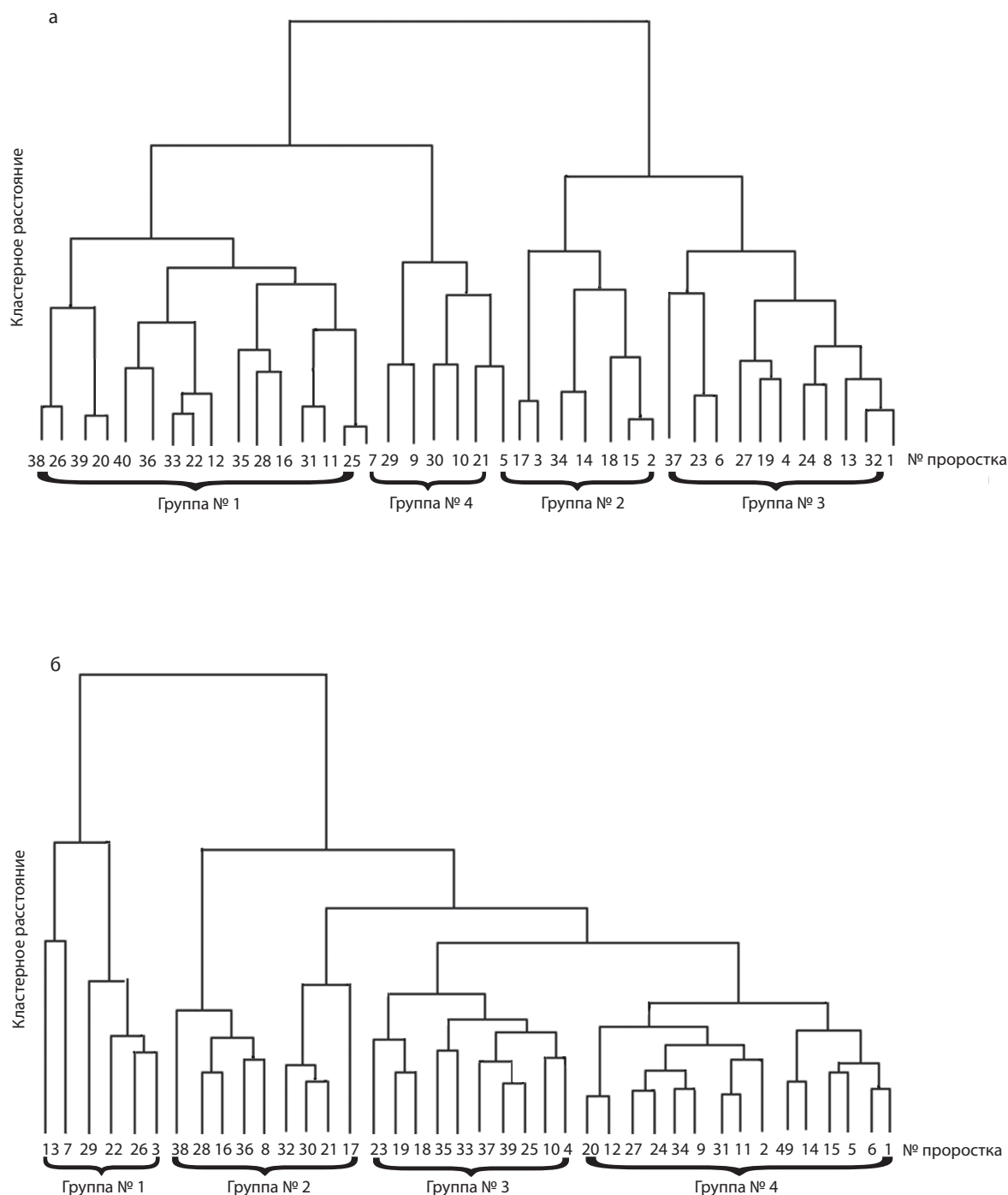


Рис. 1. Дендрограммы кластерных расстояний между проростками семенного потомства деревьев березы повислой, произрастающих на экологически безопасной территории «Веневитиново», построенные по их цитогенетическим показателям (а — 2001 г., б — 2003 г.; группа № 1 — «мутабильная», группа № 2 — «промежуточная № 1», группа № 3 — «промежуточная № 2», группа № 4 — «слабомутабильная»)

цирующих устойчивое к неблагоприятным факторам среды семенное потомство, и для получения знаний о цитогенетических процессах, протекающих в популяциях древесных растений, в связи с усиливающимся антропогенным воздействием. Глубокое знание цитогенетических особенностей популяций древесных растений позволит проводить в них

мониторинг изменений и прогнозировать нарушение их стабильного воспроизводства во времени. В связи с вышеизложенным целью представленной работы явилось выявление цитогенетической изменчивости семенного потомства деревьев, произрастающих на территориях с разным уровнем антропогенного загрязнения.

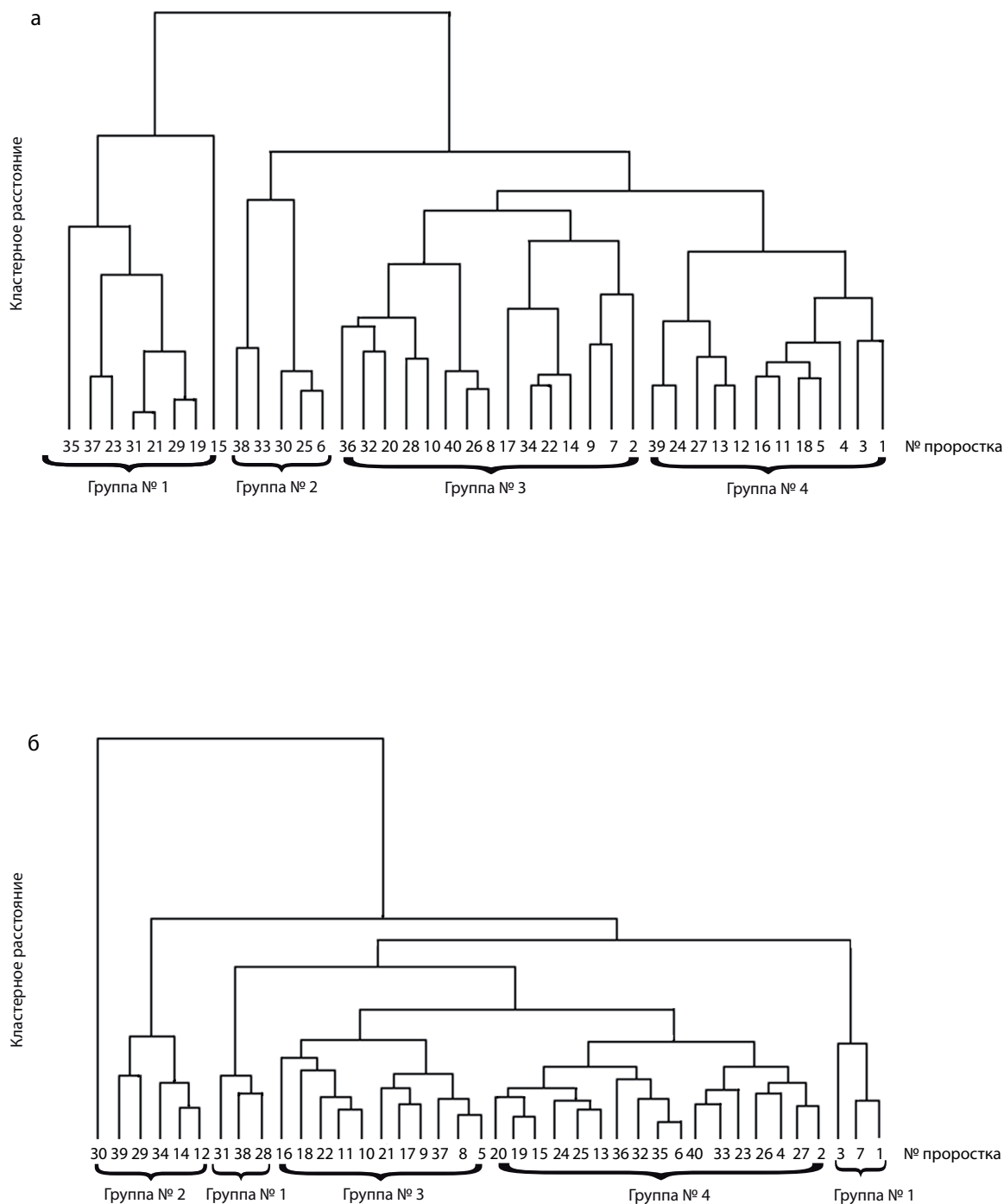


Рис. 2. Дендрограммы кластерных расстояний между проростками семенного потомства деревьев березы повислой, произрастающих на антропогенно загрязненных территориях, построенные по их цитогенетическим показателям (а — Левобережный район, 2001 г., б — Ленинский район, 2003 г.; группа № 1 — «мутабильная», группа № 2 — «промежуточная № 1», группа № 3 — «промежуточная № 2», группа № 4 — «слабомутабильная»)

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучение изменчивости семенного потомства березы повислой по цитогенетическим показателям в экологически неблагоприятных условиях (в условиях антропогенного загрязнения) проводили в 2001 году в Левобережном и

в 2003 году — в Ленинском районе г. Воронежа. Эти районы (так называемая «зона экологической опасности») характеризуются напряженной экологической обстановкой, обусловленной загрязнением указанных территорий выбросами автотранспорта и предприятий пищевой, фармацевтической и химической промышленности (Мамчик и

Таблица 1

Характеристики митотического и ядрышкового аппарата проростков семян березы повислой в «мутабельной» группе

| Год<br>Район исследования<br>Показатели                                   | 2001               |                 | 2001            |                 |
|---|--------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|   | Левобережный район | «Веневитиново»  | Ленинский район | «Веневитиново»  |
| Количество проростков в группе, шт.                                       | 8                  | 16              | 6               | 6               |
| Митотический индекс, % ( $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ )                      | $4,2 \pm 0,2$      | $3,7 \pm 0,3$   | $5,4 \pm 0,9$   | $6,3 \pm 0,7$   |
| Доля клеток на стадии митоза, % ( $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ )             |                    |                 |                 |                 |
| профаза   | $19,3 \pm 3,4$     | $25,0 \pm 2,0$  | $29,3 \pm 5,3$  | $23,8 \pm 4,0$  |
| метафаза  | $31,4 \pm 2,5$     | $31,4 \pm 2,1$  | $24,6 \pm 1,7$  | $31,6 \pm 2,2$  |
| анафаза—телофаза  | $49,2 \pm 1,8$     | $43,7 \pm 1,8$  | $46,1 \pm 5,2$  | $44,6 \pm 3,9$  |
| Патологические митозы, % ( $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ )                    | $12,2 \pm 1,5$     | $6,0 \pm 1,3$   | $5,2 \pm 1,2$   | $5,5 \pm 1,1$   |
| Частота встречаемости остаточных ядрышек, % ( $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ ) | $18,4 \pm 3,3$     | $9,1 \pm 1,7$   | $17,1 \pm 2,7$  | $8,8 \pm 2,1$   |
| Площадь поверхности, мкм <sup>2</sup> ( $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ )       |                    |                 |                 |                 |
| одиночных ядрышек   | $120,7 \pm 3,0$    | $103,6 \pm 1,5$ | $100,7 \pm 3,2$ | $141,2 \pm 5,5$ |
| ядрышек типа «кора—сердцевина»  | $108,3 \pm 5,6$    | $101,3 \pm 1,7$ | $89,2 \pm 1,7$  | $113,6 \pm 5,9$ |
| ядрышек типа «кора—сердцевина» с вакуолью                                 | $145,7 \pm 5,2$    | $126,1 \pm 2,4$ | $120,0 \pm 2,5$ | $184,5 \pm 8,3$ |
| Доля ядрышек, % ( $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ )                             |                    |                 |                 |                 |
| типа «кора—сердцевина»  | $67,8 \pm 3,9$     | $86,1 \pm 2,1$  | $63,9 \pm 8,4$  | $60,8 \pm 9,0$  |
| типа «кора—сердцевина» с вакуолью   | $32,2 \pm 3,9$     | $13,9 \pm 2,1$  | $36,2 \pm 8,4$  | $39,2 \pm 9,0$  |
| Количество проростков (доля интерфазных клеток (%)), имеющих клетки с     |                    |                 |                 |                 |
| 2 ядрышками в ядре  | 6 (1,4)            | 15 (3,8)        | 6 (1,8)         | 5 (1,9)         |
| 3 ядрышками в ядре  | 0                  | 10 (0,5)        | 3 (0,3)         | 2 (0,3)         |
| 4 ядрышками в ядре  | 0                  | 6 (0,3)         | 0               | 0               |

др., 1997). В те же годы проводили изучение изменчивости цитогенетических показателей у проростков семян березы в экологически благоприятных (нормальных) условиях на территории Биологического учебно-научного центра Воронежского госуниверситета «Веневитиново». Эту территорию можно считать экологически безопасной, так как содержание контролируемых химических элементов в растительном материале и уровень загрязненности радиоактивными веществами не превышали соответствующих ПДК (Щетинкина и др., 1992).

Для изучения цитогенетических характеристик семенного потомства березы использовали семена, полученные от 6 фенотипически «нормальных» деревьев примерно 30–40-летнего возраста, произрастающих на каждой из указанных территорий на площади 150–200 м<sup>2</sup>. Выбор небольшого числа деревьев обусловлен требованием компактного их расположения на опытных площадях с целью избежать эффекты, вызванные неравномерным загрязнением опытных территорий. Собранные семена (в равных количествах (по 300 семян) от каждого дерева) смешивали и помещали в чашки Петри на влажную фильтроваль-

ную бумагу; проращивание их производили при комнатной температуре. Семена соответствовали 1 классу качества семян, согласно ГОСТ 13056.6-75 (всхожесть не менее 55 %). В своей работе мы не учитывали изменчивость цитогенетических показателей семенного потомства отдельных деревьев. Ранее выполненные работы на дубе черешчатом и сосне обыкновенной не выявили значительных различий между деревьями одной селекционной категории по ряду цитогенетических показателей (Буторина, 1989 б; Дорошев, 2004). Проростки с длиной корешка 0,5–1 см фиксировали в ацетоалкоголе (3 части 96 % этилового спирта: 1 часть ледяной уксусной кислоты) в 9 ч утра по летнему времени ( в это время отмечается максимум делений в корневой меристеме проростков (Вострикова, 2002)) на 6 день проращивания. Для цитологического анализа семенного потомства березы повислой готовили постоянные давленные препараты (1 проросток — 1 препарат) по модифицированной методике Уитмена с использованием в качестве красителя ацетогематоксилина (Wittmann, 1962).

Анализ препаратов проводили на микроскопе LABOVAL-4 (Carl Zeiss, Jena) при увеличении  $40 \times 1,5 \times 10$

Таблица 2

**Характеристики митотического и ядрышкового аппарата проростков семян березы повислой в «слабомутабельной» группе**

| Год   | 2001               |                 | 2001             |                 |
|---|--------------------|-----------------|------------------|-----------------|
| Район исследования  | Левобережный район | «Веневитиново»  | Ленинский район  | «Веневитиново»  |
| Показатели  |                    |                 |                  |                 |
| Количество проростков в группе, шт.                                   | 5                  | 7               | 6                | 9               |
| Митотический индекс, % ( $\bar{x} \pm S_x$ )                          | $3,7 \pm 0,4$      | $4,0 \pm 0,4$   | $6,5 \pm 0,9$    | $5,7 \pm 0,6$   |
| Доля клеток на стадии митоза, % ( $\bar{x} \pm S_x$ )                 |                    |                 |                  |                 |
| профаза   | $42,4 \pm 3,7$     | $21,7 \pm 0,9$  | $21,6 \pm 4,9$   | $44,7 \pm 2,0$  |
| метафаза  | $19,3 \pm 2,3$     | $28,1 \pm 3,5$  | $27,8 \pm 2,0$   | $25,3 \pm 1,2$  |
| анафаза—телофаза  | $38,4 \pm 1,9$     | $50,2 \pm 2,7$  | $50,6 \pm 4,8$   | $30,9 \pm 2,9$  |
| Патологические митозы, % ( $\bar{x} \pm S_x$ )                        | $6,0 \pm 1,9$      | $2,6 \pm 0,7$   | $5,2 \pm 2,0$    | $1,9 \pm 0,8$   |
| Частота встречаемости остаточных ядрышек, % ( $\bar{x} \pm S_x$ )     | $7,0 \pm 2,4$      | $8,9 \pm 2,7$   | $12,5 \pm 2,3$   | $12,0 \pm 2,8$  |
| Площадь поверхности, $\mu\text{м}^2$ ( $\bar{x} \pm S_x$ )            |                    |                 |                  |                 |
| одиночных ядрышек   | $97,1 \pm 0,8$     | $109,3 \pm 3,7$ | $114,2 \pm 5,8$  | $103,5 \pm 4,1$ |
| ядрышек типа «кора—сердцевина»  | $88,8 \pm 2,4$     | $87,8 \pm 2,0$  | $111,7 \pm 5,1$  | $96,9 \pm 2,8$  |
| ядрышек типа «кора—сердцевина» с вакуолью                             | $118,7 \pm 2,0$    | $130,7 \pm 4,0$ | $123,9 \pm 25,4$ | $121,2 \pm 5,2$ |
| Доля ядрышек, % ( $\bar{x} \pm S_x$ )                                 |                    |                 |                  |                 |
| типа «кора—сердцевина»  | $73,1 \pm 6,9$     | $49,5 \pm 2,9$  | $93,0 \pm 2,4$   | $77,2 \pm 5,8$  |
| типа «кора—сердцевина» с вакуолью                                     | $26,9 \pm 6,9$     | $50,2 \pm 3,2$  | $7,0 \pm 2,4$    | $22,8 \pm 5,8$  |
| Количество проростков (доля интерфазных клеток (%)), имеющих клетки с |                    |                 |                  |                 |
| 2 ядрышками в ядре  | 5 (3,5)            | 7 (4,7)         | 6 (1,3)          | 9 (2,2)         |
| 3 ядрышками в ядре  | 1 (0,1)            | 1 (0,3)         | 0                | 2 (0,11)        |
| 4 ядрышками в ядре  | 1 (0,1)            | 0               | 0                | 1 (0,1)         |

и  $100 \times 1,5 \times 10$ . С каждой из изученных территорий анализировали цитогенетические характеристики 40 проростков, учитывая на каждом препарате общее количество просмотренных клеток (не менее 500), долю клеток на различных стадиях митоза, количество патологических митозов и остаточных ядрышек на стадии метафазы, анафазы, телофазы. На основании полученных данных вычисляли митотическую активность, показателем которой является митотический индекс - отношение числа делящихся клеток к общему количеству проанализированных клеток, вычисляли долю клеток на стадии профазы, метафазы и анафазы-телофазы, долю патологических митозов от общего числа делящихся клеток, долю каждого типа нарушений клеточного деления от их общего количества и долю клеток с остаточными ядрышками на стадии метафазы — анафазы митоза от общего количества клеток на указанных стадиях. Классификацию патологических митозов производили по Алову (1972). Для изучения ядрышковых характеристик в клетках корневой меристемы семенного потомства березы повислой производили измерение диаметра ядрышек с помощью окулярмикро-

метра (анализировали по 200 клеток на каждом препарате) и высчитывали площадь поверхности ядрышек; учитывали количество клеток с разным числом ядрышек и вычисляли их процент; определяли долю ядрышек различных типов (в %) по классификации, предложенной Челлидзе и Зацепиной (1988). На препаратах были выявлены ядрышки типа «кора-сердцевина» (высокоактивные) и «кора-сердцевина вакуолизированные» (умеренно активные). Указанные виды ядрышек в корневой меристеме проростков семян березы повислой являются типичными и встречаются на экологически «чистой» и загрязненной территории (Kalaev, Kargova, 2003; Калаев и др., 2006).

Статистическую обработку данных проводили на ПЭВМ с помощью пакета статистических программ Stadia. Процедура группировки данных и их обработка на компьютере изложены в работе Кулаичева (2006). Цитогенетические характеристики березы повислой сравнивали по следующим критериям: частоты встречаемости клеток с остаточными ядрышками, клеток с 2, 3, 4 ядрышками в ядре и патологических митозов — по непараметрическому X-критерию рангов Ван-дер-Вардена,

Таблица 3

Характеристики митотического и ядрышкового аппарата проростков семян березы повислой в «промежуточной группе № 1»

| Год   | 2001               |                 | 2001            |                 |
|---|--------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Район исследования  | Левобережный район | «Веневитиново»  | Ленинский район | «Веневитиново»  |
| Показатели  |                    |                 |                 |                 |
| Количество проростков в группе, шт.                                       | 12                 | 11              | 11              | 10              |
| Митотический индекс, % ( $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ )                      | $5,2 \pm 0,4$      | $3,0 \pm 0,3$   | $6,6 \pm 0,5$   | $6,7 \pm 0,7$   |
| Доля клеток на стадии митоза, % ( $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ )             |                    |                 |                 |                 |
| профаза   | $17,9 \pm 1,6$     | $15,8 \pm 1,8$  | $16,9 \pm 2,3$  | $21,9 \pm 1,9$  |
| метафаза  | $22,2 \pm 1,6$     | $27,8 \pm 2,6$  | $30,5 \pm 2,5$  | $29,4 \pm 2,3$  |
| анафаза—телофаза  | $59,9 \pm 1,5$     | $56,4 \pm 1,9$  | $52,6 \pm 2,1$  | $48,7 \pm 2,7$  |
| Патологические митозы, % ( $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ )                    | $6,8 \pm 1,1$      | $3,5 \pm 1,1$   | $5,3 \pm 1,1$   | $4,8 \pm 1,0$   |
| Частота встречаемости остаточных ядрышек, % ( $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ ) | $10,9 \pm 1,9$     | $15,8 \pm 3,0$  | $12,2 \pm 2,8$  | $7,4 \pm 1,8$   |
| Площадь поверхности, мкм <sup>2</sup> ( $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ )       |                    |                 |                 |                 |
| одиночных ядрышек,  | $99,6 \pm 1,3$     | $104,5 \pm 1,7$ | $111,2 \pm 1,8$ | $112,9 \pm 2,5$ |
| ядрышек типа «кора—сердцевина»  | $93,2 \pm 1,3$     | $94,7 \pm 2,0$  | $99,2 \pm 1,9$  | $96,4 \pm 3,0$  |
| ядрышек типа «кора—сердцевина» с вакуолью                                 | $120,2 \pm 2,4$    | $128,4 \pm 2,6$ | $135,2 \pm 2,2$ | $129,3 \pm 2,7$ |
| Доля ядрышек, % ( $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ )                             |                    |                 |                 |                 |
| типа «кора-сердцевина»  | $75,2 \pm 2,3$     | $69,2 \pm 2,2$  | $66,7 \pm 1,1$  | $50,4 \pm 2,1$  |
| типа «кора-сердцевина» с вакуолью   | $24,8 \pm 2,3$     | $30,8 \pm 2,2$  | $33,3 \pm 1,1$  | $49,6 \pm 2,1$  |
| Количество проростков (доля интерфазных клеток (%)), имеющих клетки с     |                    |                 |                 |                 |
| 2 ядрышками в ядре  | 10 (1,8)           | 11 (2,6)        | 10 (1,8)        | 9 (2,5)         |
| 3 ядрышками в ядре  | 0                  | 0               | 0               | 1 (0,1)         |
| 4 ядрышками в ядре  | 0                  | 0               | 0               | 0               |

т. к. распределение этих показателей не подчиняется нормальному закону; митотический индекс, доли клеток на разных стадиях митоза и ядрышковые характеристики — по параметрическому t-критерию Стьюдента. Сравнение долей различных типов патологий митоза осуществляли с использованием Z-аппроксимации для критерия равенства частот. Для определения корреляционных зависимостей использовали коэффициент корреляции рангов Спирмена ( $r_s$ ). Кластерный анализ проводили с использованием метрики нормированный Евклид, стратегия классификации — группового соседа. В матрицу данных вносили значения следующих цитогенетических показателей каждого из 40 проростков с данной опытной территории: митотический индекс (%), % клеток на стадии профазы, метафазы, анафазы-телофазы митоза, % клеток с нарушениями митоза, характеристики ядрышек (площадь поверхности одиночных ядрышек (мкм<sup>2</sup>); % клеток с разными типами ядрышек; доля клеток с остаточными ядрышками на стадиях метафазы, анафазы и телофазы (в % от общего числа клеток на этих стадиях)), % клеток с 2, 3, 4 ядрышками в ядре. Достоверность раз-

бения на классы определяли с помощью дискриминантного анализа на основании критерия Махаланобиса.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проанализировав дендрограммы кластерных расстояний между проростками по совокупности цитогенетических показателей, полученных с использованием методов кластерного анализа и представленных на рисунках 1 и 2, мы выделили в каждом из изученных районов по четыре группы проростков. Характеристики митотического и ядрышкового аппаратов выделенных групп проростков представлены в таблицах 1–4.

В каждом из обследованных районов среди семенного потомства деревьев березы выделяется одна группа проростков (группа № 1), характеризующаяся повышенной (на загрязненных территориях — 5,2–12,2 %, на экологически чистой — 5,5–6,0 %) по сравнению с другими группами частотой встречаемости патологических митозов ( $p < 0,05$ ) (табл. 1). Эту группу можно рассматривать как «мутабельную», с высоким уровнем цитогенетической не-



Таблица 4

**Характеристики митотического и ядрышкового аппарата проростков семян березы повислой в «промежуточной группе № 2»**

| Год   | 2001               |                 | 2003            |                 |
|---|--------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Показатели  | Левобережный район | «Веневитиново»  | Ленинский район | «Веневитиново»  |
| Количество проростков в группе, шт.                                   | 15                 | 6               | 17              | 15              |
| Митотический индекс, % ( $\bar{x} \pm S_x$ )                          | $4,6 \pm 0,4$      | $3,0 \pm 0,3$   | $7,0 \pm 0,4$   | $6,9 \pm 0,3$   |
| Доля клеток на стадии митоза, % ( $\bar{x} \pm S_x$ )                 |                    |                 |                 |                 |
| профаза   | $20,7 \pm 1,7$     | $23,4 \pm 3,1$  | $16,7 \pm 1,3$  | $24,8 \pm 1,7$  |
| метафаза  | $32,8 \pm 2,3$     | $36,3 \pm 2,8$  | $31,8 \pm 1,5$  | $32,0 \pm 1,1$  |
| анафаза — телофаза  | $46,5 \pm 2,3$     | $40,3 \pm 1,0$  | $51,5 \pm 1,8$  | $43,3 \pm 1,4$  |
| Патологические митозы, % ( $\bar{x} \pm S_x$ )                        | $9,8 \pm 1,7$      | $3,0 \pm 1,4$   | $5,6 \pm 0,7$   | $4,1 \pm 0,7$   |
| Частота встречаемости остаточных ядрышек, % ( $\bar{x} \pm S_x$ )     | $14,8 \pm 1,7$     | $13,7 \pm 4,4$  | $15,9 \pm 1,6$  | $9,6 \pm 1,6$   |
| Площадь поверхности, мкм <sup>2</sup> ( $\bar{x} \pm S_x$ )           |                    |                 |                 |                 |
| одиночных ядрышек,  | $94,9 \pm 2,1$     | $80,3 \pm 2,3$  | $100,40,9$      | $121,3 \pm 1,6$ |
| ядрышек типа «кора — сердцевина»                                      | $91,7 \pm 2,0$     | $78,7 \pm 2,5$  | $94,2 \pm 0,9$  | $103,3 \pm 1,5$ |
| ядрышек типа «кора — сердцевина» с вакуолью                           | $113,8 \pm 3,1$    | $102,3 \pm 5,0$ | $126,6 \pm 1,9$ | $148,3 \pm 1,9$ |
| Доля ядрышек, % ( $\bar{x} \pm S_x$ )                                 |                    |                 |                 |                 |
| типа «кора-сердцевина»  | $87,6 \pm 1,9$     | $93,3 \pm 1,5$  | $80,9 \pm 1,7$  | $60,6 \pm 1,8$  |
| типа «кора-сердцевина» с вакуолью                                     | $12,4 \pm 1,9$     | $6,7 \pm 1,5$   | $19,1 \pm 1,7$  | $39,4 \pm 1,8$  |
| Количество проростков (доля интерфазных клеток (%)), имеющих клетки с |                    |                 |                 |                 |
| 2 ядрышками в ядре  | 13 (1,2)           | 6 (5,0)         | 16 (2,4)        | 15 (2,8)        |
| 3 ядрышками в ядре  | 2 (0,1)            | 2 (0,3)         | 4 (0,2)         | 4 (0,2)         |
| 4 ядрышками в ядре  | 0                  | 0               | 1 (0,0)         | 2 (0,0)         |

стабильности. Повышенный показатель частоты встречаемости патологий митоза в этой группе проростков сопровождается увеличением площадей поверхности одиночных ядрышек в интерфазных клетках ( $r_s = 0,291$ ,  $p < 0,05$ ). Увеличение размеров ядрышек, по-видимому, может быть обусловлено как возможной амплификацией рибосомальных генов и/или усилением их транскрипционной активности, так и нарушением выхода продуктов транскрипции рибосомальных генов из ядра. Оба этих процесса могут являться следствием воздействия неблагоприятных факторов на растительный организм (Челидзе, Зацепина, 1988; Соболев, 2001), в связи с чем наличие данной корреляционной связи может также рассматриваться как одна из характеристик «мутабильной» группы проростков.

Для «мутабильной» группы проростков наблюдается и такая тенденция: на чистой территории отмечаются пониженные (8,8–9,1 %), а на загрязненных территориях, наоборот, повышенные (17,1–18,4 %) значения частоты встречаемости остаточных ядрышек на стадии метафазы-телофазы митоза. Ранее остаточные ядрышки на стадии метафазы — телофазы митоза в клетках апикальной

меристемы корней проростков семян были обнаружены на экологически чистых и загрязненных территориях у березы повислой (Вострикова, 2001; Kalaev, Kargova, 2003; Kalaev и др., 2006), у дуба черешчатого (Буторина, Исаков, 1989; Kalaev, Butorina, 2006). Появление остаточных ядрышек на стадии метафазы — телофазы митоза свидетельствует об амплификации рибосомальных генов на указанных стадиях (Буторина, Исаков, 1989). При этом выявляется корреляционная связь между частотой встречаемости остаточных ядрышек и долей различных типов ядрышек в интерфазных клетках: чем больше интерфазных клеток с высокоактивными ядрышками типа «кора — сердцевина», тем меньше остаточных ядрышек на стадиях метафазы — телофазы митоза ( $r_s = -0,410$ ,  $p < 0,01$ ), и чем больше доля клеток в интерфазе с умеренноактивными ядрышками типа «кора — сердцевина с вакуолью», тем выше частота встречаемости остаточных ядрышек в митозе ( $r_s = 0,414$ ,  $p < 0,01$ ). Следовательно, появление остаточных ядрышек на стадиях метафазы, анафазы, телофазы митоза можно рассматривать как механизм компенсации синтетических функций клетки

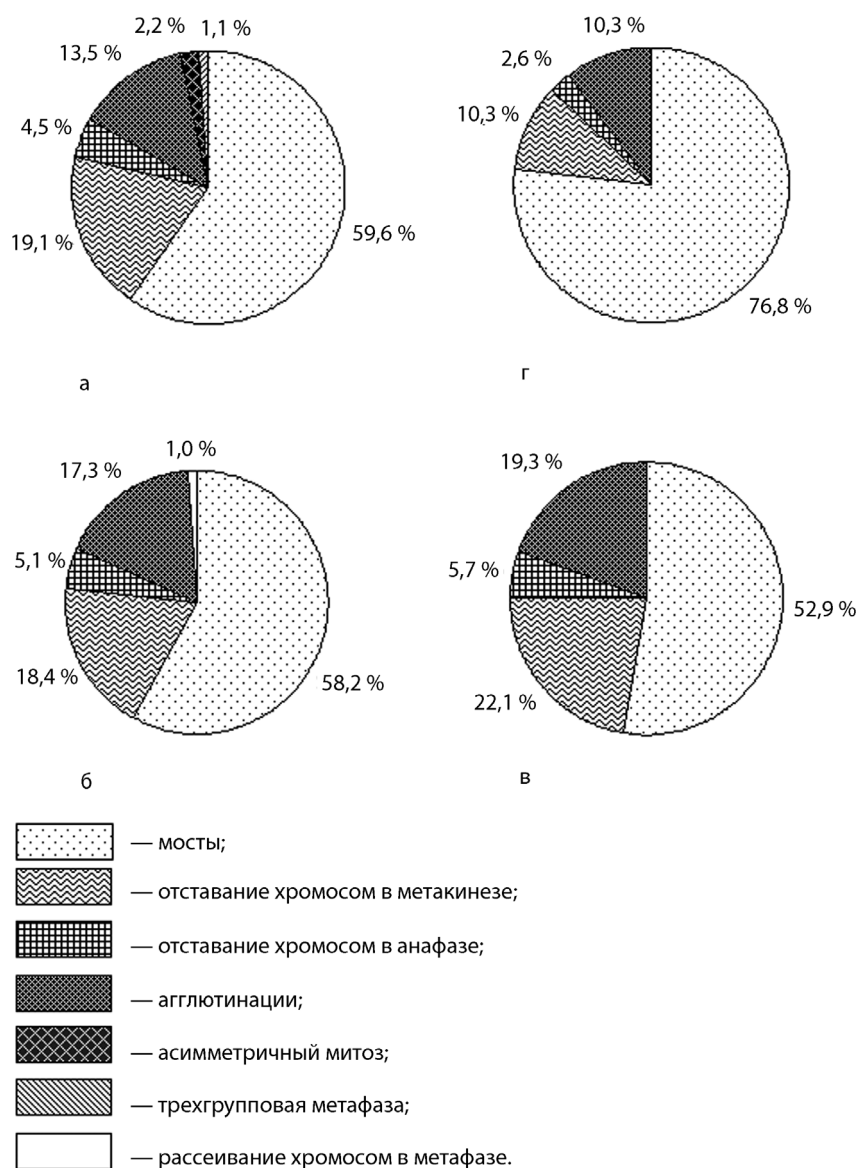


Рис. 3. Спектры патологических митозов в корневой меристеме проростков в выделенных группах семенного потомства березы повислой (а — «мутабильная» группа; б — «промежуточная группа № 1»; в — «промежуточная группа № 2»; г — «слабомутабильная» группа).

при делении в условиях недостаточного функционирования ядрышкового аппарата в интерфазе.

Наличие положительной корреляционной связи между долей клеток с 2, 3, 4 ядрышками в ядре и долей клеток с ядрышками типа «кора-сердцевина» ( $r_s = 0,466$ ,  $p < 0,01$ ) и отрицательной — с долей ядрышек типа «кора-сердцевина с вакуолью» ( $r_s = -0,458$ ,  $p < 0,01$ ) позволяет говорить о возможных структурно-функциональных переходах в ядрышковом аппарате меристемы березы повислой в «мутабильной» группе проростков и указывает на активацию латентных ядрышкообразующих районов хромосом при переходе к более функционально активному типу ядрышек («кора—сердцевина»). Это, вероятно,

можно рассматривать как компенсаторный механизм, обеспечивающий высокий уровень синтеза белка клеткой в неблагоприятных условиях, а так же как еще одну отличительную характеристику «мутабильной» группы проростков.

При рассмотрении спектра патологических митозов (рис. 3) в «мутабильной» группе проростков следует отметить, что наибольшую часть аномальных митозов (96,7 %) составляют нарушения, связанные с повреждением хромосом. В то же время, в спектре патологий в данной группе присутствуют и патологии, связанные с нарушением митотического аппарата (3,3 %), а в других выделенных группах проростков таких нарушений (асимметричный



митоз, трехгрупповая метафаза) не наблюдалось. Более широкий спектр патологических митозов, так же как и высокий процент их встречаемости по сравнению с другими группами, можно считать признаком «мутабельной» группы проростков.

На каждой из изученных территорий выявляется другая группа проростков (группа № 4), в которой значения частоты встречаемости патологических митозов являются наименьшими (на загрязненных территориях — 5,2–6,0 %, на экологически чистой — 1,9–2,6 %) по сравнению с другими группами ( $p < 0,05$ ) (табл. 2). Эту группу проростков мы обозначили как «слабомутабельную».

При анализе цитогенетических характеристик проростков в описываемой группе установлена отрицательная корреляционная связь между частотой встречаемости патологических митозов и частотой встречаемости остаточных ядрышек на стадии метафазы-телофазы митоза ( $r_s = -0,368$ ,  $p < 0,05$ ). Это свидетельствует о компенсаторной роли остаточных ядрышек в митозе, которая заключается в поддержании синтеза необходимых клетке белков в стрессовых условиях (Буторина, Исаков, 1989) и тем самым, возможно, ведет к снижению частоты встречаемости патологий митоза.

В данной группе наблюдается противоположная обнаруженной в «мутабельной» группе проростков зависимость между частотой встречаемости клеток с 2, 3, 4 ядрышками в ядре и частотой встречаемости клеток с ядрышками различных типов, а именно: отрицательная корреляция с долей клеток с ядрышками типа «кора-сердцевина» ( $r_s = -0,312$ ,  $p < 0,05$ ) и положительная — с долей клеток с вакуолизированными ядрышками «кора-сердцевина» ( $r_s = 0,322$ ,  $p < 0,05$ ). Т. о., для «слабомутабельной» группы проростков характерно уменьшение числа клеток с несколькими ядрышками в ядре при возрастании доли клеток с одним высокоактивным ядрышком типа «кора-сердцевина», и, наоборот, при возрастании числа клеток с умеренно-активными ядрышками типа «кора-сердцевина вакуолизированные» происходит активация латентных ядрышкообразующих районов хромосом. Описываемая зависимость отражает механизмы поддержания синтетической активности в интерфазных клетках на стабильном уровне и является отличительной характеристикой «слабомутабельной» группы проростков семян березы повислой.

«Слабомутабельная» группа проростков характеризуется также преобладанием мостов в спектре патологических митозов (рис. 3), что свидетельствует об активной работе систем репарации (Акопян, 1967; Симаков, 1983): доля мостов в 3,3 раза превышает долю других патологий митоза в этой группе (в «мутабельной» группе это соотношение равно 1,5, в «промежуточных» — 1,1–1,4).

Две оставшиеся группы проростков (группы № 2, 3 на дендрограммах) на каждой из исследованных территорий характеризуются промежуточными значениями цитогенетических характеристик между крайними группами, т. е. «мутабельной» и «слабомутабельной» (табл. 3–4).

Основное различие между этими промежуточными группами наблюдается по наличию в них проростков, имеющих клетки с 2, 3, 4 ядрышками в ядре. Так, в каждой из изученных популяций можно выделить группу проростков (мы назвали ее «промежуточная группа № 1»), в меристеме которых присутствуют клетки только с 1 и 2 ядрышками в ядре, что согласуется с данными о наличии у березы повислой одной пары хромосом с ядрышковыми организаторами (Макарова, 1989). Другая группа (мы назвали ее «промежуточная группа № 2») характеризуется наличием проростков, у которых присутствуют интерфазные клетки с 1, 2, 3 и даже 4 ядрышками в ядре, что может свидетельствовать об активации латентных ядрышкообразующих районов хромосом. По мнению Лазаревой (1999), число ядрышек в интерфазном ядре является показателем числа активных ядрышкообразующих районов.

Кроме того, в «промежуточной группе № 2» выявлены корреляционные связи между частотой встречаемости остаточных ядрышек на стадии метафазы—телофазы митоза и площадью поверхности ядрышек в интерфазных клетках с одним ядрышком ( $r_s = -0,2634$ ,  $p < 0,05$ ), что подтверждает предположение о компенсаторном характере возникновения пухов в митозе: чем ниже синтетическая активность в интерфазных клетках, тем больше остаточных ядрышек в митозе.

Как на экологически чистой, так и на загрязненных территориях, выделенные группы (мутабельные, слабомутабельные и промежуточные) не различались между собой по показателям митотической активности, что позволяет говорить о высокой резистентности данного показателя к внешним воздействиям. Кроме того, отсутствовали также и различия в скорости прохождения клетками стадий митоза. Клеточное деление — высоко канализованный процесс, играющий значительную роль в онтогенезе организмов, а потому отсутствие межгрупповых различий по указанным характеристикам в каждой из изученных популяций можно рассматривать как показатель сбалансированности популяций — их гомеостаза.

Что касается количественных характеристик выделенных «мутабельной» и «слабомутабельной» групп, то можно сделать следующие выводы. На чистой территории преобладает группа «мутабельных» проростков (25–40 % от числа проанализированных проростков на обследованной территории), доля «слабомутабельных» проростков здесь составляет 15–20 %. На загрязненных территориях преобладающей является группа «слабомутабельных» проростков (27–30 %), доля «мутабельных» проростков здесь — 20–30 %. Полученные данные о размерах выделенных групп свидетельствуют о снижении эффективности гаметического и зиготического отбора на экологически чистых территориях, где выживают особи из группы чувствительных к неблагоприятным факторам среды проростков. В то же время на загрязненных территориях преимуществом в выживании обладают особи из группы устойчивых проростков.

Таблица 5

Основные критерии выделения «мутабельной» и «слабомутабельной» групп проростков при изучении изменчивости цитогенетических показателей проростков семян деревьев березы повислой

| Показатели  | «Мутабельная» группа  | «Слабомутабельная» группа  |
|---|---|--|
| Уровень патологических митозов                                | Наибольшие значения (5,2–12,2 %)  | Наименьшие значения (1,9–6,0 %)  |
| Спектр патологических митозов                                 | Расширение спектра патологий с преобладанием нарушений, связанных с повреждением хромосом (96,7 %), что свидетельствует о низкой интенсивности репаративных процессов | Преобладание мостов (76,8 %), что свидетельствует об активной работе систем репарации  |
| Частота встречаемости клеток с остаточными ядрышками в митозе | Уменьшение на чистой территории (8,8–9,1 %) и рост на загрязненных территориях (17,1–18,4 %)  | Сравнительно низкие значения (7,0–12,5 %)  |
| Ядрышковые характеристики                                     | Возрастание доли высокоактивных ядрышек кора—сердцевина (60,8–86,1 %) на фоне увеличения частоты встречаемости клеток с 2 и более ядрышками в ядре (1,4–4,6 %)        | Возрастание доли умеренноактивных ядрышек кора—сердцевина с вакуолью (7,0–50,2 %) на фоне увеличения частоты встречаемости клеток с 2 и более ядрышками в ядре (1,3–5,1 %) |

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования проростков семян деревьев березы повислой, произрастающих на экологически благоприятных и загрязненных территориях, позволяют говорить об изменчивости цитогенетических показателей. Проростки семян деревьев березы повислой на каждой из обследованных территорий можно разделить на четыре группы, отличающиеся по качественным и количественным характеристикам: «мутабельную», «слабомутабельную» и две промежуточные. В таблице 5 представлена обобщенная характеристика «мутабельной», «слабомутабельной» группы. Показаны различия выделенных групп по показателям частоты патологических митозов и их спектра, доли остаточных ядрышек на стадиях метафазы, анафазы, телофазы митоза, а также корреляционные связи между ядрышковыми характеристиками, отражающими механизмы поддержания синтетической активности в клетках на стабильном уровне. Полученные результаты исследований могут быть использованы для разработки рекомендаций по отбору материнских деревьев, продуцирующих мутабельное и слабомутабельное семенное потомство для лесной селекции.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ для поддержки молодых российских ученых «Цитогенетика лесных древесных растений в условиях антропогенного загрязнения окружающей среды и пути адаптации древесных растений к стрессовым условиям на клеточном и субклеточном уровне» (грант МК-3481.2007.4) и гранта РФФИ «Анализ и прогнозирование молекулярно-клеточных реакций биосистем на антропогенное загрязнение атмосферы» (грант № 09-04-97503-р-центр-а).

## Литература

1. Акопян Э. М., 1967. Влияние различных типов ионизирующих излучений на возникновение хромосомных

аббераций у гороха. I. Пострадиационное восстановление // Генетика. Т. 3. № 5. С. 45–51.

2. Алов И. А., 1972. Цитофизиология и патология митоза. — М.: Медицина, 264 с.
3. Архипчук В. В., Романенко В. Д., Архипчук М. В. и др., 1992. Цитогенетический метод определения влияния пороговых величин антропогенных факторов на геном растений и животных // Доклады Академии наук (Россия). Т. 326. № 5. С. 908–910.
4. Буторина А. К., 1989а. Способ предварительной генетической оценки отобранных плюсовых деревьев для создания клоновых и семенных плантаций // Лесохозяйственная информация, рекомендуемая для внедрения. М.: ВНИИЦ «Лесресурс». Вып. 8. С. 8–12.
5. Буторина А. К., 1989б. Цитогенетическая оценка деревьев дуба черешчатого разных селекционных категорий // Генетика. Т. 25, № 2. С. 301–309.
6. Буторина А. К., Исаков Ю. Н., 1989. Пуфтинг хромосом в метафазе — телофазе митотического цикла у дуба черешчатого // Докл. АН СССР. Т. 308, № 4. С. 987–988.
7. Буторина А. К., Калаев В. Н., Миронов А. Н. и др., 2001. Цитогенетическая изменчивость сосны обыкновенной // Экология. № 3. С. 216–220.
8. Вострикова Т. В., 2002. Цитозология березы повислой (*Betula pendula* Roth.): Автореф. канд. дис. Воронеж, 24 с.
9. Дорошев С. А., 2004. Влияние антропогенных стрессоров на изменчивость цитогенетических показателей у сосны обыкновенной: Автореф. канд. дис. Воронеж, 23 с.
10. Кайданов Л. З., 1996. Генетика популяций. — М.: Высшая школа, 320 с.
11. Калаев В. Н., Буторина А. К., Шелухина О. Ю., 2006. Оценка антропогенного загрязнения районов г. Старый Оскол по цитогенетическим показателям семенного потомства березы повислой // Экологическая генетика. Т. 4, № 2. С. 9–23.

12. Кулаицев А. П., 2006. Методы и средства комплексного анализа данных. — М.: ФОРУМ: ИНФА-М, 512 с.
13. Лазарева Е. М., 1999. Динамика ядрышка в клеточном цикле диплоидных и полиплоидных клеток различных тканей пшеницы *Triticum aestivum*: Автореф. канд. дис. Москва, 24 с.
14. Макарова Т. П., 1989. Сравнительный кариологический анализ березы повислой и пушистой в центральной части Южной тайги: Автореф. канд. дис. М., 24 с.
15. Мамчик Н. П., Куропан С. А., Клепиков О. В. и др., 1997. Экология и мониторинг города Воронежа. — Воронеж: Изд-во Воронеж. гос. ун-та, 180 с.
16. Муратова Е. Н., 1989. Кариологический полиморфизм хвойных Сибири и Дальнего Востока // Тезисы докл. II совещания по кариологии растений, Новосибирск. С. 31–33.
17. Политов Д. В., 2007. Генетика популяций и эволюционные взаимоотношения видов сосновых (сем. *Pinaceae*) северной Евразии: Автореф. докт. дис. Москва, 49 с.
18. Попов В. К., 2003. Березовые леса Центральной лесостепи России. — Воронеж: Изд-во Воронеж. гос. ун-та, 424 с.
19. Сенькевич Е. В., 2007. Цитогенетика сосны обыкновенной и березы повислой в районе Нововоронежской АЭС в связи с вопросами оценки загрязнения окружающей среды: Автореф. канд. дис. Воронеж, 23 с.
20. Симаков Е. А., 1983. О пострadiaционном восстановлении цитогенетических повреждений в проростках семян разных форм картофеля // Радиобиология. Т. 23. Вып. 5. С. 703–706.
21. Соболев М. А., 2001. Роль ядрышка в реакциях растительных клеток на действие физических факторов окружающей среды // Цитология и генетика. № 3. С. 72–84.
22. Фадеева Т. С., Соснихина С. П., Иркаева Н. М., 1980. Сравнительная генетика растений. — Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 248 с.
23. Челидзе В. П., Зацепина О. В., 1988. Морфофункциональная классификация ядрышек // Успехи современной биологии. Т. 105. Вып. 2. С. 252–267.
24. Черкашина О. Н., 2007. Цитогенетический мониторинг насаждений сосны обыкновенной в условиях Хреновского и Усманского боров: Автореф. канд. дис. Воронеж, 23 с.
25. Щетинкина Н. А., Паишков А. Н., Немых В. Н. и др., 1992. Минеральный состав и загрязненность радиоактивными веществами некоторых травянистых растений пригородной зоны г. Воронежа // Состояние и проблемы экосистем Усманского бора. Воронеж, Вып. 2. С. 209–219.
26. Kalaev V. N., Butorina A. K., 2006. Cytogenetic effect of oak (*Quercus robur* L.) trees growing on sites contaminated by Chernobyl fallout // *Silvae Genetica*. Vol. 55. N 3. P. 93–101.
27. Kalaev V. N., Karpova S. S., 2003. The influence of air pollution on cytogenetic characteristics of birch seed progeny // *Forest Genetics*. V. 10. N 1. P. 11–18.
28. Wittmann W., 1962. Aceto-iron-haemotoxylin for staining chromosomes in squashes of plant material // *Stain Technol.* Vol. 37. N 1. P. 27–30.
29. Zoldos V., Besendorfer V., Jelenic S. et al., 1997. Cytogenetic damages as an indicator of pedunculate oak forest decline // *Cytogenetic studies of forest trees and shrub species*. Zagreb. P. 275–284.

**Cytogenetic variability of seed progeny from trees of weeping birch (*Betula pendula* Roth), growing in different ecological conditions**

V. G. Artyukhov, V. N. Kalaev, S. S. Karpova

✿ **SUMMARY:** The study of cytogenetic characteristics of weeping birch (*Betula pendula* Roth) seed progeny was carried out on anthropogenically polluted territories of Voronezh city, and on ecologically «clean» territory. Four groups of seedlings on each territory were revealed. They are «mutable», «low-mutable» and two intermediate groups. The description of cytogenetic characteristics of these groups was made. The results of the study may be used for recommendation on selection of maternal trees producing seeds resistant to unfavorable conditions of the environment.

✿ **KEY WORDS:** cytogenetic polymorphism; mitotic activity; nucleolar activity; pathological mitosis; persistent nucleolus; weeping birch.

✿ **Информация об авторах**

Артюхов Валерий Григорьевич — зав. кафедрой.  
Воронежский государственный университет  
394006 Россия, Воронеж, Университетская пл. д. 1  
E-mail: bsdesec@main.vsu.ru

Калаев Владислав Николаевич — доцент.  
Воронежский государственный университет  
394006 Россия, Воронеж, Университетская пл. д. 1  
E-mail: Dr\_Huixs@mail.ru

Карпова Светлана Сергеевна — м. н. с.  
Воронежский государственный университет  
394006 Россия, Воронеж, Университетская пл. д. 1  
E-mail: karpovass@mail.ru

Artyukhov Valeriy Grigorievich — head of department.  
Voronezh State University  
394006 Voronezh, Universitetskaya pl. 1.  
E-mail: bsdesec@main.vsu.ru

Kalaev Vladislav Nikolaevich — associate professor.  
Voronezh State University  
394006 Voronezh, Universitetskaya pl. 1.  
E-mail: Dr\_Huixs@mail.ru

Karpova Svetlana Sergeevna — junior research assistant.  
Voronezh State University  
394006 Voronezh, Universitetskaya pl. 1.  
E-mail: karpovass@mail.ru