

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО  
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«Воронежский государственный университет»

*На правах рукописи*

**Попова Анна Александровна**

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ  
ПОЛИМОРФИЗМ СЕМЕННОГО ПОТОМСТВА ДЕРЕВЬЕВ ДУБА  
ЧЕРЕШЧАТОГО (QUERCUS ROBUR L.) В УСЛОВИЯХ  
АНТРОПОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ (НА ПРИМЕРЕ Г. ВОРОНЕЖ)

Специальность 03.02.08 – экология

03.02.07 - генетика

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Научный руководитель:

доктор биологических наук,

профессор Калаев В. Н.

Воронеж 2014

	стр.
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
1.1. Полиморфизм как основа оценки внутривидового разнообразия и характеристика адаптивного потенциала вида	12
1.2. Полиморфизм признаков	16
1.3. Показатели, параметры, используемые для определения полиморфизма на разных структурных уровнях организации	20
1.4. Особенности исследования цитогенетических показателей у древесных растений	24
1.5. Дуб черешчатый как объект исследования	27
1.5.1. Систематическое положение дуба черешчатого	27
1.5.2. Биология дуба черешчатого	27
1.5.3. Генетика дуба черешчатого	31
Глава 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	34
2.1. Объекты и территории исследования	34
2.2. Методы исследований	36
2.2.1. Изготовление и анализ микропрепаратов	37
2.2.2. Исследования морфологии растений	38
2.2.3. Анализ содержания тяжелых металлов в почве	39
2.2.4. Статистическая обработка результатов исследований	39
Глава 3. СОСТОЯНИЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ АТМОСФЕРЫ И ПОЧВЫ Г. ВОРОНЕЖА	41
3.1. Атмосферное загрязнение г. Воронежа.	41
3.2. Элементный состав почв территорий исследования	43
Глава 4. ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	

СЕМЕННОГО ПОТОМСТВА ДЕРЕВЬЕВ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО	45
4.1. Митотическая активность семенного потомства деревьев дуба черешчатого, произрастающих на территориях с разным уровнем антропогенного загрязнения	45
4.2. Ядрышковая активность семенного потомства деревьев дуба черешчатого, произрастающих на территориях с разной степенью антропогенной нагрузки	57
4.3. Цитогенетический полиморфизм семенного потомства деревьев дуба черешчатого на территориях с разным уровнем антропогенного воздействия	66
Глава 5. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СЕМЕННОГО ПОТОМСТВА И СЕЯНЦЕВ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО	98
5.1. Морфологическая оценка семенного материала деревьев дуба черешчатого	98
5.2. Морфологическая оценка сеянцев, выращенных из семенного потомства, собранного от деревьев, произрастающих на территориях с разной антропогенной нагрузкой	102
5.3. Морфологический полиморфизм сеянцев деревьев дуба черешчатого	106
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	117
ВЫВОДЫ	122
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	125

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Ми – митотический индекс;

Ми б/п – митотический индекс, подсчитанный без учета профазных клеток;

П – доля клеток на стадии профазы;

М - доля клеток на стадии метафазы;

АТ - доля клеток на стадии анафазы – телофазы;

ПМ – доля клеток с патологиями митоза;

ПМ б/п – доля клеток с патологиями митоза, подсчитанная без учета клеток на стадии профазы.



**Актуальность темы.** Глобальное распространение урбанизированной среды вовлекает в необратимый процесс изменения все новые природные экосистемы, затрагивая их либо непосредственно, либо косвенным путем. Сохранение всех компонентов природной среды при урбанизации невозможно, неминуемо исчезают виды как растений, так и животных. Угнетающее влияние урбанизации связано не только с сокращением ареалов распространения видов, но и ухудшением качества среды обитания, увеличения ее загрязнения продуктами жизнедеятельности человечества. Одним из самых многочисленных и весомых компонентов биосферы является растительность. Находясь в основании трофической цепи, растительные объекты являются незаменимыми для устойчивого существования всех живых организмов, включая человека. Лесные сообщества составляют уникальную систему не только с биологической точки зрения, но и с практической, так как обеспечивают человечество ресурсами для существования и развития (Бродский, 2006). В связи с вышеизложенным возникает необходимость всестороннего изучения механизмов адаптации древесных растений к неблагоприятным воздействиям различной этиологии на разных уровнях организации живой материи.

Выживаемость любого организма зависит от его адаптивных возможностей. Способность к адаптации, в свою очередь, базируется на вариации признака в популяции, а на уровне особи – на вариабельности структур генома. Несмотря на то, что зачастую нестабильность генома ведет к элиминации особей, в целом для популяции это дает более высокое разнообразие каких-либо признаков, следовательно, возможность адаптации к изменениям (как к природным изменениям климатических, физических и др. параметров среды, так и воздействию человека на среду) (Айала, 1984).

В настоящее время у древесных растений широко исследован полиморфизм на уровне ДНК и изоферментов как у хвойных (лиственница Сукачева (Путехин, 2003); кедрового стланника (Политов, 2006); пихты сахалинской (Семерикова, 2008)), так и у лиственных видов (дуба черешчатого (Муллагулов, 2008); сирени обыкновенной (Мельникова, 2009)). Известны работы, выявляющие вариабельность цитогенетических признаков у сосны обыкновенной (Буторина, 2000; Сенькевич, 2007), березы повислой (Артюхов и др., 2009). Дуб черешчатый - одна из основных лесообразующих пород Центрального Черноземья (Бугаев, 2013; Сериков, Журихин, 2014), поэтому данный вид является важным объектом научных исследований. Ранее у семенного потомства дуба черешчатого были установлены реакции митотического и ядрышкового аппарата на загрязнение окружающей среды химическими поллютантами и радионуклидами (Калаев, 2009). Цитогенетический полиморфизм семенного потомства деревьев дуба черешчатого, произрастающих на территориях с разным уровнем антропогенного загрязнения, не изучался. Также в настоящее время цитогенетические показатели предлагают использовать для оценки состояния насаждений и прогноза качества семенного потомства для целей лесовосстановления (Буторина, 2008; Вострикова, 2006), однако прямых доказательств связи цитогенетических показателей и морфологических признаков семян выявлено не было. Решение последней задачи имеет большую теоретическую и практическую значимость, т.к. выявляет взаимосвязь клеточных и субклеточных процессов с морфологическими изменениями семенного потомства древесных растений и позволяет отбирать с использованием цитогенетических маркеров фенотипически лучшее семенное потомство.

**В связи с вышеизложенным целью исследования** явилось установление фенотипического и цитогенетического полиморфизма семенного потомства и семян деревьев дуба черешчатого на территориях с разным уровнем антропогенного загрязнения и выявление связи

морфологических показателей и цитогенетических характеристик семенного потомства данного вида.

Для реализации поставленной цели решали следующие задачи:

1. Выявить характеристики митотического и ядрышкового аппарата семенного потомства деревьев дуба черешчатого, произрастающих на территориях с разным уровнем антропогенного загрязнения.
2. Оценить степень полиморфизма по цитогенетическим показателям семенного потомства дуба черешчатого в насаждениях с разным уровнем антропогенного воздействия, дать его качественную, количественную характеристику и провести сравнительный анализ выделенных полиморфных групп (мутабельной, слабомутабельной, промежуточной) с территорий с различными условиями обитания.
3. Провести сравнительный анализ цитогенетических характеристик полиморфных групп у разных видов древесных растений (по результатам собственных исследований и данных литературы).
4. Установить морфологические показатели желудей дуба черешчатого в насаждениях с разным уровнем антропогенного воздействия.
5. Выявить морфологические параметры семян дуба черешчатого, выращенных из семян, собранных на территориях с разным уровнем загрязнения окружающей среды.
6. Оценить степень изменчивости семян по морфологическим параметрам и дать качественную и количественную характеристику полиморфных групп (медленнорастущей, активнорастущей, промежуточной), провести сравнительный анализ параметров роста в выделенных группах.
7. Установить степень влияния нарушений протекания митотического деления в корневой меристеме на последующий рост растения.

**Научная новизна.** Впервые проведена оценка цитогенетического полиморфизма семенного потомства деревьев дуба черешчатого в популяциях деревьев, произрастающих на территориях с разным уровнем

антропогенной нагрузки. Показана высокая вариативность семенного потомства по показателям митотической и ядрышковой активностей. Среди семенного потомства дуба выделены группы проростков с разной степенью мутабельности (мутабельные, слабомутабельные, промежуточные), дана характеристика цитогенетических показателей в выделенных группах. Выявлены основные пути адаптации и поддержания цитогенетического гомеостаза у проростков с разной степенью стабильности генетического материала на клеточном уровне, базирующиеся на изменении активности функционирующих ядрышковых организаторов, пуфинге хромосом на стадиях митотического деления. Установлена вариация семенного потомства дуба черешчатого по морфологическим параметрам (вес, размер желудя). Выявлена неоднородность изученной выборки по данным признакам и зависимость параметров продуцируемых популяцией деревьев желудей от места произрастания (высокая / низкая степень антропогенной нагрузки). Установлены морфологические показатели сеянцев дуба черешчатого, выращенных из желудей с разных территорий (высокая / низкая степень антропогенной нагрузки). Обнаружена высокая гетерогенность сеянцев по изучаемым показателям (высота побега, диаметр побега у поверхности почвы, количество и размер листьев). Выделены группы сеянцев по интенсивности ростовых процессов (активнорастущие, медленно растущие, промежуточные). Дана морфологическая характеристика сеянцев в выделенных группах. Установлена связь между цитогенетическими показателями проростков и морфологическими характеристиками сеянцев в выделенных группах.

#### **Теоретическое и практическое значение работы.**

Экспериментально доказано существование полиморфизма дуба черешчатого по цитогенетическим и фенотипическим показателям семенного потомства и сеянцев. Изложенные в работе данные представляют теоретическую ценность, т.к. вносят вклад в установление

механизмов, протекающих в популяциях дуба черешчатого в условиях антропогенного загрязнения на клеточном и субклеточном уровне, а также могут быть использованы для оценки влияния процессов протекания митоза на интенсивность ростовых процессов проростков семян. Знание о гетерогенности семенного потомства и сеянцев по цитогенетическим и морфологическим параметрам может внести поправки в исследования по оценке качества окружающей среды при использовании деревьев дуба в качестве тест-объекта. Результаты исследований цитогенетических параметров семенного потомства дуба черешчатого могут быть использованы в лесной селекции для отбора материнских деревьев, генерирующих семенное потомство с разной стабильностью генетического материала.

Полученные результаты были использованы для создания интернет-ресурса ([www.cytogenetica-trees.vivt.ru](http://www.cytogenetica-trees.vivt.ru)), посвященного цитогенетическим исследованиям древесных растений.

**На защиту выносятся следующие положения.**

1. Условия произрастания материнских деревьев дуба черешчатого на территориях с разным уровнем антропогенного загрязнения оказывают разнонаправленное влияние на морфологические и цитогенетические показатели проростков семян и на уровень их гетерогенности.
2. Среди семенного потомства дуба черешчатого могут быть выделены слабомутабельные, мутабельные и промежуточные формы, отличающиеся по своим характеристикам, а также активнорастущие, медленно растущие и промежуточные группы сеянцев.
3. Цитогенетические характеристики семенного потомства дуба черешчатого могут являться маркерами морфологических показателей сеянцев.

**Личный вклад.** Автором разработаны теоретические положения диссертационной работы, сформулированы цели и задачи исследования, собран и проанализирован экспериментальный материал, проведено

обобщение результатов исследования, на основе которого разработаны предложения по практическому использованию цитогенетических показателей при оценке полиморфизма. Статьи и научные доклада подготовлены в соавторстве и самостоятельно.

**Апробация работы.** Материалы работы были представлены и обсуждались на 5 и 6 Съездах Вавиловского общества генетиков и селекционеров (Москва, 2009; Ростов-на-Дону, 2014), Всероссийской конференции «Фундаментальные и прикладные проблемы ботаники в начале 21 века» (Петрозаводск, 2008), Международной научной конференции «Генетика и биотехнология 21 века. Фундаментальные и прикладные аспекты: материалы» (Минск, 2008), 6-м совещании Русского ботанического общества (Санкт-Петербург, 2009), III Всероссийской научно-практической конференции «Научное творчество XXI века» (Красноярск, 2010), на научной сессии биолого-почвенного факультета (Воронеж, 2010 – 2014 г.г.).

Часть диссертационных исследований выполнялись в рамках проекта № 4.903.2011 «Исследование интродукционной способности растений мировой и региональной флоры на базе ботанического сада Воронежского госуниверситета с целью введения в культуру перспективных видов» в рамках госзадания высшим учебным заведениям на 2012 год и на плановый период 2013 и 2014 годов в части проведения научно-исследовательских работ.

**Публикации.** Материалы диссертации опубликованы в 12 работах, 4 - в изданиях, включённых Высшей аттестационной комиссией России в список журналов, рекомендуемых для опубликования основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени кандидата наук.

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа изложена на 142 страницах машинописного текста и состоит из введения, 5 глав, заключения, выводов, списка использованных источников. Работа

содержит 28 рисунков, 20 таблиц, список включает 171 источник, в т.ч. 46 – на иностранных языках.

## Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Полиморфизм как основа оценки внутривидового разнообразия и характеристика адаптивного потенциала вида

В генетике под полиморфизмом понимают устойчивое поддержание в популяции двух и более генотипических классов особей, имеющих чёткие фенотипические различия, что обусловлено гетерогенностью условий среды и отражает приспособительную дифференциацию генотипической структуры популяции. Поддержание полиморфизма достигается посредством различных генетических механизмов: путём облигатной гетерогаметности особей одного пола (половой диморфизм), за счёт адаптивного преимущества гетерозигот (сбалансированный полиморфизм) и др. (Гиляров, 1986).

Идею комплексного генетико-эколого-географического подхода при изучении дифференциации вида предложили М.А.Розанова (1946) и Е. Н. Синская (1948). Е. Ford (1940, 1971) в популяции обнаружил два вида многообразия: сбалансированный полиморфизм, характеризующийся стабильным численным соотношением между формами, поддерживаемыми в популяции из поколения в поколение, и фанзитивный полиморфизм, отмеченный сдвигами численного соотношения форм в популяции в процессе ее эволюционного преобразования (Егоров, 2004). Т.о. изменчивость особей возможна только внутри вида, т.е. в популяции особей, где происходят активные генетические и адаптивные процессы.

В неразрывном сцеплении с полиморфизмом внутри популяции находится адаптивная способность особей, а впоследствии, и адаптация вида в целом.

Под адаптацией понимают морфологический или функциональный признак организма, позволяющий ему лучше приспособиться к условиям существования, или эволюционный процесс, посредством которого организмы приспосабливаются к окружающей среде (Айала, 1984).



Адаптация вида может рассматриваться как процесс формирования его биоразнообразия, включает в себя два основных аспекта: генетический и экологический. Генетическая адаптация прежде всего связана с изменениями в процессе эволюции, с закреплённостью генофонда в определенном географическом ареале в связи с миграцией вида и путями его расселения на территории, с формированием географических рас (климатипов), что особенно четко проявляется у видов с непрерывным ареалом, к которым относятся хвойные породы. Генетическая адаптация постоянна, она продолжается по мере эволюции вида, что неизбежно ведет к перестройке генетического материала путем незначительных или сальтационных мутаций. В связи с этим, вполне возможны ее флуктуации, обусловленные, например, у сосны реинвазией в современный период. Экологические адаптации как реакция организма на изменения факторов внешней среды глобального, регионального или местного уровня, также приводят к формированию изменчивости популяций. При этом на уровне фенотипа (а возможно, и генотипа) закрепляются ответные нормы реакции, что проявляется в наличии отличных друг от друга форм в популяциях, которые обуславливают приспособляемость вида в данных условиях среды (Матьяш, 1989).

Кроме формирования эдафотипов в природных условиях, экологические адаптации имеют большое значение в связи с техногенным загрязнением, рубками леса, осушением на местном уровне, а также с изменением климатических характеристик территории (Наквасина, 2006).

Очевидной единицей живой материи является организм. Элементарной единицей эволюционного процесса являются не организмы (особи), а популяции (Айала, 1984). Популяция представляет собой структурную основу вида, которая содержит в себе часть генофонда вида и характеризуется генетической изменчивостью (Мамаев, 1973). Другими словами, популяция - это множество особей, принадлежащих к одному виду. Локальной популяцией называется группа особей одного вида,

существующих совместно на одной территории, однако при практическом применении данного положения обнаруживается, что границы между локальными популяциями могут быть плохо очерченными. Более того, организмы внутри каждой группировки не распределены равномерно, даже в том случае когда границы самих группировок совершенно четкие. Поэтому локальные группировки тесно связаны друг с другом. Свойства популяции определяются интеграцией процессов и явлений на трех уровнях организации жизни: на клеточно-молекулярном уровне «записана» генетическая информация популяции; на онтогенетическом уровне она реализуется в фенотипах и, наконец, на популяционно-биологическом уровне она преобразуется (Егоров, 2004).

Популяция обладает генетическим гомеостазом, частью которого, в свою очередь, является гомеостаз каждой особи, сформировавшейся в данной популяции.

К механизмам регуляции генетического гомеостаза популяцией относятся: поддержание гетерозиготности и полиморфизма, поддержание направления и скорости мутационного процесса, поддержание равновесия генотипических частот в соответствии с формулой Харди-Вайнберга (Кайданов, 1996; Лобашев, 1970).

Генетическая дифференцированность популяции, проявляющаяся в существовании групп особей отличающихся по генотипу и, следовательно, по морфологическими, физиологическими, цитологическими, биохимическими особенностями кодируемым геномом, направлена на наиболее полное использование условий среды и на возможность эффективно адаптироваться к изменениям среды (Алтухов, 2004; Кайданов, 1996). Существование генетической изменчивости является необходимым условием эволюции (Айала, 1984).

Генетический полиморфизм является важным адаптивным механизмом, позволяющим виду/популяции быть пластичными по

отношению как к совокупности, так и к отдельным параметрам среды обитания (Алтухов, 2004; Кайданов, 1996).

Большое количество данных о феноменологии, генетическом контроле и механизмах сохранения полиморфизма у видов показывают, что такого рода изменчивость может быть уникальным случаем у весьма небольшой группы видов среди большинства внешне идентичных, она дает явное преимущество при адаптации, поддерживается за счет преобладания гетерозигот, может быть новым этапом в формировании новых видов. Гетерозиготность, определяющая генетическое разнообразие популяций, несет в себе возможность для экологической пластичности за счёт постоянного выщепления и комбинации различных генотипов, относительная приспособленность которых зависит от условий среды обитания.

На популяционном уровне гетерозиготность способна восстанавливать генетическую структуру популяции после отклонения ее от равновесия из-за внешнего или внутреннего воздействия (Алтухов, 2003).

Необходимо отметить, что для популяций перекрестноопыляющихся растений важнейшими характеристиками генетической структуры являются генетический и цитогенетический полиморфизм; гетерогенность, сочетающаяся с высоким уровнем гетерозиготности. Таким образом, генетический анализ популяций растений может ответить на вопросы о конкретной генетической основе наблюдаемого полиморфизма, выявлении аллелей различных генов, скрытых в гетерозиготном состоянии, и количественной характеристики частот аллелей, оценке среднего уровня гетерозиготности особей в популяциях. Изучение генома сортовых популяций и природных перекрестноопыляющихся растений позволяет создать базу для моделирования оптимальной генетической структуры сортов в селекции (Смирнов, 1982). Индивидуальную изменчивость легко обнаружить у

организмов любых видов. Растения часто отличаются как по цвету и узорам цветков и семян, так и по характеру роста. Трудность состоит в том, что не всегда сразу ясно, какая доля морфологической изменчивости обусловлена генетической изменчивостью, а какая обусловлена внешней среды. Генетиками было установлено, что уровень генетической изменчивости в природных популяциях гораздо выше, чем можно предположить об этом по морфологическим признакам (Айала, 1984).

Е. Нево суммировал данные многих исследований и предложил следующую классификацию генетической изменчивости: между крупными таксонами; зонами жизни; общей и специализированной средой обитания; материковыми и островными популяциями. Именно изучение изменчивости по общей и специализированной среде обитания дает дополнительную уникальную информацию об особенностях генетической структуры популяции и механизмах ее формирования (Глазко, 1993).

## 1.2. Полиморфизм признаков

У древесных пород в качестве основных изучаются три группы признаков-маркеров: структурные (морфологические), отражающие особенности строения формы и размеров органов и их частей; физиологические, характеризующие особенности физиолого-биохимических процессов; биохимические и молекулярно-генетические, выявляющие изоферментные вариации, изменения на уровне генома (Егоров, 2004).

Среди структурных признаков на примере хвойных изучается полиморфизм анатомического строения, расположения смоляных каналов, строения и окраски шишек, изменчивость репродуктивных органов (Правдин, 1964). Определяли продолжительность жизни хвои, сезонную изменчивость пигментов хвои, жирность семян, рост и продуктивность сосны и др. параметры. У березы определяются параметры листовой

пластинки, форма плодовых чешуй, опушенность листьев (Егоров, 2004). У бука восточного изучаются прилистники и шишковидные образования купул, лопастность, зубчатость околоцветника мужских цветков.

Семериков и Глотов (1983) для характеристики изменчивости использовали счетные морфологические признаки листьев и генеративных органов дуба – плодоноса, плюски, желудей, что позволило им выделить на Кавказе 6 групп популяций, в Поволжье и Предуралье – 5 групп популяций дуба черешатого.

К признакам, характеризующим физиологические параметры, у растений относятся интенсивность дыхания, фотосинтеза, транспирации, продуктивность и др.

Процессы, описываемые кариологическими, цитогенетическими параметрами, относятся к молекулярно-генетическим признакам. Пожидаева (1985) с помощью цитологических критериев оценивала генетическую структуру популяции сосны обыкновенной, анализировала прохождение мейоза при микроспорогенезе.

Особенности строения хромосом, их поведение в митозе и мейозе следует рассматривать как фенотипические признаки, способные изменяться и находящиеся под контролем генотипа. Структура кариотипа и особенности поведения хромосом являются результатом действия естественного отбора, каждый вид и популяция имеют специфическую цитогенетическую организацию (Соснихина, 1982). Цитологический анализ особей в популяции дает возможность выявления полиморфизма характеристик кариотипа внутри популяции. К хромосомному полиморфизму относят: полиморфизм по пара- и перичентрическим инверсиям, по Робертсоновским транслокациям, по добавочным В-хромосомам, по количеству и распределению гетерохроматина, полиморфизм по числу и морфологии половых хромосом, полиморфизм нуклеолярных локусов.

В родах *Centaurea*, *Festuca* и др. показана изменчивость по числу В-хромосом, у видов *Podophyllum peltatum*, *Briza media*, *Leopoldia comosa*, *Crepis sibirica* и др. – по хромосомным перестройкам, по наличию гетерохроматиновых районов в морфологии хромосом изменчивость отмечена у *Vicia faba*, *Crepis capillaries*, *Scilla sibirica* и др. (Алиханян, 1985; Кайданов, 1996, Фадеева, 1980). На примере семейства сосновых был показан полиморфизм ядрышкообразующих районов хромосом (Муратова, 1990). Применение методов дифференциального окрашивания (Q- и C-бэндинг) позволило оценивать уровень внутривидового полиморфизма гетерохроматиновых районов при изучении культурных и дикорастущих злаков (например, при определении родства видов и геномного происхождения полиплоидов, идентификации хромосом в интрогрессивных гибридах и других областях (Вишнякова, 1994а; Семенов, 1982; Шишкина, 2009; Badaeva, 1994а, b, 1996, 2002).

По сравнению с травянистыми растениями, полиморфизм по параметрам кариотипа у древесных растений слабо изучен. Проводятся исследования по выявлению полиморфизма числа хромосом, их морфологии и размеров, по числу и расположению на хромосомах ядрышкообразующих районов у *Pinus sylvestris*, *Pinus sibirica*, *Larix sibirica*, *Picea obovatan* (Владимирова, 2005; Калашник, 2009; Квитко, 2009; Муратова, 1993, 1994, Седельникова, 1994, 1999 а, 2001, 2002, 2003, 2004, 2008), по анализу изменчивости цитогенетических показателей у *Pinus sylvestris* L. (Дорошев, 2004; Буторина и др., 2005; Сенькевич, 2007; Черкашина, 2007), у *Betula pendula* (Калаев и др., 2009).

В настоящее время для наиболее полной оценки изменчивости видов древесных на основе морфологических, генетическим и аллозимных параметров создаются базы данных, одной из которых является база данных по внутривидовой изменчивости хвойных растений Сибири, в которой учитываются также кариологические характеристики (Князева, 2007).

Биохимические параметры определяются ферментами системы, разнообразием их изоформ, свойствами, их количеством, что, в свою очередь, определяется структурой и функционированием генома.

Изучение белкового полиморфизма показало, что он наблюдается практически в любой группе живых организмов, но его уровень сильно колеблется в зависимости от вида. Еще в 70-80 гг. 20 века многими исследователями было установлено, что высокий уровень полиморфизма характерен для многих видов, в природных популяциях каждый индивидум имеет уникальный белковый состав, хотя и существуют отдельные виды с низкой аллозимной изменчивостью (Глазко, 1993). Универсальность белкового полиморфизма приводит к постановке вопросов о популяционно-эволюционном значении белкового полиморфизма и о механизмах его поддержания.

Выявление видоспецифичных белков, изоферментного состава позволяет использовать их в качестве маркеров при изучении генетического полиморфизма. Изоферменты могут использоваться для выяснения филогенетических связей между таксонами, а также при изучении процессов микроэволюции и видообразования. По изоферментным спектрам, как по фенотипическим признакам, можно судить о генотипе особи, выявлять гомо- и гетерозигот, оценивать внутривидовое аллельное разнообразие, выявлять мутации (Ветчинникова, 2004; Политов, 2007).

Иногда наблюдают различия изменчивости у зародышей и взрослых растений, определяемой по одинаковым показателям. Это связано с дефицитом гетерозигот у зародышей, у взрослых деревьев наблюдается, как правило, равновесное состояние или слабый эксцесс гетерозигот. Повышение аллозимной гетерогенности у взрослых материнских деревьев над зародышевой их семян является типичным для хвойных. Это связано с элиминацией инбредного потомства (Политов, 2006).

Широкая доступность структурных признаков, а также волна разработок методов определения молекулярных параметров (белки, гены) породила огромное количество работ, связанных с изучением структурного полиморфизма, полиморфизма белков, генов. Промежуточный – цитологический – уровень, связывающий гены, белки с непосредственным их проявлением в фенотипических признаках, остается мало изученным, требующим большего внимания.

Множество признаков у древесных растений, находящихся на разных структурных уровнях организации, дает возможность для изучения изменчивости разных типов, а также материал для разработки методов и концепций определения полиморфизма. Суммирование результатов по разным признакам позволяет получить более целостную картину процессов, протекающих внутри популяции, учитывающих как генетическую компоненту, так и адаптивную способность особей.

### 1.3. Показатели, параметры, используемые для определения полиморфизма на разных структурных уровнях организации

С целью изучения структурного полиморфизма применяют методы биометрики. Распространенным подходом, приложимым к билатерально симметричным животным, является вычисление флуктуирующей асимметрии (например, параметры листовых пластинок, надкрыльев жесткокрылых насекомых, расположение характерных пятен на коже земноводных и др.). При определении наличия отдельных морф растений производят описание жизненных форм исследуемых особей.

Использование ДНК-маркеров открывает большие перспективы для детального картирования хромосом, идентификации генов и их клонирования. Широкое применение нашел вариант амплификации ДНК с произвольными и специфическими маркерами, с помощью которых можно быстро обнаружить вариабельность большого числа локусов по всему



геному растений (Гостимский, 2005). Благодаря использованию молекулярных маркеров, выявляющих полиморфизм непосредственно в ДНК, ученым удалось многократно увеличить точность генетических карт. Карты групп сцепления, построенные на основе молекулярных маркеров, имеются уже более чем для 30 видов растений ( Tanksley, 1995).

Использование ДНК-маркеров высоко эффективно для внутривидового сравнения разных геномов и дает возможность улавливать генетические различия между разновидностями, сортами, линиями.

В настоящее время использует большое количество маркеров, среди которых наиболее часто применяются: 1. RAPD–маркеры (Random Amplified Polymorphic DNA). Метод основан на использовании ПЦР со случайными одиночными 9-10-членными праймерами с преобладающим G/C составом (60-70%) и достаточно низкой температурой отжига. Метод не требует информации о последовательности ДНК и больших начальных количеств образца, не предполагает использование радиоактивных веществ. 2. ISSR-маркеры (Inter Simple Sequence Repeat/межмикросателлитный анализ). Метод основан на проведении ПЦР с олигонуклеотидными праймерами, состоящих из повторяющихся единиц и «якоря» на 3'- или 5'- конце, амплифицирующих фрагменты ДНК, которые находятся между двумя близкорасположенными микросателлитными последовательностями. Метод не требует знания последовательности анализируемой ДНК. 3. SCAR-маркеры (Sequence Characterized Amplified Region). Маркеры происходят от отдельных RAPD фрагментов. Метод успешно применяют для идентификации и картирования генов устойчивости к различным заболеваниям у салата, томата, пшеницы. 4. CAPS-маркеры (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences). Используются вторичные маркеры, которые фланкируются двумя маркерами, синтезируемыми на основе известного фрагмента ДНК. Маркеры обеспечивают сопряжение генетической и физической карт (Гостимский, 2005).

Одним из подходов к изучению филогенетических взаимосвязей видов и оценке их генетического разнообразия является анализ полиморфизма органелльных ДНК. Материнский тип наследования органелл и высокая эволюционная консервативность пластома предоставляют возможности для установления предковых форм аллополиплоидов с материнской стороны (Антонова, 2006).

Также для оценки межвидовой и внутривидовой вариабельности у представителей многих родов растений наиболее часто используется область спейсера ITS1-5.8S-ITS2 рибосомного оперона (Alvarez, 2003). Последовательность спейсера использовалась в таксономических и филогенетических исследованиях и у бобовых, как, например, у *Lupinus L.*, *Lotus L.*, *Lens*, комплекса *Phaseolus-Vigna* (Рыжова, 2007).

В исследованиях кариотипов мелкохромосомных видов растений в качестве дополнительного маркера используют теломеры. Считается, что интеркалярная локализация теломерных повторов является результатом теломерных слияний хромосом, произошедших в процессе эволюции. Теломерные повторы изучаются с помощью гибридизации ДНК в варианте FISH с использованием синтетических олигонуклеотидов (СССТААА), комплементарных теломерному повтору растений (Большева, 2005).

При изучении цитологических и кариологических параметров используют цитогенетические показатели, которые могут быть применены для оценки качества семян наряду с классическими методами (масса 1000 семян, энергия прорастания, полевая и лабораторная всхожести, происхождение семян).

Цитогенетические характеристики семенного потомства (изменение митотической и ядрышковой активности, частоты и спектр патологических митозов), позволяют получить объективную оценку пролиферативной системы организма (Zoldos et al., 1997), отслеживать влияние различных видов загрязнителей. Цитогенетические исследования выявляют

адаптивные возможности деревьев/популяций к действию поллютантов (Архипчук, 1995; Бессонова, 1996, Калашник, 2000; Гуськов и др., 2000).

Показателем митотической активности является митотический индекс (МИ), выражающийся в процентах. Митотический индекс без учета клеток на стадии профазы является экспресс – методом оценки пролиферативного пула. Если митотический индекс без учета клеток на стадии профазы выше контрольного, то наблюдается задержка на стадиях метафазы, анафазы – телофазы, если меньше – на стадии профазы.

Задержка клеток на стадии профазы может быть связана с повреждением хромосомного аппарата; на стадии метафазы – с повреждением веретена деления; на стадии анафазы – телофазы – свидетельствует о нарушении формирования клеточной стенки.

Расчеты различных митотических индексов и доли делящихся клеток необходимы для выявления продолжительности определенных стадий митоза, задержки делящихся клеток на какой-либо из стадий из-за повреждения цитогенетических структур клетки, вызванных воздействием загрязняющих веществ (Гелашвили, 1995).

Патологический митоз – нарушение нормального течения митоза, приводящее к возникновению хромосомных мутаций и к неравномерному распределению хромосомного материала между дочерними ядрами. Нарушения репликации хромосом часто сопровождается задержкой вступления клеток в митоз и увеличением длительности профазы. Появление мостов хромосом является следствием их фрагментации хромосом. Повреждение хромосом в области центромера приводит к отставанию целых хромосом при движении в метакинезе и при расхождении к полюсам. На стадии телофазы хромосомы с поврежденными центромерами либо отеснялись цитоплазматической перетяжкой в одно из дочерних ядер, либо образовывали добавочное микроядро (Алов, 1965).

Ядрышко является продуктом активности специализированных участков хромосом, или так называемого ядрышкового организатора, активно функционирующих в интерфазе (Челидзе, 1985). Ядрышковые организаторы хромосом как рибосомные локусы включены в механизм белкового синтеза и являются непосредственными участниками этого процесса (Дуброва, 1989). Следовательно, любое функциональное изменение белкового синтеза, зависящее от активности ядрышка, будет непосредственно отражаться на его морфологии: изменение площади поверхности, типа ядрышек, количества ядрышек на клетку. С помощью проведенных детальных исследований на разных группах организмов обоснованно применение ядрышковых характеристик в качестве чувствительного способа определения влияния антропогенных факторов на клетку (Архипчук, 1990; Архипчук и др., 1992). В биотестировании используются такие ядрышковые характеристики как тип ядрышка, площадь поверхности одиночных ядрышек, количество ядрышек в клетке (Архипчук, 1995).

Т.о., цитогенетический подход, наряду с молекулярными методами, является ценным инструментом для комплексной оценки процессов, происходящих в клетке. Более широкое изучение цитогенетического полиморфизма на разных объектах позволит связать молекулярно-генетический уровень с фенотипическим проявлением генов, а также позволит выявить индивидуальные механизмы поддержания гомеостаза у различных исследуемых организмов, что позволит в будущем снизить негативное воздействие антропогенного фактора на живые экосистемы, проводить эффективное лесовосстановление.

#### 1.4. Особенности исследования цитогенетических показателей у древесных растений

Цитогенетика - наука, основным предметом исследования которой являются хромосомы их организация, функционирование и наследование,

она возникла в начале 20 века. Цитогенетика использует методы генетики и цитологии и тесно связана с разделами этих наук — молекулярной генетикой, цитохимией, кариологией и другими (Погосянц, 1991). К методам современной цитогенетики можно отнести широкий спектр направлений исследований, начиная от кариотипирования и заканчивая молекулярной цитогенетикой, раскрывающей основные принципы строения функционирования хромосомного аппарата клетки. (<http://dic.academic.ru/dic.nsf/es/63338/%D1%86%D0%B8%D1%82%D0%BE%D0%B3%D0%B5%D0%BD%D0%B5%D1%82%D0%B8%D0%BA%D0%B0>; 286б). Цитогенетика древесных растений относится к разделу частной цитогенетики, однако исследования подобного рода широко проводятся на многих представителях покрыто- и голосеменных растений, отвечая как на частные, так и на общие теоретические вопросы современной науки.

Изучение древесных растений сопряжено с рядом трудностей. Длительная смена поколений у древесных не позволяет применять традиционные методы генетики и селекции (направленные скрещивания и анализ в следующих поколениях) и вынуждает изыскивать новые подходы к реализации программ селекции (Егоров, 2004). Крупные размеры, сложности с проращиванием семенного материала, расщепление видов на подвиды – все это накладывает некоторые ограничения на исследования древесных, но длительный рост на одной территории, возможность оценки особей внутри популяции по их взаимному расположению (краевые особи, центральные особи), высокая вариация признаков внутри и между популяциями, все это дает возможность оценки экологических факторов и генетических процессов, которые невозможно оценить в краткосрочных временных рамках. Всестороннему цитогенетическому изучению подвергаются широко распространенные древесные растения, являющиеся основными лесообразующими породами в разных географических регионах. Изучены генные и хромосомные мутации сосны обыкновенной (Муратова, Седельникова, 2004), проведен цитологический анализ

лиственницы сибирской в условиях антропогенной нарушенности мест произрастания (Муратова, 2009), проведен кариологический обзор голосеменных на основе данных хромосомных чисел растений (Муратова, Князева, 2008), изучены вариации цитогенетических показателей березы повислой (Калаев, 2009), пихты сибирской (Квитко, Муратова, 2009), проанализирована возможность применения метода выявления хромосомных нарушений в качестве индикатора степени техногенного загрязнения на хвойных растениях - лиственнице Сукачева, ели сибирской, пихте сибирской (Калашник, 2008) и анализа влияния тяжелых металлов (Белоусов и др., 2010). При анализе древесных объектов показана информативность и чувствительность цитогенетического метода (Borzan, 1996; Butorina, Evstratov, 1996; Miiller, Grill, 1996), установлен цитогенетический полиморфизм по показателям протекания митоза и ядрышковым характеристикам у проростков семян деревьев березы повислой и сосны обыкновенной (Калаев и др., 2010, Карпова, 2010, 2011). Также начинают исследовать интродуценты и декоративные виды с целью выяснения адаптивного потенциала видов и возможности их использования в насаждениях (Богданова, Буторина, 2001). Большое внимание уделяется оценке влияния деятельности человека на экологию регионов, здесь древесные растения используются в качестве тест-систем (Левина и др., 2012; Джамбетова, Реутова, 2006; Мирзоян, 2001).

Таким образом, цитогенетика как наука дает большое количество направлений и методов исследований, направленных на глубокое изучение древесных объектов и выявление факторов устойчивости, адаптации, изучения процессов внутри и межпопуляционных изменений. В частных вопросах, связанных с лесовыращиванием, цитогенетический анализ семенного материала (изучение митотической и ядрышковой активностей, частоты и спектра патологических митозов) дает возможность прогнозировать качество насаждений (Буторина, 1989а).

## 1.5. Дуб черешчатый как объект исследования

## 1.5.1. Систематическое положение дуба черешчатого

Отдел Magnoliophyta - Покрытосеменные

Класс Magnoliopsida - Двудольные

Подкласс Hamamelididae - Гамамелидиды

Порядок Fagales - Букоцветные

Семейство Fagaceae - Буковые

Род Quercus - Дуб

Вид Quercus robur L. - Дуб черешчатый (Тахтаджян, 1982).

## 1.5.2. Биология дуба черешчатого

Деревья вида дуб черешчатый (*Quercus robur* L.) - однодомные растения с простыми цельными листьями, собранными в пучок. На конце листья с тупой конечной вытянутой лопастью и с 6-7(8) парами лопастей по бокам с каждой стороны. Корневая система стержневого типа, достигающая до 5 метров в глубину, образует микоризу с базидиальными грибами (дубовик). Цветки мелкие, невзрачные, ветро-, реже насекомоопыляемые, в сережковидных соцветиях, женские соцветия сложные и представляют собой дихазий.

$$\text{♂} * \text{o P}^{\text{Ca}}_{(5-7)} \text{A}_{5-7}$$

$$\text{♀} * \text{o P}^{\text{Ca}}_{3+3} \text{G}_{(3)}$$

Плод – желудь, 13-36 мм в длину, 11-12 мм в диаметре, удлинено-яйцевидный или цилиндрический, с шипиком на вершине, покрытый тонкой деревянистой кожурой, гладкий, с хорошо выраженными продольными полосками. Желуди расположены по 1 – 5 штук вместе, заключены в бокаловидную плюску. Семя состоит из тонкой коричневой пленчатой кожуры и зародыша с двумя крупными светло-желтыми семядолями (Еленевский, 2001).

*Q. robur* - один из самых морозостойких видов этого рода, спокойно выносящий температуру до  $-30^{\circ}\text{C}$  и ниже; засухоустойчив. Ареал его заходит севернее  $60^{\circ}$  с. ш., а на востоке доходит до Урала. Характерная лесобразующая порода в зоне широколиственных лесов и лесостепи. Дуб довольно светолюбив. В благоприятных условиях растет довольно быстро. Может достигать высоты до 40 метров, толщины ствола в несколько метров. Ствол хорошо очищающийся, несущий компактную крону. При одиночном росте на открытом пространстве образует низкий толстый ствол с изогнутыми нижними ветвями; крона мощная, шатровидная. Дуб в смеси с породами, которые являются для него естественными спутниками (клен, липа, лещина), растет быстрее и образует прямоствольные, очищенные от сучьев стволы с равномерным строением древесины.

В консорции дуба черешчатого *Quercus robur* L. (на популяционном уровне) можно выделить небольшие сообщества организмов разных видов, но близких жизненных форм, связанных в своей жизнедеятельности с дубом и приуроченных к той или иной части этого растения-эдификатора. С корневой системой дуба черешчатого в дубравах южной лесостепи ассоциировано 7 видов макромицетов, из которых 4 вида (*Armillaria mellea*, *Fistulina hepatica*, *Inonotus dryadeus*, *Grifola frondoza*) обладают выраженной паразитической активностью и вызывают корневую гниль, остальные 3 вида (*Boletus luridus*, *Boletus impolitus*, *Leccinum quercinum*) являются симбиотрофами (микоризообразователями). Наиболее часто встречаются 2 вида ксилотрофных патогенов (*A. mellea*, *F. hepatica*), причем оба вида способны поражать и комлевую часть дуба (Дунаев, 2010).

По оценкам научных сотрудников природного парка «Нежеголь» при Белгородском государственном университете, стволовыми гнилями, вызываемыми наиболее опасными и распространенными патогенными макромицетами (*Ph. robustus*, *S. hirsutum*, *L. sulphureus*, *D. quersina*, *A. mellea*), в естественных дубовых древостоях южной лесостепи поражено около 10–12 % живых дубов (Дунаев, 2010).



Родиной дуба черешчатого является Европа, Северная Америка, Малая Азия. Дуб черешчатый является одной из основных лесообразующих пород в Центрально-Черноземной зоне (например Шиповский, Теллермановский леса). Представители рода *Quercus* распространены через все северное полушарие в странах Азии, Северной Америки, Европы и Африки (Axelrod, 1983) (рис. 1).

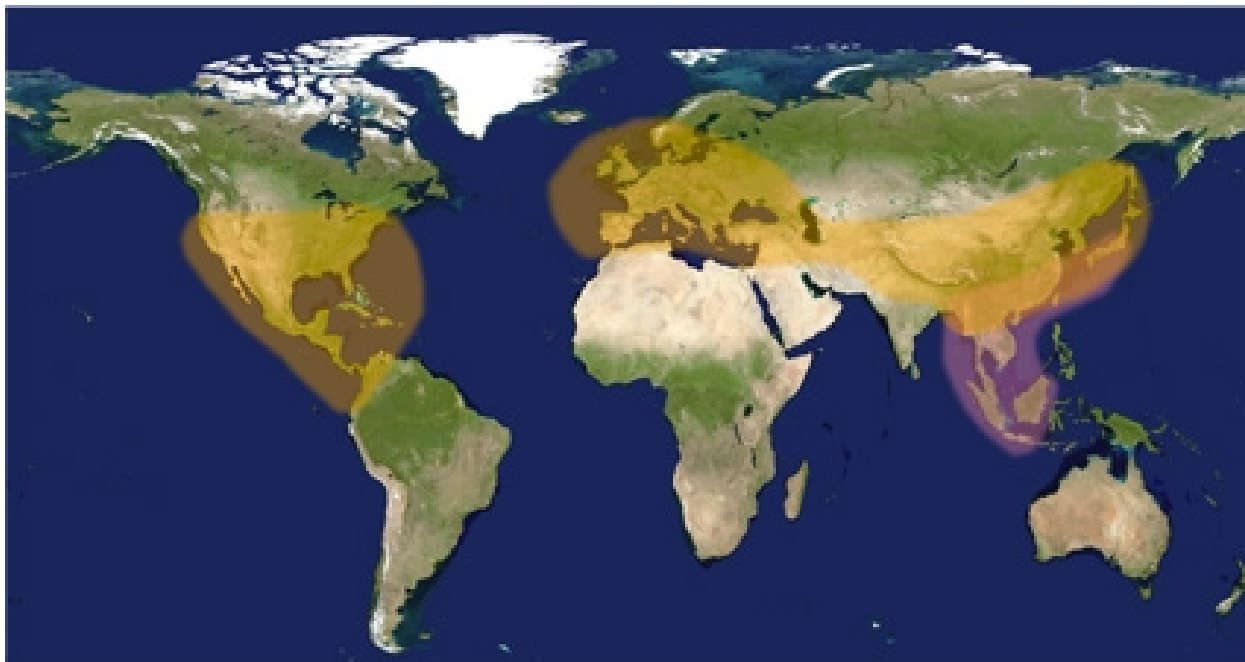


Рис. 1. Географическое распространение представителей рода *Quercus* Желтый - подрод *Euquercus*; розовый - подрод *Cyclobalanopsis* (<https://w3.pierroton.inra.fr/QuercusPortal/index.php?p=BIODIVERSITY>)

В большинстве литературных источников внутри рода насчитывают от 300 до 600 видов, более свежие данные (Valencia (2004) and Nixon (1993) для Америки; Menitsky (2005) для Азии и Flora Europaeae для Европы, Schwarz (1964)) оценивают количество видов для подрода *Euquercus* в интервале от 320 до 354 и 76 видов для подрода *Cyclobalanopsis*. Рассматривая весь род *Quercus*, количество видов на территории Америки (от 200 до 234) и Евразии (196) отличаются не сильно. Однако подрод *Cyclobalanopsis* присутствует только в Юго-

Восточной Азии, подрод *Euquercus* менее разнообразен в Евразии (120 видов), чем в Северной Америке (от 200 до 234 видов). В Европе произрастает только 22 вида, в Азии - 98. Разнообразие является самым высоким в интервале с 15 ° по 30 ° северной широты в Центральной Америке (в частности, Мексика) и Южной Азии (Китай и провинция Юньнань)

(<https://w3.pierroton.inra.fr/QuercusPortal/index.php?p=BIODIVERSITY>).

Виды рода *Quercus* могут произрастать на высоте до 4000 метров над уровнем моря в горах Гималаев (Menitsky, 2005). На всем протяжении естественного ареала представители рода приспособлены к контрастным по экологии местам обитания: от болот до пустынь, от низменности до больших высот. Виды *Quercus* демонстрируют также весьма широкое разнообразие форм от кустарников до лесных массивов. Диапазон распространения отдельных видов может варьировать от очень локального до широкого, простирающегося в континентальных масштабах. Типичными примерами чрезвычайно широкого распространения являются *Q. rubra* и *Q. alba* в Северной Америке, *Q. acutissima* и *Q. mongolica* в Азии, *Q. robur* и *Q. petraea* в Европе (<https://w3.pierroton.inra.fr/QuercusPortal/index.php?p=BIODIVERSITY>).

Дуб занимает первое место в полезном лесоразведении; превосходит многие породы по оздоровительному влиянию на окружающую среду (интенсивно выделяет кислород). Выделяется высокими эстетическими качествами, используется при создании парков, аллеиных посадок (Воробьева, 1985). Дубовые леса являются источником ценной древесины, которая по своим качествам превосходит древесину сосны, березы, бука, в дубравах заготавливается сырье для кожевенной промышленности, желуди дуба служат семенным материалом при создании культур, дубравы являются базой для пчеловодства (Бугаев, Мусиевский, 2013). Учитывая, что для выращивания леса требуется большой промежуток времени, роль человеческого труда на самых ранних

этапах лесовыращивания имеет огромное значение (Бугаев, Мусиевский, 2013). Всесторонние исследования лесных пород древесных растений позволят увеличить эффективность лесовосстановительных работ. В г. Воронеж дуб черешчатый и другие древесные, произрастающие как в городских условиях, так и в лесах, окружающих город, являются частью экологического каркаса, выполняют водоохранную, противозерозионную, природоохранную, рекреационную, и эстетическую функции, поэтому вопрос мониторинга и реабилитации природных экосистем, в том числе дубовых насаждений, стоит особенно остро (Григорьевская, 2013).

### 1.5.3. Генетика дуба черешчатого

Дуб черешчатый имеет диплоидный набор хромосом, равный 24 ( $2n=2x=24$ ) (Gadella, 1966). Триплоиды среди дуба черешчатого были обнаружены всего в нескольких случаях (Butorina, 1993; Naujoks et al., 1995; Dzialuk et al., 2007). Некоторые авторы отмечают наличие добавочной В-хромосомы ( $2n=2x=24+1B$ ) (Zoldos, 1993; Zoldos et al., 1998). Проведенные ранее разными группами исследователей анализы кариотипов родов *Quercus*, *Lithocarpus*, *Castanopsis*, *Castanea* (Mehra et al. 1972; D'Emerico et al. 1995) и *Fagus* (Ohri and Ahuja 1990, 1991) показывают, что число хромосом в семействе *Fagaceae* в целом стабильно и составляет  $2n = 24$ .

В кариотипе встречается два вида хромосом: метацентрические, субметацентрические (Wang, 1986, Буторина, 1990). Из 12 пар хромосом – 7 пар метацентрических и 5 пар субметацентрических. Вторичная перетяжка, или спутники, не были обнаружены, однако при наблюдениях за мейозом была обнаружена регулярная связь ядрышка с одной парой хромосом. Исходя из этого, можно предположить, что ядрышкообразующие районы располагаются в теломерных участках этой хромосомы (Natividade, 1937).

Мейоз происходит в конце апреля – начале мая у поздних форм и на две-три недели раньше у ранних. Впервые подробное описание мейоза при микроспорогенезе у диплоидных и триплоидных деревьев дуба черешчатого было дано Буториной (1990). После завершения мейоза образуется тетрада микроспор. Из четырех микроспор дальше развивается одна или две микроспоры (Лисичко, 1978). У дуба черешчатого митоз был изучен при образовании гаплоидного ядра в тетрадах (Буторина, 1990).

Сообщается, что содержание двухцепочечной ДНК у разных видов рода *Quercus* варьирует в интервале от 1,17 пикограмм (*Q. velutina*) до 2,00 пикограмм (*Q. coccifera* and *Q. suber*). Исследуемые виды включают представителей всех трех основных секций (12 видов из группы *Erythrobalanus* (красный дуб), 12 видов из *Lepidobalanus* (белый дуб), 4 вида из группы *Serris*). Среднее содержание двухцепочечной ДНК составило 1,81 пикограмм для группы *Serris*, 1,75 пикограмм для группы *Lepidobalanus*, и 1.56 пикограмм для группы *Erythrobalanus* (Kremer et al., 2007). Два вида дуба с максимальным размером генома *Q. coccifera* и *Q. ilex* (2,00 пикограмм) являются вечнозелеными растениями, их относят к ботанической группе подрода *Sclerophyllodrys*, в соответствии с классификацией Schwarz (1964)), но по классификации Camus они относятся к двум различным группам (*Q. ilex* входит в группу *lepidobablanus* and *Q. coccifera* – в группу *serris*). Таким образом, молекулярно-генетический анализ разделил два вечнозеленых вида дуба в различные группы рода (Manos, Steele, 1997; Xu, 2004), подтвердив ранее сделанное систематическое деление группы *Sclerophyllodrys* (Schwarz, 1964).

Генетические карты *Q. robur*. Первое поколение карт сцепления было построено с помощью двусторонней псевдо тест-кросс стратегии (Grattapaglia, Sederoff, 1994), с использованием генетических массивов, полученных случайно распределенных анонимных доминирующих маркеров (RAPDs или AFLPs), изоферментов и микроспутников.

Первая карта рода *Quercus* была опубликована в 1998 году на *Quercus robur* (Barreneche et al., 1998). Используя псевдо тест-кросс стратегию, были построены две карты из 307 маркеров. Обе карты обеспечивают 85 - 90% охват генома *Q. robur*. При разделении маркеры могут быть объединены в 12 групп сцепления, размер карты составил 893,2 сМ (для отцовской) и 921,7 сМ (для женской). Эта карта была в дальнейшем уточнена за счет включения новых SSRs (Barreneche et al., 2004) и дополнительного AFLP и STS. Модернизация продолжается до сих пор и на данный момент уже расположено 854 маркеров (271 RAPD, 457 AFLP, 10 SCAR, 59 SSR, 49 EST, 1 минисателлитных, 6 изоферментов и 1 рибосомальный маркер ДНК) ([https://w3.pierroton.inra.fr/QuercusPortal/index.php?p=GENETIC\\_MAPPING](https://w3.pierroton.inra.fr/QuercusPortal/index.php?p=GENETIC_MAPPING)).

Голландскими исследователями также была построена карта дуба черешчатого с использованием двусторонней псевдо тест-кросс стратегию (Bakker, 2001). Две родительские карты впервые были созданы на основе 18 SSR и 343 AFLP маркеров. Суммарные длины материнских и отцовских карт были соответственно равны 496 и 566 сМ. Были получены тринадцать групп сцепления (в составе 12 хромосом) и две карты могут быть частично объединены с помощью 58 "bridge" маркеров. Общая длина интегрированной карты - 659 сМ.

Немецкая карта (Gailing, 2008) была построена на основе 162 AFLP маркеров сегрегирующих в соотношении 1:1 (92 маркеров из женского родителя и 70 маркеров от отцовского) и 48 микросателлитов. В результате женская карта была составлена из 74 маркеров (49 AFLPs и 25 SSRs); мужская - из 69 маркеров (48 AFLPs и 21 SSRs). Общая протяженность женской карты было 1135,3 сМ, со средним расстоянием между маркерами около 15,3 сМ; длина мужской карты составила 938,8 сМ, со средним расстоянием между маркерами около 13,6 сМ.

Рядом авторов изучалось воздействие повышенного радиационного фона на цитогенетические показатели семенного потомства дуба

черешчатого (Буторина, 1989; Шлапакова, 1999; Калаев, 2009). Буториной с соавторами в 1989 г. было выявлено, что у проростков желудей дуба черешчатого, произрастающего в 30-км зоне Чернобыльской АЭС, возрастает количество патологий митозов, наблюдается частичная вакуолизация клеток, появляется остаточное ядрышко в метафазе – телофазе митоза, что, по мнению авторов, можно рассматривать как пуффинг хромосом из-за воздействия радиации.

Шлапакова (1999) показала значительную вариабельность митотической активности по годам у проростков семян деревьев дуба черешчатого, произрастающих в радиоактивно загрязненных насаждениях Брянского округа, и увеличение ее под действие радиации. Калаевым (2009) было показано, что цитогенетические показатели дуба черешчатого подвержены суточным колебаниям, характер их изменений может варьировать в стрессовых условиях. Автором было установлено, что изменение цитогенетических показателей дуба черешчатого в течение суток прогнозируется с помощью полиномиальных функций, а так же показано разнонаправленное влияние антропогенного загрязнения на протекание митоза и ядрышковые характеристики проростков дуба черешчатого.

Несмотря на большое количество работ, посвященных дубу черешчатому в качестве объекта исследования, изучение цитогенетического полиморфизма не проводилось, хотя подобные исследования ранее выполнялись на ряде других древесных пород: березе повислой (Карпова, 2011), сосне обыкновенной (Калаев, 2010).

## Глава 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Объекты и территории исследования

Исследования проводили на проростках желудей дуба черешчатого, собранных на 5 территориях (рис. 1), в районе 9 километра Задонского

шоссе, расположенного в 40 квартале Правобережного участкового лесничества Пригородного Воронежской области, на семенах, собранных в 2001 и 2007 гг. (рис. 1). На данной территории наблюдается интенсивное антропогенное воздействие, обусловленное загрязнением выхлопными газами автотранспорта, рекреационной нагрузкой лесонасаждения. В 2001 году сбор семян проводили с деревьев дуба черешчатого, произрастающих в близости от автомагистрали Воронеж – Москва в районе 9 км Задонского шоссе. В 2007 году на территории 9 км Задонского шоссе были выбраны две опытных площади. Первая точка располагалась непосредственно у автомагистрали, где наблюдается высокая степень загрязнения атмосферного воздуха выхлопными газами; вторая – в глубине лесного массива в удалении приблизительно на 1 км от дороги, что можно считать условно чистой территорией.

Второй опытной территорией является лесной массив вокруг отеля «Яр», 491 км автодороги Москва-Воронеж, удаленный от г. Воронеж, расположенный в 53 квартале Животиновского лесничества Учебно-Опытного лесхоза Воронежской государственной лесотехнической академии. Исследования проводили в 2012 на двух опытных площадях.

Территория БУНЦ «Вевитиново» (район поселка Маклок), расположенная в 23 и 28 квартале Сомовского лесничества (рис. 2). Данную территорию мы считаем экологически чистой территорией, так как были выполнены исследования Щетинкиным (1992), Семеновой (2009), которые показали, что нет превышения ПДК потяжелым металлам (свинец, цинк, медь, никель, хром) на всех глубинах взятия проб от 0 до 100 см. Сбор семян с контрольной территории проводился в 2008 г. с фенотипически нормальных деревьев, не поврежденных разного рода микозами и насекомыми. С каждой территории собирали около 150-200 семян.

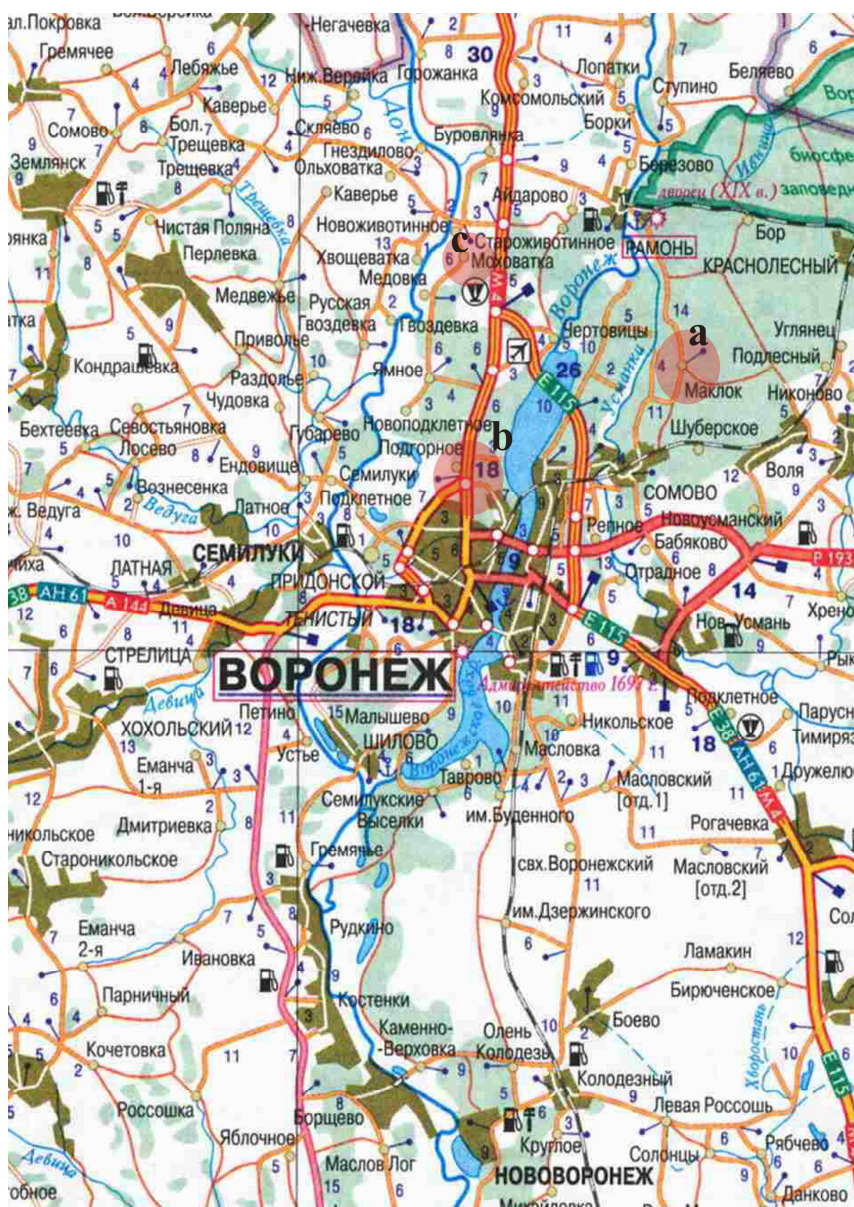


Рис. 2. Схема расположения опытных территорий  
 Обозначения: а – район БУНЦ «Веневитиново»; б – 9 км Задонского шоссе; с – 491 км автодороги Москва-Воронеж, «Яр».

## 2.2. Методы исследований

### 2.2.1. Изготовление и анализ микропрепаратов

Семена проращивались во влажном песке. Когда корешки проростков достигали 2-3 см, производилась их фиксация в смеси 96 % - ного этилового спирта и ледяной уксусной кислоты (3:1) в 22 ч (зимнее время), когда наблюдаются пики митотической активности и патологических митозов (Калаев, 2000). Материал хранили при



температуре +4°C в холодильнике. После чего корешки проростков окрашивались ацетогематоксилином, изготавливались давленные препараты по описанной ранее методике (Буторина, 2000).

Из корешков проростков было изготовлено 126 микропрепаратов (2001г.- 40 препаратов; 2007 - с 1 точки - 29; со 2 – 17; 2008 – 40 препаратов). С каждого микропрепарата анализировалось по 150 клеток для изучения ядрышковых характеристик и не менее 700 для изучения митоза. Материал просматривался с помощью светового микроскопа Laboval-4 (Carl Zeiss, Jena) при увеличении  $40 \times 1.5 \times 10$ ,  $100 \times 1.5 \times 10$ .

На каждом препарате учитывали общее количество просмотренных клеток, количество делящихся клеток, находящихся в той или иной стадии митоза, количество и тип патологических митозов. На основании полученных данных определяли митотический индекс (доля делящихся клеток, %), долю патологических митозов среди общего числа делящихся клеток (%), % распределения клеток по стадиям митоза (доля про-, мета-, ана-, телофаз). Патологические митозы классифицировали по Алову (1965). Среди ядрышковых характеристик на каждом препарате учитывали количество клеток с тем или иным типом ядрышка, с помощью насадки-микрометра измеряли диаметр ядрышка. Классификацию ядрышек проводили по Челидзе и Зацепиной (1988). По полученным данным были вычислены площади поверхности одиночных ядрышек (в  $\mu\text{м}^2$ ), частота встречаемости различных типов ядрышек (в %).

### 2.2.2. Исследование морфологии растений

Для анализа морфологических параметров семенного потомства деревьев дуба черешчатого были отобраны неповрежденные семена. Отбор проводился визуально на наличие грибковых и биотических и механических повреждений, а также путем помещения желудей в воду (всплывшие на поверхность семена не использовались для исследования).

Производилось взвешивание желудей на электрических весах (с точностью 1 мг), диаметр желудя (в самой широкой части), длину (от основания до верхушки семени) измеряли штангенциркулем (с точностью 0,1 см). Для исследуемых желудей проводилось вычисление средних значений изучаемых показателей. В семенной плантации, заложенной на территории Животиновского лесничества Учебно-Опытного лесхоза ВГЛТА, определяли физиологические параметры и особенности роста сеянцев дуба черешчатого первого года роста. Измерения проводили дважды с интервалом в месяц для определения интенсивности роста сеянцев. Для изучения особенностей роста были измерены биометрические показатели – высота и диаметр, количество листьев у сеянцев. Высоту сеянцев замеряли рулеткой от поверхности почвы до верхушечной почки (с точностью 0,5 см), диаметр определялся штангенциркулем (с точностью 0,1 см) у корневой шейки сеянцев. Было посчитано количество листьев (сильно поврежденные листья не учитывались), с помощью рулетки производился замер длины листовой пластинки (от основания до верхушки листа) и ширины листовой пластинки (в самом широком месте) (с точностью 0,5 см). Для исследуемых сеянцев проводилось вычисление средних значений изучаемых показателей. Определение групп по скорости роста осуществляли при оценке высоты и диаметра сеянцев в группе. Сеянцы с низкими значениями высоты и диаметра сеянца относили к медленнорастущей группе, сеянцы с высокими значениями – активнорастущей группе, также выделяли промежуточную группу.

### 2.2.3. Анализ содержания тяжелых металлов в почве

Сбор почвенных образцов осуществлялся на экологически «чистой» территории биологического учебно-научного центра «Веневитиново» и на опытных территориях автотрассы Воронеж-Москва: придорожный

участок, участок в глубине лесного массива. Взятие проб проводилось на глубине 10 и 30 см.

Химический состав проб почв определен на рентгенофлуоресцентном спектрометре S8 Tiger (Bruker AXS GmbH, Германия) в Центре коллективного пользования оборудованием Воронежского государственного университета.

Подготовка проб проводилась следующим образом:

Образцы почв были истерты в порошок с крупностью зерен 70-100 мкм. Затем методом квартования отобрана навеска массой 8г. Далее почвы высушили при температуре 110°C до состояния воздушно-сухой пробы. После образцы прокалили при температуре 700°C в течении 15 минут.

Подготовка проб для измерений проводилась путем прессования. Остывшая проба была смешана со связующим веществом – воском (в пропорции 4:1) и спрессована в пресс-форме диаметром 34 мм с усилием 7-8 т. Прессование производилось на прессе Herzog TP-40 (Германия). Полученные в результате прессования таблетки были проанализированы на рентгенофлуоресцентном спектрометре.

#### 2.2.4. Статистическая обработка результатов исследований

Статистическую обработку данных проводили с использованием статистического пакета статистических программ «Stadia». Процедура группировки данных и их обработка описаны в работе Кулаичева (2006).

Цитогенетические характеристики проростков дуба черешчатого сравнивали по следующим критериям: частоты встречаемости клеток с патологическими митозами — с использованием X-критерия рангов Ван-дер-Вардена, т. к. распределение этих показателей не подчиняется нормальному; 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. Морфологические характеристики семенного потомства (вес, длина, диаметр желудей) и сеянцев (высота побега, диаметр побега, количество листьев, длина, ширина листьев) дуба черешчатого сравнивали по параметрическому критерию Стьюдента.

Кластерный анализ проводили с использованием метрики нормированный Эвклид, стратегия классификации — группового соседа. При кластеризации проростков в матрицу данных вносили значения следующих цитогенетических параметров каждого из 40 проростков с данной опытной территории: митотический индекс, с учетом / без учета профаз (%), доля клеток на стадии профазы, метафазы, анафазы-телофазы митоза, доля клеток с нарушениями митоза, с учетом / без учета профаз (%), характеристики ядрышек (площадь поверхности одиночных ядрышек ( $\mu\text{м}^2$ ); доля клеток с разными типами ядрышек (%). При кластеризации сеянцев дуба черешчатого в матрицу данных вносили значения следующих морфологических показателей каждого из сеянцев с данной опытной территории: высота побега, диаметр побега, количество листьев, длина листьев, ширина листьев. Достоверность разделения на группы определяли с помощью дискриминантного анализа на основании критерия Махаланобиса. Коэффициент вариации ( $C_v$ ) считали согласно рекомендациям Лакина (1990). Высоким считается  $C_v$  выше 25 %, средним – в интервале от 10 до 25 %, низким – до 10 % (Лакин, 1990). Влияние фактора группы, выделенной кластерным анализом, на цитогенетические показатели семенного потомства определяли с использованием однофакторного дисперсионного анализа. Силу влияния вычисляли по Снедекору (в %).

### Глава 3. СОСТОЯНИЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ АТМОСФЕРЫ И ПОЧВЫ Г. ВОРОНЕЖА

#### 3.1. Атмосферное загрязнение г. Воронежа.

Суммарный годовой выброс в атмосферу загрязняющих веществ в Воронежской области составляет в настоящее время 414,5 тыс. тонн. (Овчинникова, 2008). Вклад автотранспорта в загрязнение атмосферы г. Воронежа в разные годы варьирует, но сохраняется тенденция значительного доминирования в общем загрязнении атмосферы и увеличения этой доли год от года. Так по данным городского природоохранного ведомства основной вклад в загрязнение атмосферы вносят транспортный комплекс (80%) и предприятия теплоэнергетики, химической промышленности (Джувеликян, 2010; Чубирко, 2009). Уже в более поздних исследованиях Акимовым с соавторами было показано, что в г. Воронеж вклад автотранспорта в эмиссию загрязняющих веществ превышает 90 %. Максимальное содержание вредных веществ в приземном слое атмосферы наблюдается в самые теплые месяцы года (Акимов, 2011), т.е. когда происходит цветение, оплодотворение, формирование семени у древесных и травянистых растений с непосредственным влиянием на начальные этапы эмбриогенеза, что впоследствии может стать причиной различных патологий при прорастании семян и росте новых растений. Нарушения клеточного деления в меристемах проростков дуба черешчатого, так же может быть вызвано содержащимися в почве тяжелыми металлами.

В структуре выбросов, поступающих в атмосферу, значительная доля (около 80,3 %) приходится на газообразные и жидкие загрязняющие вещества. Основные из них – диоксид серы (топливно-энергетический комплекс), диоксид азота, фенол, формальдегиды (выбросы автотранспорта, химического производства, пищевой промышленности). Вблизи автомагистралей превышен ПДК по диоксиду азота, фенолу

(Костылева, 2009; Акимов, 2011). Содержание окиси углерода в воздухе вблизи дорог превышает предельно допустимые концентрации, возрастает загрязнение пылью и водородом жилых районов (Десслер, 1981). Количество автотранспорта в городе стремительно увеличивается год от года, при этом загрязнение окружающей среды происходит при использовании автомобильного топлива низкого качества с повышенным содержанием серы, тетраэтилсвинца, неудовлетворительная организация дорожного движения, низкая система контроля состояния транспортных средств также приводят к усилению загрязняющего воздействия на окружающую среду (Потенко, 2009). В топливе новых, современных стандартов схема производства бензина исключила добавление соединений свинца и других тяжелых металлов, но повышение октанового числа происходит за счет увеличения содержания опасных органических веществ (толуол, ксилол, акролеин, ароматические углеводороды) (Шаврак 2009), при их сгорании могут образовываться канцерогены органической природы. Кроме того, в топливе имеются примеси сернистых соединений, при окислении которых образуются  $SO_2$  и  $SO_3$ , угнетающих растения. Экология города балансирует на тонкой грани между валовым выбросом загрязняющих веществ в окружающую среду и тем компенсаторным потенциалом, который сохраняется в природных экосистемах (леса, лесополосы, парки, озелененные территории).

Кроме того, на состояние биосистем могут влиять совокупность климатических факторов, рекреационная нагрузка, выбросы промышленных предприятий города, биотические факторы.

Условно природными экосистемами в границах городского округа г. Воронеж считают зеленую инфраструктуру, территория лесов в которой занимает 21800 га, из них дубрав 4500 га (Григорьевская, 2013).

### 3.2. Содержание тяжелых металлов в почве на территориях исследования

Содержание тяжелых металлов в почвенных образцах опытных и контрольной территорий, находящихся в пригороде Воронежа и Воронежской области представлен в таблице 1. Во всех исследованных нами почвенных образцах встречается широкий спектр химических элементов, включая металлы с токсическим действием на биосистемы - медь, цинк, никель, стронций. На экологически «чистой» территории спектр обнаруженных элементов уже, чем на опытных. Проведенный анализ установил, что при взятии проб на придорожной территории в зоне автомагистрали Воронеж – Москва зафиксировано увеличение содержания марганца, однако даже для этой зоны превышения ПДК (ПДК для серых-лесных почв по хрому – 6,0 мг/кг, сурьме – 4,5 мг/кг, никелю – 20 мг/кг (ГН 2.1.7.2041-06)) по токсичным химическим элементам в почве не выявлено. На всех территориях встречаются серые-лесные почвы, поэтому содержание элементов во всех почвенных образцах должно находиться примерно на одинаковом уровне, различия же могут быть вызваны локальными экологическими особенностями, а также возможным привносом элементов из антропогенных источников. Отсутствие превышения уровня ПДК и существенных изменений элементного состава на изучаемых территориях может свидетельствовать, что почвы не являются основным накопителем токсичных ионов, а основным фактором, влияющим на развитие растений, по-видимому, является загрязнение атмосферы.

Содержание тяжелых металлов в почвенных образцов, взятых на  
опытных территориях

Химический элемент	Расчётная концентрация, PPM					
	Опытные территории					
	1	2	3	4	5	6
Cr	0,081	0,098	0,073	0,0864	0,069	0,098
Mn	0,722	0,574	0,721	0,723	0,648	0,739
Ni	0,034	0,034	0,025	0,032	0,029	0
Cu	0,04	0,038	0,03	0,033	0,028	0
Zn	0,0682	0,0523	0,0551	0,0522	0,052	0,071
As	0,016	0	0	0	0	0
Rb	0,0415	0,0385	0,0298	0,0334	0,019	0,053
Sb	0,0446	0,0359	0,0351	0,0391	0,0373	0,07
Zr	0,162	0,13	0,0717	0,105	0,0508	0,117
Ru	0,046	0,062	0,036	0,056	0	0
Nb	0	0	0	0	0,0856	0
Ba	0,082	0,19	0,18	0,21	0,007	0,16
Br	0	0	0	0	0,2	0
Pd	0,15	0	0	0	0	0

Обозначения: 1 - В глубине леса автотрассы Воронеж-Москва, 10 см;  
2 - В глубине леса автотрассы Воронеж-Москва, 30 см; 3 - Придорожный участок автотрассы Воронеж-Москва, 10 см; 4 - Придорожный участок автотрассы Воронеж-Москва, 30 см; 5 – Экологически «чистая» территория, 10 см; 6 – Экологически «чистая» территория, 30см



Глава 4. ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СЕМЕННОГО ПОТОМСТВА ДЕРЕВЬЕВ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО

4.1. Митотическая активность семенного потомства деревьев дуба черешчатого, произрастающих на территориях с разным уровнем антропогенного загрязнения

Нами были изучены и зафиксированы стадии митоза, протекающие без нарушений (Рис. 3), и патологические митозы, проявляющиеся в появлении клеток с отставаниями хромосом в метафазе, анафазе митоза, мостов в анафазе, агглютинаций хромосом и других нарушений митотического и хромосомного аппаратов клетки (рис. 4).

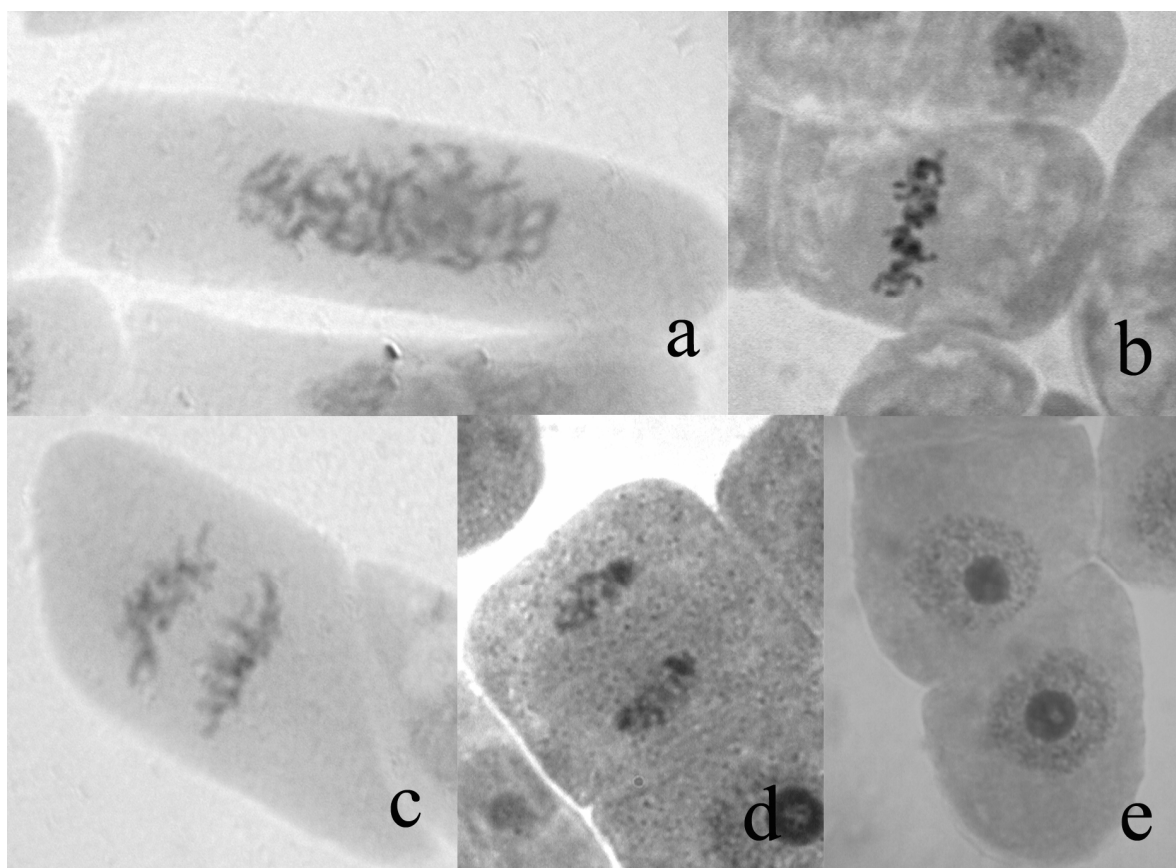


Рис. 3 – Митоз в норме в клетках корневой меристемы проростков семенного потомства деревьев дуба черешчатого (*Quercus robur* L.)

Обозначения:

а – профаза митоза; b – метафаза митоза; с – анафаза митоза; d – телофаза митоза; e – интерфаза.

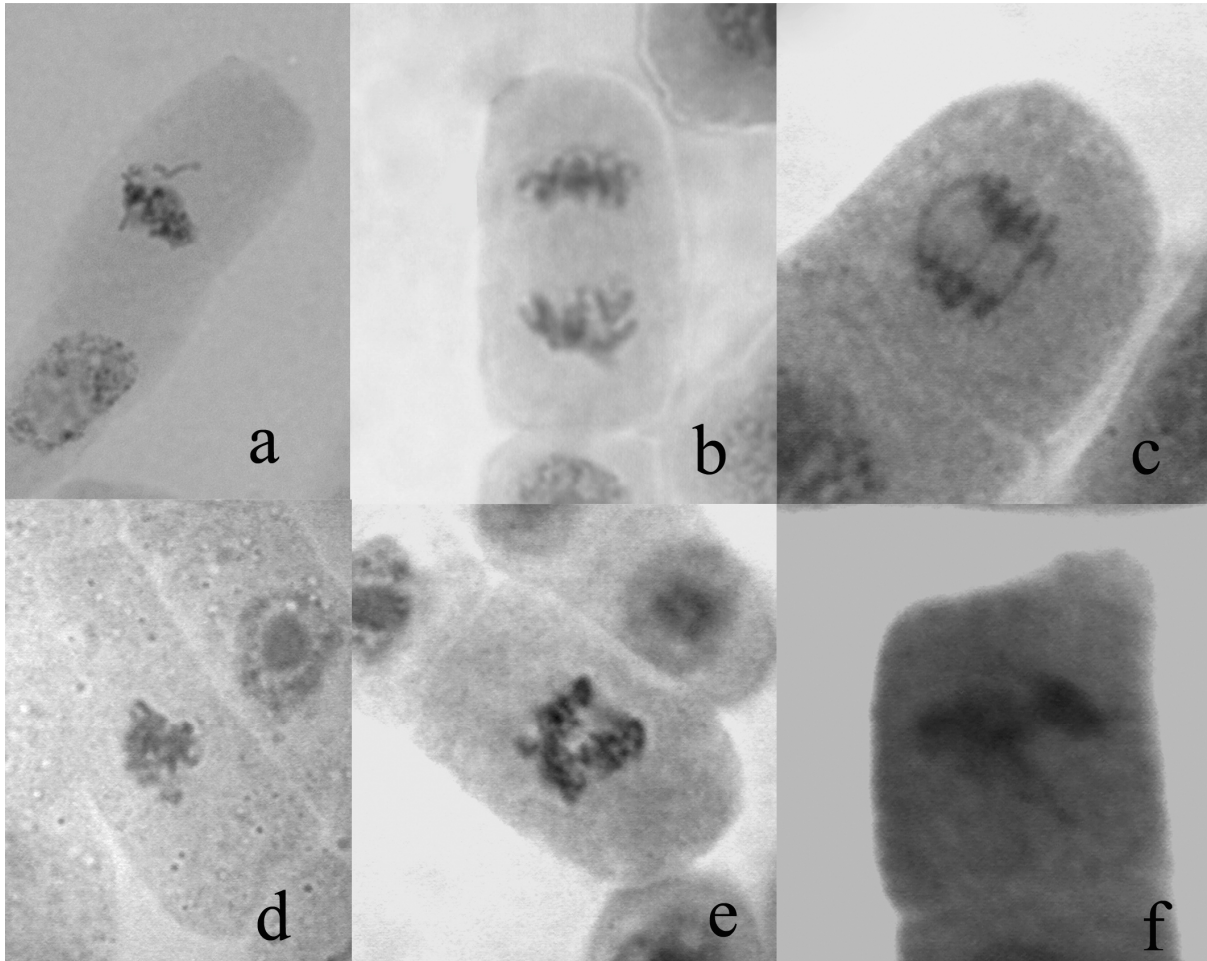


Рис.4. Нарушение митотического деления в клетках корневой меристемы проростков семенного потомства деревьев дуба черешчатого (*Quercus robur* L.). Обозначения: а – отставание хромосом в метакинезе; б – отставание хромосом в анафазе; с – мосты в анафазе; d – агглютинация хромосом; е – асимметричный митоз; f – трехполюсный митоз.

Полученные в ходе исследований 2001, 2007, 2008 г. цитогенетические показатели семенного потомства дуба черешчатого представлены в таблице 2.

У семенного потомства деревьев дуба черешчатого, произрастающих на территории вблизи к автомагистрали Воронеж – Москва, в опыте 2001 года митотический индекс составил  $7,7 \pm 0,4$  %, митотический индекс, подсчитанный без учета профазных клеток -  $5,9 \pm 1,2$  %. Доля клеток на стадиях профазы, метафазы, анафазы-телофазы соответственно составила:  $36,1 \pm 2,0$  % (различия с контролем достоверны ( $P < 0,001$ ));  $20,9 \pm 1,2$  %

(различия с контролем достоверны ( $P < 0,01$ ));  $43,0 \pm 1,5$  % (различия с контролем достоверны ( $P < 0,001$ )).

Таблица 2

Цитогенетические показатели семенного потомства деревьев дуба черешчатого, произрастающих на антропогенно загрязненной и экологически чистой территориях.

Цитогенетические показатели	Районы исследований			
	9 км Задонского шоссе 2001 г.	9 км Задонского шоссе 2007 г. точка в глубине леса	9 км Задонского шоссе 2007 г. точка у дороги	Усманский бор (контроль) 2008 г.
	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$
Митотический индекс, %	7,7±0,4**	7,5±0,3***	8,4±0,3***	10,5±0,7
Митотический индекс, подсчитанный без учета профаз, %	5,9±1,2	5,1±0,3	5,2±0,3**	4,8±0,2
Доля профаз, %	36,1±2,0***	31,8±3,8***	38,3±2,6***	51,4±1,8
Доля метафаз, %	20,9±1,2**	27,5±1,9***	20,5±1,1**	16,4±0,8
Доля анафаз, телофаз, %	43,0±1,5***	40,7±1,3**	41,2±2,0**	32,9±1,5
Патологии митоза, %	12,6±1,5***	11,3±1,3***	11,6±1,0***	4,3±0,4
Патологии митоза, подсчитанные без учета профаз, %	19,3±1,1***	16,0±2,2***	19,1±1,6***	8,9±0,8

Обозначения: \*\* - различия с контролем достоверны  $P < 0,01$ ;  
\*\*\* - различия с контролем достоверны  $P < 0,001$ .

Доля клеток с патологиями митоза -  $12,6 \pm 1,5$  % (различия с контролем достоверны ( $P < 0,001$ )); патологии митоза без учета клеток на стадии профазы -  $19,3 \pm 1,1$  % (различия с контролем достоверны ( $P < 0,001$ )).

Спектр патологий митоза в клетка меристемы проростков семенного потомства дуба черешчатого, произрастающего вблизи трассы Воронеж-Москва (2001г.) представлен на рис. 5.

В спектре патологий митоза преобладают такие нарушения как отставание хромосом в метакинезе, отставание хромосом в анафазе, а также мосты в анафазе. Меньшую долю в спектре нарушений занимают агглютинация хромосом и асимметрический митоз.

В 2007 году, в районе 9 км Задонского шоссе, исследования проводились на двух опытных территориях: 1я - прилегающая к автомагистрали, 2я - в глубине лесного массива примерно в 1 километре удаления от дороги.

Пространственное расположение данных территорий позволило оценить влияние выбросов автотранспорта на семенное потомство деревьев дуба черешчатого, произрастающих на территории около автомагистрали.

Около автотрассы, в отличие от территории в глубине лесного массива, наблюдалось возрастание митотического индекса ( $8,4 \pm 0,3 \%$  и  $7,5 \pm 0,3 \%$ , соответственно (различия достоверны ( $P < 0,05$ ))). Это может свидетельствовать о стимуляции пролиферативных процессов поллютантами, содержащимися в выхлопных газах автотранспорта. Делящаяся ткань компенсирует потерю клеток, вызванную нарушениями митоза, большим количеством вновь созданных. Митотический индекс, рассчитанный без учета профазных клеток, увеличился на загрязненной территории, однако роста числа клеток на стадии метафазы, как указано выше, не обнаружено. Это подтверждает предположение о возрастании общего числа делений, а не только изменения времени прохождения клетками стадий митоза из-за повреждений и работы систем репарации.

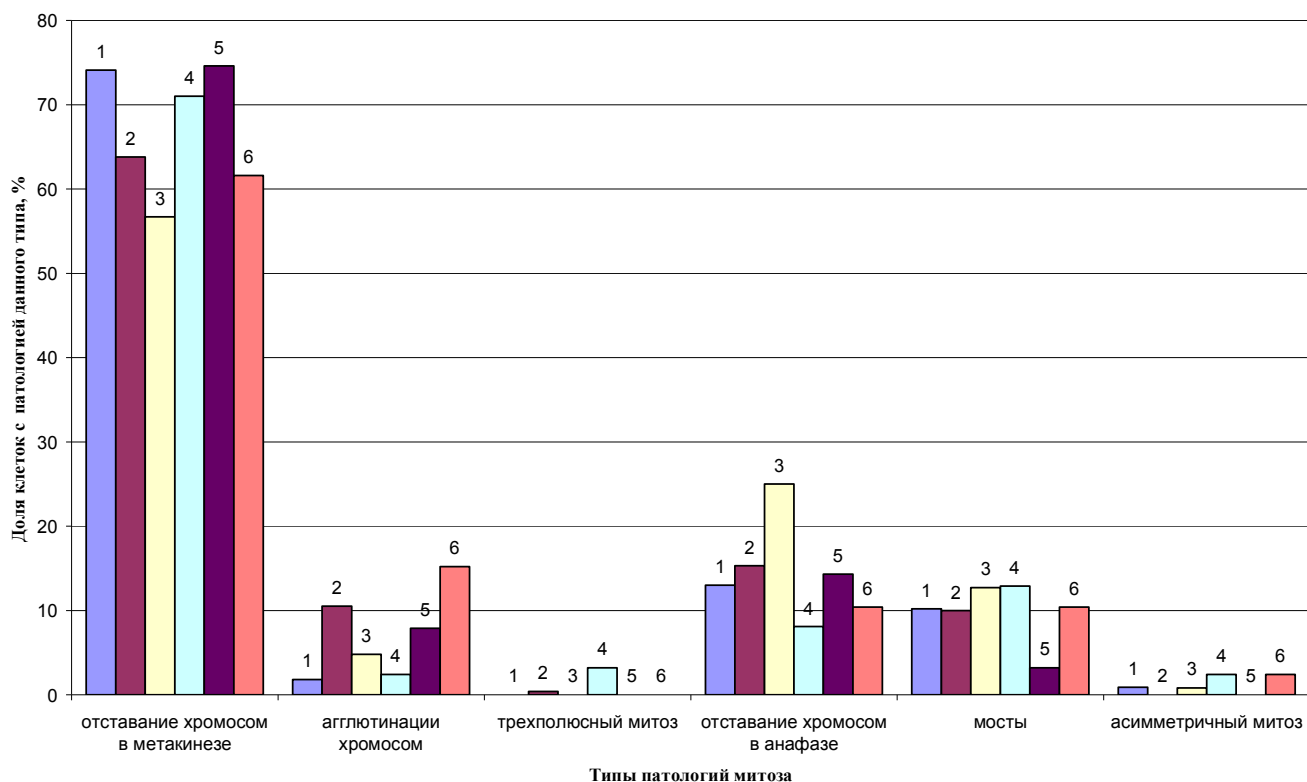


Рис. 5. Спектр патологий митоза в корневой меристеме проростков семенного потомства деревьев дуба черешчатого на опытных территориях. Обозначения: 1 - территория, в глубине лесного массива 9 км Задонского шоссе, 2007 г.; 2 – территория, вблизи автомагистрали 9 км Задонского шоссе, 2007 г.; 3 – территория 9 км Задонского шоссе, 2001 г.; 4 – территория БУНЦ «Веневитиново» (вблизи поселка Маклок) в 2008 г.; 5 – территория в глубине лесного массива в районе 491 км автотрассы Москва-Воронеж, 2012 г.; 6 - территория вблизи дороги 491 км автотрассы Москва-Воронеж; в 2012 г.

На территории, прилегающей к автомагистрали, по сравнению с удаленной территорией, увеличивалась дисперсия показателя «митотический индекс» (3,4 и 1,7 соответственно), что свидетельствовало о генетической неоднородности семенного потомства дуба черешчатого по данному критерию. Однако для других изучаемых показателей значение дисперсии на территории у дороги снижалось.

В клетках корешков проростков желудей, собранных около автотрассы, происходило увеличение числа патологий митоза, подсчитанных без учета профаз, по сравнению с территорией, удаленной от дороги ( $19,1 \pm 1,6\%$ ;  $16,0 \pm 2,2\%$  соответственно ( $P < 0,05$ )) (рис. 6).

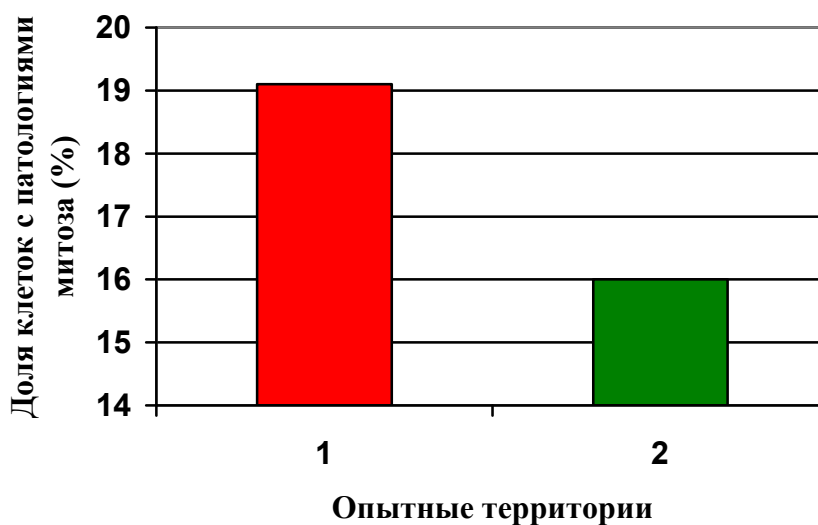


Рис. 6. Частота встречаемости патологий митоза в корневой меристеме проростков желудей дуба черешчатого, собранных с деревьев, произрастающих на опытных территориях в районе 9 км Задонского шоссе (2007 г. исследования). Обозначения: 1 – территория около автомагистрали; 2 – территория в глубине лесного массива.

Как в глубине лесного массива, так и у автомагистрали, чаще всего в спектре патологий встречались отставания хромосом в метакинезе (63,8 % - у дороги; 78,1 % - в глубине леса), мосты в анафазе (10,0 % - у дороги; 10,2 % - в глубине леса) и отставание хромосом в анафазе (15,3 % - у дороги; 13,0 % - в глубине леса), возможен асинхронный митоз (0,4 % - у дороги; 0,9 % - в глубине леса). Вблизи автодороги происходило увеличение числа клеток с агглютинацией хромосом до 10,5 % (в глубине леса - 1,9 %), также отмечался трехполосный митоз (рис. 5).

Ранее было показано расширение спектра нарушений митоза на антропогенно загрязненных территориях (Буторина, 2000). Преобладание в спектре нарушений отставаний хромосом свидетельствует о подавлении работы системы репарации повреждений генетического материала (Калаев, 2000) у семенного потомства дуба под воздействием выхлопных газов автотранспорта. На территории, прилегающей к автомагистрали, возрастала доля клеток на стадии профазы до  $37,7 \pm 2,6$  % (в лесу –  $31,8 \pm$

3,8 % ( $P < 0,05$ )), что было обусловлено возникшими хромосомными нарушениями, которые задерживали переход клеток на следующие стадии митотического деления, и запуском системы checkpoint-проверки целостности генетического материала, увеличивающей время деления. Уменьшение доли метафаз на территории у дороги ( $P < 0,001$ ) было связано с увеличением доли клеток на стадии профазы. Изменения времени прохождения клетками стадий анафазы-телофазы митоза не было выявлено.

В качестве экологически чистой территории был выбран район БУНЦ «Веневитиново» вблизи поселка Маклок. У семенного потомства, собранного с этой территории в 2008 году, значения митотических показателей отличаются от таковых у проростков семян дуба черешчатого, произрастающих на территориях 9 км Задонского шоссе.

Митотический индекс составил  $10,5 \pm 0,7$  %, митотический индекс, подсчитанный без учета профазных клеток, -  $4,8 \pm 0,2$  %. Доля клеток на стадиях профазы, метафазы, анафазы-телофазы соответственно составила:  $51,4 \pm 1,8$  %;  $16,4 \pm 0,8$  %;  $32,9 \pm 1,5$  %. Доля клеток с патологиями митоза -  $4,3 \pm 0,4$ %; патологии митоза без учета клеток на стадии профазы -  $8,9 \pm 0,8$  %.

Спектр патологий митоза в клетках семенного потомства дуба черешчатого, произрастающего на территории БУНЦ «Веневитиново» (вблизи поселка Маклок) в 2008г. представлен на рис. 5.

Основную долю в спектре патологий митоза на экологически чистой территории занимают отставания хромосом в метакинезе (71%), в спектре присутствуют отставания хромосом в анафазе (8,1%) и мосты в анафазе (12,9%). Незначительными долями представлены агглютинации (2,4%), асимметрический митоз (2,4%) и трехполюсный митоз (3,2%).

Сравнивая полученные показатели по разным территориям, можно отметить, что митотический индекс, подсчитанный как с учетом, так и без учета профазных клеток, на территории, прилегающей к автомагистрали

Воронеж – Москва, в условиях опыта разных лет находится на определенном уровне (2001 -  $7,7 \pm 0,4$  %; 2007 в глубине леса -  $7,5 \pm 0,3$  %; 2007 у дороги –  $8,4 \pm 0,3$  %). Это может свидетельствовать о стабильности гомеостаза развития организма и устоявшейся системы адаптации к антропогенному воздействию. Однако на экологически чистой территории митотический индекс, подсчитанный без учета профазных клеток ниже, чем на опытных территориях (контроль –  $4,8 \pm 0,2$  % , опыт 2001 –  $5,9 \pm 1,2$  %; 2007 (лес) –  $5,1 \pm 0,3$  %; (дорога) –  $5,2 \pm 0,3$  %). Это может являться следствием задержки клеток на стадии профазы. Действительно, в контроле наблюдается достоверное увеличение доли клеток на стадии профазы (для всех опытных территорий  $P < 0,001$ ). На экологически чистой территории доли клеток на стадиях метафазы (контроль –  $16,4 \pm 0,8$  % , опыт 2001 –  $20,9 \pm 1,2$  %; 2007 (лес) –  $27,5 \pm 1,9$  %; (дорога) –  $20,5 \pm 1,1$  %) и анафаз – телофазы ниже (контроль –  $32,9 \pm 1,5$  % , опыт 2001 –  $43,0 \pm 1,5$  %; 2007 (лес) –  $40,7 \pm 1,3$  %; (дорога) –  $41,2 \pm 2,0$  %) (в 2007 г. у дороги различия с контролем достоверны ( $P < 0,001$ ), 2007 в лесу и 2001 г. различия с контролем достоверны ( $P < 0,01$ )). Задержка клеток на стадии метафазы в опыте может свидетельствовать о нарушениях веретена деления, задержка на стадиях анафазы–телофазы – о нарушении цитотомии (Алов, 1965).

На фоне неравномерного прохождения клетками стадий митоза наблюдается значительный уровень патологий митоза (патологии митоза, подсчитанные без учета профаз: контроль –  $4,3 \pm 0,4$  % , опыт 2001 –  $12,6 \pm 1,5$  % (различия с контролем достоверны ( $P < 0,001$ )); 2007 (лес) –  $11,3 \pm 1,3$  % (различия с контролем достоверны ( $P < 0,01$ )); (дорога) –  $11,6 \pm 1,0$  % (различия с контролем достоверны ( $P < 0,001$ )).

Т.о., растения, произрастающие на территории около автомагистрали испытывают сильное стрессовое (техногенное) воздействие, которое угнетает митотическую активность клеток, а также негативно влияет на митотический и хромосомный аппараты растения.



В опыте 2012 года на территории, удаленной от городской черты, подобно опыту 2007 г. было проведено исследование двух опытных территорий, на которых произрастали деревья дуба черешчатого, выделенных по их расположению относительно автодороги: у автомагистрали и в глубине лесного массива. Анализ цитогенетических параметров на данных опытных территориях позволит оценить влияние автотранспорта, а также проверить ранее сделанные выводы в опыте 2007 года по данному вопросу. Полученные данные по цитогенетическим параметрам (2012 г.) представлены в таблице 3.

Таблица 3

Цитогенетические показатели семенного потомства деревьев дуба черешчатого, произрастающих на территории 491 км автотрассы Москва-Воронеж.

Цитогенетические показатели, %	Точки исследований	
	491 км автотрассы Москва - Воронеж, точка в глубине лесного массива (ЯР 2012)	491 км автотрассы Москва - Воронеж, точка у автомагистрали (ЯР 2012)
	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$
Митотический индекс	6,8 ± 0,9	7,2 ± 0,9
Митотический индекс, подсчитанный без учета профаз	3,6 ± 0,3 **	3,9 ± 0,6 **
Доля профаз	40,2 ± 4,8	47,4 ± 3,8
Доля метафаз	23,1 ± 2,2	22,1 ± 2,9
Доля анафаз, телофаз	36,9 ± 3,4 *	30,6 ± 2,1 *
Патологии митоза	8,9 ± 1,1 *	13,1 ± 1,5 *
Патологии митоза, подсчитанные без учета профаз	14,1 ± 1,2 ***	24,3 ± 2,5 ***

Обозначения: \* - различия с контролем (БУНЦ «Веневитиново») достоверны  $P < 0,05$ ; \*\* - различия с контролем достоверны  $P < 0,01$ ; \*\*\* - различия с контролем достоверны  $P < 0,001$ .

На опытной территории, около отеля «Яр», прилегающей к автомагистрали Воронеж – Москва, происходит увеличение митотической активности, в сравнении с территорией в глубине лесного массива (у автомагистрали митотический индекс составил  $7,2 \pm 0,9$  %, митотический индекс, подсчитанный без учета профазных клеток, –  $4,0 \pm 0,6$  %; в глубине лесного массива митотический индекс –  $6,8 \pm 0,9$  %, митотический индекс, подсчитанный без учета профазных клеток, –  $3,6 \pm 0,3$  %.), это может свидетельствовать об активации пролиферативных процессов в ответ на воздействие поллютантов.

Отмечается высокая доля клеток с патологическими митозами (у автодороги - патологий митоза –  $13,1 \pm 1,5$  %; патологии митоза, подсчитанные без учета клеток на стадии профазы, –  $24,3 \pm 2,5$  %; в глубине лесного массива - патологии митоза составили  $8,9 \pm 1,1$  %; патологии митоза, подсчитанные без учета клеток на стадии профазы, –  $14,1 \pm 1,2$  % (различия достоверны ( $P < 0,05$  и  $P < 0,001$ ) соответственно)).

Воздействие автотранспорта также проявляется в снижении доли клеток на стадиях ана-телофазы митоза, увеличении доли клеток на стадии профазы, по сравнению с данными по лесному массиву, что может свидетельствовать об активации систем репарации клетки.

Спектр патологий митоза в клетках меристемы проростков семенного потомства дуба черешчатого, произрастающего вблизи трассы Воронеж-Москва; 2012г. представлен на рис. 5. В спектре патологий митоза преобладают отставание хромосом в метакинезе (61,6 %), агглютинация хромосом (15,2 %). Меньшую долю в спектре нарушений занимают отставание хромосом в анафазе (10,4 %), а также мосты в анафазе (10,4 %) и асимметричный митоз (2,4 %).

Спектр патологий митоза в клетках меристемы проростков семенного потомства деревьев дуба черешчатого, произрастающего в глубине лесного массива района 491 км автомагистрали Воронеж-Москва, в 2012г. представлен на рис. 5.

В спектре патологий митоза преобладает отставание хромосом в метакинезе (74,6 %). Меньшую долю в спектре нарушений занимают отставание хромосом в анафазе (14,3 %), агглютинация хромосом (7,9 %).

Таким образом, на территории вблизи автомагистрали происходит расширение спектра патологий митоза и увеличение клеток с агглютинациями хромосом, что подтверждает ранее показанные данные по расширению спектра патологий на антропогенно загрязненных территориях (Буторина, 2000).

При сравнении исследуемых показателей семенного потомства с разных территорий (9 км Задонского шоссе, 491 км автомагистрали Москва-Воронеж, БУНЦ «Веневитиново») выявляется общая закономерность: снижение митотической активности по сравнению с контрольной территорией и увеличение доли клеток с патологическими митозами. Сравнение данных по 2012 г. с результатами опыта 2007 г. показало общую тенденцию поведения цитогенетических показателей под воздействием автотранспорта. У автодороги наблюдается увеличение митотической активности, возрастание доли профаз, что может свидетельствовать об активации пролиферации и работы checkpoint – систем и поддержании целостности генетического материала в ответ на возникающие повреждения в ходе митотического деления. Отмечено возрастание патологий митоза, в опыте 2012 г. разница между опытными точками по этому показателю сильнее выражена, что может свидетельствовать об эффекте накопления нарушений и о возрастающей степени воздействия автотранспорта.

Более ранние исследования цитогенетических показателей семенного потомства деревьев дуба черешчатого в 1996, 1998 гг. на территории 9 км Задонского шоссе (Калаев, 2000) показали возрастание митотической активности, по сравнению с контрольной территорией. Автор объясняет этот факт активирующим воздействием поллютантов на клеточное деление.

Если учесть то, что в нашем исследовании митотическая активность на загрязненной территории наоборот снизилась по сравнению с 1996, 1998 г., то это может свидетельствовать о разнообразии механизмов адаптации к меняющимся условиям окружающей среды. В одном случае – это увеличение клеточного деления, компенсирующего повреждения количеством вновь образовавшихся клеток, в другом – активация систем репараций, направленных на исправление имеющихся нарушений.

Негативное антропогенное воздействие на растительные объекты были также показаны в работе Шашурина и Журавской (2007). На одуванчике рогоносном показали, что с повышением запыленности воздуха снижается средняя масса семян и митотический индекс. Воздействие техногенного стресса было исследовано на органном уровне. В работе Маракеева с соавторами (2006) было установлено, что при высоком уровне загрязнения воздуха площадь листовой пластинки снижается, и наоборот для всех изученных видов (береза повислая, липа сердцевидная, тополь черный) максимальная площадь листьев наблюдалась в парках с низким уровнем загрязнения воздуха. Также было показано, что в центральной части парка площадь листовой пластинки у деревьев была больше на 15% больше, чем на окраине. Наши исследования митотической активности на территориях в глубине лесного массива и вблизи автомагистрали в опытах 2007 и 2012 гг. показали, что около дороги митотический индекс увеличивается, но на всех опытных территориях митотическая активность ниже, чем на экологически чистой территории.

#### 4.2. Ядрышковая активность семенного потомства деревьев дуба черешчатого, произрастающих на территориях с разной степенью антропогенной нагрузки

На обследованных территориях отмечались ядрышки типа «кора-сердцевина», «кора-сердцевина с вакуолью», компактное, вакуолизированное ядрышки (рис. 7).

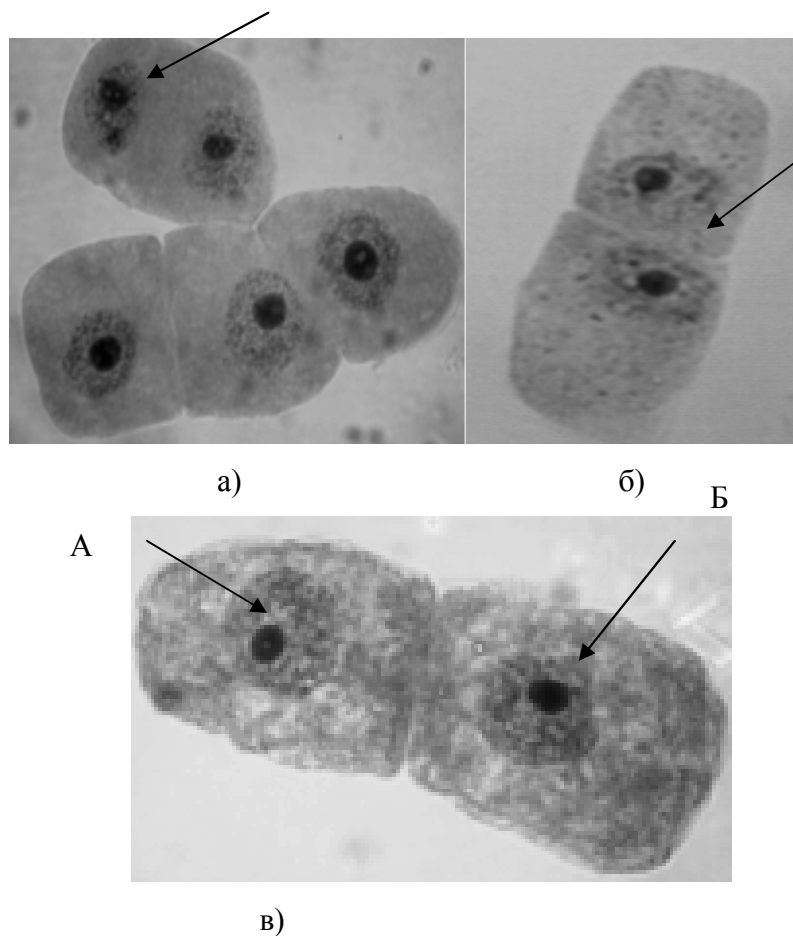


Рис. 7. Типы ядрышек в клетках апикальной меристемы проростков желудей дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) на обследованных территориях.

Обозначения: а) вакуолизированное ядрышко; б) ядрышко типа «кора-сердцевина»; в) А – ядрышко типа «кора-сердцевина с вакуолью»; Б – компактное ядрышко

Показатели ядрышковой активности семенного потомства дуба черешчатого, полученные в ходе исследований 2001, 2007, 2008 г., представлены в таблице 4.

Характеристика ядрышкового аппарата корневой меристемы семенного потомства деревьев дуба черешчатого, произрастающих на территориях с разным уровнем антропогенного загрязнения

Ядрышковые характеристики	Районы исследований			
	9 км Задонского шоссе 2001 г. $\bar{x} \pm s_x$	9 км Задонского шоссе 2007 г. точка в глубине леса $\bar{x} \pm s_x$	9 км Задонского шоссе 2007 г. точка у дороги $\bar{x} \pm s_x$	БУНЦ «Веневитиново» (экологически чистая территория) 2008 г. $\bar{x} \pm s_x$
Площадь поверхности ядрышек типа «кора-сердцевина», мкм <sup>2</sup>	75,2±1,3***	65,5±3,6***	65,0±2,7***	87,0±1,8
Площадь поверхности ядрышек типа «кора-сердцевина с вакуолью», мкм <sup>2</sup>	97,5±2,0**	79,7±3,6***	86,8±3,0***	106,9±1,9
Площадь поверхности вакуолизированных ядрышек, мкм <sup>2</sup>	78,2±3,0	52,2±13,2	61,0±6,7	95,0±10,8
Площадь поверхности компактных ядрышек, мкм <sup>2</sup>	56,0±8,6***	43,3±5,3*	39,6±3,7	59,7±2,6
Площадь поверхности одиночных ядрышек, мкм <sup>2</sup>	89,6±1,5***	75,6±3,7***	82,4±2,9***	99,5±2,0
Доля клеток с ядрышками типа «кора-сердцевина», %	34,4±2,0	27,7±3,3*	19,3±2,0***	38,9±2,9
Доля клеток с ядрышками типа «кора-сердцевина с вакуолью», %	63,3±2,0	71,1±3,5*	78,9±2,3***	59,9±2,9
Доля клеток с вакуолизированными ядрышками, %	1,0±0,2*	0,6±0,2	3,6±2,7	0,4±0,1
Доля клеток с компактными ядрышками, %	0,3±0,2	0,7±0,2	2,6±1,7	0,6±0,1

Обозначения: \* - различия с контролем достоверны (P < 0,05);

\*\* - различия с контролем достоверны (P < 0,01);

\*\*\* - различия с контролем достоверны (P < 0,001).

В 2007 г. исследования было выявлено, что на опытной территории вблизи автомагистрали отмечается рост площади поверхности одиночных ядрышек, по сравнению с проростками желудей деревьев, произрастающих на отдаленной территории ( $82,4 \pm 2,9$  мкм<sup>2</sup> и  $75,6 \pm 3,7$  мкм<sup>2</sup>, соответственно (различия достоверны ( $P < 0,05$ )) (рис. 8).

Это может быть объяснено усилением метаболической активности в клетках проростков желудей под воздействием загрязнения, вызванного выхлопными газами автотранспорта.

В сравнении с территорией в глубине лесного массива, вблизи автомагистрали у проростков желудей происходит увеличение площади поверхности умеренно активных ядрышек «кора-сердцевина вакуолизированные» (у автомагистрали -  $86,8 \pm 3,0$  мкм<sup>2</sup>; в глубине лесного массива -  $79,7 \pm 3,6$  мкм<sup>2</sup>, ( $P < 0,05$ )) (рис. 9) и вакуолизированных ядрышек (у автомагистрали -  $61,0 \pm 6,7$  мкм<sup>2</sup>; в глубине лесного массива -  $52,2 \pm 13,2$  мкм<sup>2</sup>).

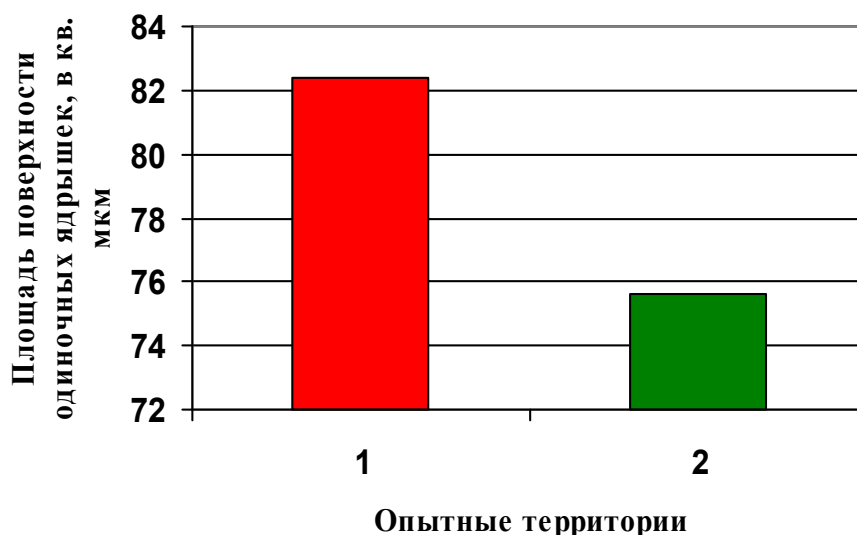


Рис. 8. Площадь поверхности одиночных ядрышек в клетках апикальной меристемы проростков деревьев дуба черешчатого, произрастающих на опытных площадях в районе 9 км Задонского шоссе (2007 г. исследования), (в мкм<sup>2</sup>). Обозначения: 1 – территория около автомагистрали; 2 – территория в глубине лесного массива.

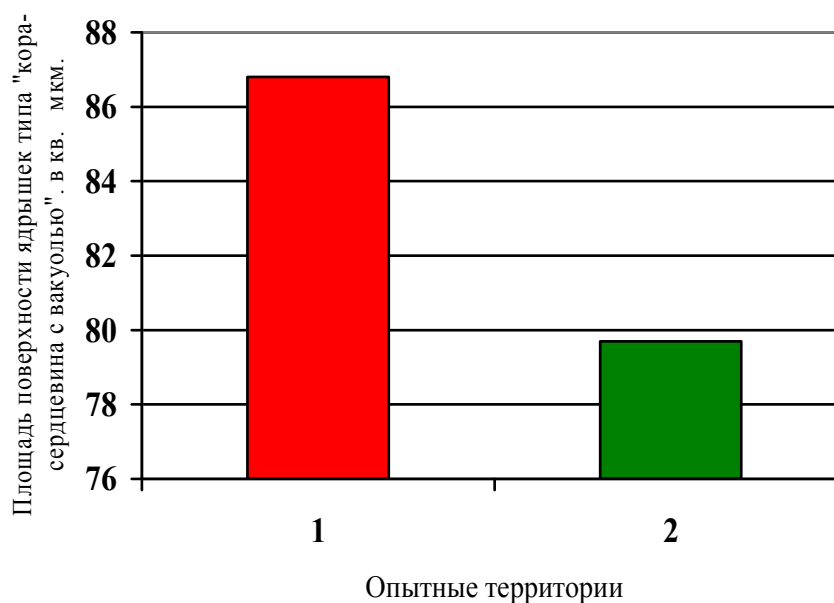


Рис. 9. Площадь поверхности ядрышек типа «кора-сердцевина вакуолизированная» (в  $\text{мкм}^2$ ) в клетках апикальной меристемы проростков деревьев дуба черешчатого, произрастающих на опытных площадях в районе 9 км Задонского шоссе (2007 г. исследования). Обозначения: 1 – территория около автомагистрали; 2 – территория в глубине лесного массива.

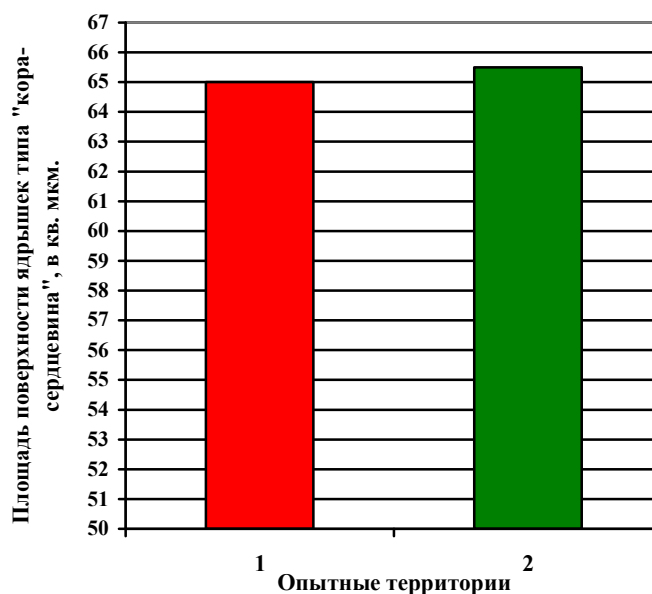


Рис. 10. Площадь поверхности ядрышек типа «кора-сердцевина» в клетках апикальной меристемы проростков деревьев дуба черешчатого, произрастающих на опытных площадях в районе 9 км Задонского шоссе (2007 г. исследования), (в  $\text{мкм}^2$ ). Обозначения: 1 – территория около автомагистрали; 2 – территория в глубине лесного массива.



Площадь поверхности высокоактивных ядрышек типа «кора-сердцевина» практически не изменяется (рис. 10) и у автомагистрали составляет  $65,0 \pm 2,7$  мкм<sup>2</sup>; в глубине лесного массива -  $65,5 \pm 3,6$  мкм<sup>2</sup>, площадь поверхности компактных ядрышек на территории вблизи автомагистрали ниже (у автомагистрали –  $39,6 \pm 3,7$  мкм<sup>2</sup>; в глубине лесного массива –  $43,3 \pm 5,3$  мкм<sup>2</sup>).

Изменение площади поверхности одиночных ядрышек можно рассматривать в качестве компенсации умеренной активности ядрышек их большей площадью поверхности, то есть как систему замещение работы одной системы интенсификацией другой, что было ранее показано Кулагиным (1984).

На препаратах проростков желудей, собранных у дороги, отмечается снижение ( $P < 0,05$ ) доли высокоактивных ядрышек «кора - сердцевина» до  $19,3 \pm 2,0$  % в сравнении с территорией, удаленной от дороги ( $27,7 \pm 3,3$ %) и возрастание доли ( $P < 0,05$ ) умеренно активных ядрышек «кора-сердцевина вакуолизированные» до  $78,9 \pm 2,3$  % (территория в глубине лесного массива -  $71,1 \pm 3,5$  %), доля вакуолизированных ядрышек увеличилась –  $3,6 \pm 2,7$  % (удаленная от дороги территория ( $0,6 \pm 0,2$  %)). Ранее на примере березы повислой было показано снижение площади поверхности одиночных ядрышек по сравнению с контролем, что по мнению авторов является показателем угнетения метаболической активности (Карпова, 2006).

В опыте 2001 года на территории 9 км Задонского шоссе ядрышковые характеристики в клетках меристемы проростков семенного потомства дуба черешчатого заметно отличаются от опыта 2007 года (табл. 2). Семенное потомство, собранное с указанной территории, характеризуется более высокими показателями как по площади поверхности всех типов ядрышек  $89,6 \pm 1,5$  мкм<sup>2</sup> (опыт 2007 г.: у дороги –  $82,4 \pm 2,9$  мкм<sup>2</sup>; в лесу –  $75,6 \pm 3,7$  мкм<sup>2</sup> (различия достоверны ( $P < 0,01$ )), так и по площади поверхности высокоактивных ядрышек типа «кора –

сердцевина»  $75,2 \pm 1,3$  мкм<sup>2</sup> (опыт 2007 г.: у дороги –  $65,0 \pm 2,7$  мкм<sup>2</sup> ; в лесу –  $65,6 \pm 3,6$  мкм<sup>2</sup> (различия достоверны ( $P < 0,001$ )), компактные ядрышки  $56,0 \pm 8,6$  мкм<sup>2</sup> (опыт 2007: у дороги –  $39,6 \pm 3,7$  мкм<sup>2</sup> ; в лесу –  $43,3 \pm 5,3$  мкм<sup>2</sup> (различия достоверны ( $P < 0,01$ )). В опыте 2001 года отмечается более высокая доля ядрышек типа «кора-сердцевина»  $34,4 \pm 2,0$  % (опыт 2007: у дороги –  $19,3 \pm 2,0$  % ; в лесу –  $27,7 \pm 3,3$  % (различия достоверны ( $P < 0,001$ )), доля вакуолизированных ядрышек составила  $1,0 \pm 0,2$  % (опыт 2007: у дороги –  $3,6 \pm 2,7$  % ; в лесу –  $0,6 \pm 0,2$  % ). По сравнению с опытом 2007 года снижена доля умеренно активных ядрышек типа «кора-сердцевина с вакуолью» –  $63,3 \pm 2,0$  % (опыт 2007: у дороги –  $78,9 \pm 2,3$  % ; в лесу –  $71,1 \pm 3,5$  % (различия достоверны ( $P < 0,001$ )).

Таким образом, сравнивая динамику показателей ядрышковых характеристик в клетках меристемы семенного потомства дуба черешчатого опытов 2001 и 2007 годов исследования, можно отметить четкое снижение синтетической активности. Происходит изменение долей разных типов ядрышек в сторону повышения количества умеренно активных ядрышек типа «кора-сердцевина с вакуолью», при этом увеличения площадей поверхности данного типа ядрышек не происходит. О негативном действии антропогенного воздействия, в частности интенсивно развивающегося автомобильного комплекса, говорит снижение общей площади поверхности всех типов ядрышек.

Данные, полученные при анализе ядрышковых характеристик на территории 491 км. автомагистрали Москва - Воронеж (2012 г.) представлены в таблице 5. На данных опытных территориях, разделенных подобно опыту 2007 г. исследования по параметру расположения относительно автодороги, показаны достоверные различия между ядрышковыми характеристиками проростков. На территории около автомагистрали в опыте 2012 г. преобладают в клетках проростков ядрышки умеренно активного типа «кора-сердцевина с вакуолью» – доля клеток с данным типом ядрышек составила  $62,9 \pm 4,0$  % ( $P < 0,05$ ), в глубине

лесного массива этот же показатель составил  $48,2 \pm 3,8$  %. Доля клеток с вакуолизированными ядрышками, так же относящимися к умеренно активным ядрышкам выше, чем на удаленной территории ( $1,3 \pm 0,2$  %) и составляет  $1,9 \pm 0,6$  % ( $P < 0,05$ ). Процент клеток с высокоактивными ядрышками типа «кора-сердцевина» и компактными ядрышками выше на территории в глубине лесного массива, чем вблизи автомагистрали, и составляет  $47,1 \pm 4,4$  %,  $1,8 \pm 0,4$  % соответственно ( $P < 0,05$ ).

Таблица 5

Характеристика ядрышкового аппарата семенного потомства деревьев дуба черешчатого, произрастающих на территории 491 км автомагистрали  
Москва - Воронеж

Ядрышковые характеристики	Точки исследований	
	491км автомагистрали Москва - Воронеж, точка в глубине леса (ЯР 2012)	491км автомагистрали Москва - Воронеж, точка вблизи автомагистрали (Яр 2012)
Площадь поверхности, мкм <sup>2</sup>		
ядрышек типа кора-сердцевина	$67,2 \pm 2,6^{***}$	$70,4 \pm 2,8^{***}$
ядрышек типа кора-сердцевина с вакуолью	$85,9 \pm 2,5^{***}$	$88,4 \pm 2,9^{***}$
вакуолизированное ядрышко	$54,9 \pm 5,5$	$48,7 \pm 8,3$
компактное ядрышко	$49,5 \pm 6,4^{**}$	$32,3 \pm 8,8$
Все типы	$75,7 \pm 2,6^{***}$	$81,7 \pm 2,9^{***}$
Доля клеток с ядрышками, %		
типа кора-сердцевина	$47,1 \pm 4,4$	$34,6 \pm 4,3$
типа кора-сердцевина с вакуолью	$48,2 \pm 3,8 *$	$62,9 \pm 4,0$
вакуолизированное ядрышко	$1,4 \pm 0,2^{***}$	$1,9 \pm 0,6 *$
компактное ядрышко	$1,8 \pm 0,4 *$	$0,7 \pm 0,2$

Обозначения: \* - различия с контролем достоверны  $P < 0,05$ ;

\*\* - различия с контролем достоверны  $P < 0,01$ ;

\*\*\* - различия с контролем достоверны  $P < 0,001$ .

Увеличение площади поверхности всех типов ядрышек на территории около автомагистрали ( $81,7 \pm 2,9$  мкм<sup>2</sup>; в глубине лесного массива -  $75,7 \pm 2,6$  мкм<sup>2</sup>) может свидетельствовать об усилении метаболической активности в клетках проростков под воздействием загрязнения. На ряду с этим на территории около автомагистрали наблюдается компенсационный эффект замещения степени активности ядрышек их большей площадью поверхности (Кулагин, 1984). Так снижение доли клеток с высокоактивными ядрышками типа «кора-сердцевина» у автодороги компенсируется возрастанием доли и площади поверхности ядрышек типа «кора-сердцевина с вакуолью» и увеличением площади поверхности ядрышек данного типа ( у автодороги -  $62,9 \pm 4,0$  ( $P < 0,01$ ),  $88,4 \pm 2,9$  мкм<sup>2</sup>; в глубине леса -  $48,2 \pm 3,8$ ,  $85,9 \pm 2,5$  мкм<sup>2</sup>).

Возвращаясь к данным 2007г. можно провести сравнение с данными 2012 г. с целью выявления влияния автотранспорта на популяцию деревьев дуба черешчатого. В поведении ядрышковых характеристик прослеживаются общие тенденции: на территории, прилегающей к автомагистрали, увеличивается площадь поверхности одиночных ядрышек, ядрышек типа «кора-сердцевина с вакуолью», снижается площадь поверхности высокоактивных компактных ядрышек, преобладают в клетках умеренно активные ядрышки типа «кора-сердцевина с вакуолью» и вакуолизированное, доля высоко активных ядрышек кора-сердцевина снижается.

При этом наблюдаются и некоторые различия, которые могут быть вызваны как территориальным удалением от города, так и временным изменением. В 2012 г., в сравнении с 2007 г., происходит увеличение площади поверхности высоко активных ядрышек типа «кора-сердцевина», снижается площадь поверхности вакуолизированных ядрышек, снижается доля клеток с высокоактивными компактными ядрышками.

На экологически «чистой» территории клеточная меристема проростков характеризуется устойчивыми компенсаторными механизмами

поддержания клеточного гомеостаза. Более низкое значение площади поверхности высоко активных ядрышек кора-сердцевина ( $87,0 \pm 1,8 \text{ мкм}^2$ ) соотносится с меньшей их долей среди других типов ядрышек ( $38,9 \pm 2,9 \%$ ). Происходит эффект восстановления общей интенсивности активности ядрышка площадью поверхности ядрышка, т.е. увеличивается площадь поверхности ядрышек с меньшей синтетической активностью. Так, среди проростков отмечается более высокие значения площадей поверхности менее активных ядрышек типа «кора-сердцевина с вакуолью»  $106,9 \pm 1,9 \text{ мкм}^2$  и вакуолизированные ядрышки  $95,0 \pm 10,8 \text{ мкм}^2$  наряду с их большей долей среди других типов ядрышек (доля ядрышек типа кора-сердцевина с вакуолью -  $59,9 \pm 2,9 \%$ ).

В связи с тем, что ядрышковые характеристики на ряду с митотической активностью и патологиями митоза могут служить мерой антропогенного воздействия и адаптивной реакции растений, нами была предпринята попытка сравнить полученные данные с опытной и контрольной территорий.

Анализ данных показал, что на опытной территории 9 км Задонского шоссе в сравнении с контрольной территорией снижаются многие ядрышковые показатели. Площадь поверхности всех типов ядрышек составляет – опыт 2001 г.  $89,6 \pm 1,5 \text{ мкм}^2$  ( $P < 0,001$ ), опыт 2007 у дороги –  $82,4 \pm 2,9 \text{ мкм}^2$ , в лесу –  $75,65 \pm 3,7 \text{ мкм}^2$  ( $P < 0,001$ ), опыт 2012 у дороги –  $81,7 \pm 2,9 \text{ мкм}^2$ , в лесу –  $75,7 \pm 2,6 \text{ мкм}^2$  ( $P < 0,001$ ), в то время как в контроле –  $99,5 \pm 2,0 \text{ мкм}^2$ . Также достоверно ниже площадь поверхности высоко активных ядрышек типа кора-сердцевина опыт 2001 г.  $75,2 \pm 1,3 \text{ мкм}^2$  ( $P < 0,001$ ), опыт 2007 у дороги –  $65,0 \pm 2,7 \text{ мкм}^2$ , в лесу –  $65,5 \pm 3,6 \text{ мкм}^2$  ( $P < 0,001$ ); опыт 2012 у дороги –  $70,4 \pm 2,8 \text{ мкм}^2$ , в лесу –  $67,2 \pm 2,6 \text{ мкм}^2$ , в то время как в контроле –  $87,0 \pm 1,8 \text{ мкм}^2$ , площадь поверхности умеренно активных ядрышек типа кора-сердцевина с вакуолью - опыт 2001 г.  $97,5 \pm 2,0 \text{ мкм}^2$  ( $P < 0,01$ ), опыт 2007 у дороги –  $86,8 \pm 3,0 \text{ мкм}^2$ , в лесу –

$79,7 \pm 3,6$  мкм<sup>2</sup> ( $P < 0,001$ ), опыт 2012 у дороги –  $88,4 \pm 2,9$  мкм<sup>2</sup>, в лесу –  $85,9 \pm 2,5$  мкм<sup>2</sup>, в то время как в контроле –  $106,9 \pm 1,9$  мкм<sup>2</sup>.

В условиях опыта можно отметить большие, по сравнению с показателями на экологически чистой территории, доли клеток с менее активными ядрышками типов кора-сердцевина с вакуолью опыт 2001 г. –  $63,3 \pm 2,0$  %, опыт 2007 у дороги –  $78,9 \pm 2,3$  %, в лесу –  $71,1 \pm 3,5$  % ( $P < 0,001$ ), опыт 2012 у дороги –  $62,9 \pm 4,0$  мкм<sup>2</sup>, в то время как в контроле –  $59,9 \pm 2,9$  % и долю клеток с вакуолизированным ядрышком - опыт 2001 г.  $1,0 \pm 0,2$  % ( $P < 0,05$ ), опыт 2007 у дороги –  $3,6 \pm 2,7$  %, в лесу –  $0,6 \pm 0,2$  % ( $P < 0,001$ ), опыт 2012 у дороги –  $1,9 \pm 0,6$  %, в лесу –  $1,4 \pm 0,2$  % ( $P < 0,001$ ), в то время как в контроле –  $0,4 \pm 0,1$  %.

Снижение площади поверхности ядрышек, а также преобладание клеток с ядрышками типа кора-сердцевина вакуолизированное, вакуолизированные ядрышки характеризует семенное потомство деревьев дуба черешчатого, произрастающих в районе прохождения автомагистрали Москва – Воронеж, как угнетенную, с низкими уровнем синтетической активности.

#### 4.3. Цитогенетический полиморфизм семенного потомства деревьев дуба черешчатого на территориях с разным уровнем антропогенного воздействия

В ходе исследования показателей митотической и ядрышковой активностей нами была отмечена значительная изменчивость изученных показателей. Так, для показателей «митотический индекс, подсчитанный с учетом и без учета доли профаз», «доля клеток на стадиях профазы, метафазы», «патологии митоза, подсчитанные с учетом и без учета клеток на стадии профазы»,  $S_v$  превышает 25 % (таблица 6), что может свидетельствовать о генетической гетерогенности семенного потомства дуба черешчатого.

Как в опыте, так и в контроле, используя метод кластерного анализа

(рис. 11 - 14), удалось выделить группы с разным уровнем нарушений митотического деления клеток.

Таблица – 6

Коэффициент вариации  $C_v$ , (%) цитогенетических показателей проростков семенного потомства деревьев дуба черешчатого, произрастающих на опытных и контрольной территориях

Цитогенетические показатели	Районы исследований					
	1	2	3	4	5	6
	$C_v$ , %	$C_v$ , %	$C_v$ , %	$C_v$ , %	$C_v$ , %	$C_v$ , %
Митотический индекс, %	33,8	17,3	22,6	55,9	48,6	40
Митотический индекс, подсчитанный без учета профаз, %	125,4	23,5	30,8	33,3	60,0	21,3
Доля профаз, %	35,7	48,7	36,8	50,2	32,3	22,2
Доля метафаз, %	35,4	28	29,8	41,1	52,0	29,3
Доля анафаз, телофаз, %	22,1	23,8	25,7	38,8	27,1	28,3
Патологии митоза, %	56,3	55,6	44,8	51,7	45,0	58,1
Патологии митоза, подсчитанные без учета профаз, %	48,2	48,7	44,0	36,2	40,7	56,2
Площадь поверхности ядрышек типа «кора-сердцевина», $\text{мкм}^2$	10,9	22,4	21,8	16,2	16,1	12,9
Площадь поверхности ядрышек типа «кора-сердцевина с вакуолью», $\text{мкм}^2$	12,9	18,6	18,7	12,5	12,9	11,5
Площадь поверхности вакуолизированных ядрышек, $\text{мкм}^2$	14,9	61,7	45,3	42,4	68,2	49,6
Площадь поверхности компактных ядрышек, $\text{мкм}^2$	26,5	36,7	35,1	54,7	109,0	18,2
Площадь поверхности одиночных ядрышек, $\text{мкм}^2$	10,8	20,4	19,3	14,8	14,0	12,6
Доля клеток с ядрышками типа «кора-сердцевина», %	36,1	49,1	61,1	39,7	50,0	46,5
Доля клеток с ядрышками типа «кора-сердцевина с вакуолью», %	19,6	20,1	15,6	33,6	25,6	31,1
Доля клеток с вакуолизированными ядрышками, %	100	150	402,7	64,3	121,1	150
Доля клеток с компактными ядрышками, %	128,6	128,6	353,8	100	114,3	116,6

Обозначения: Районы исследований: 1 - 9 км Задонского шоссе 2001 г.; 2 - 9 км Задонского шоссе 2007 г. точка в глубине леса; 3 - 9 км Задонского шоссе 2007 г. точка у дороги; 4 - 491 км автомагистрали Москва - Воронеж, точка в глубине леса (ЯР 2012); 5 - 491 км автомагистрали Москва - Воронеж, точка у автомагистрали (Яр 2012); 6 - Усманский бор (контроль) 2008 г.

Группы проростков, отличающиеся высокими значениями патологий

митоза, относили к мутабельной группе, с низкими значениями патологий митоза – к слабомутабельной группе, кроме этого выделяли промежуточные группы (табл. 8 - 11). Под термином «мутабельность» понимается количественная характеристика способности гена (кластера генов, всего генома в целом) к мутированию (Арефьев, 1995). Вследствие этого, мы считаем возможным разделять исследованную совокупность проростков на группы по их цитогенетической нестабильности. Применение кластерного анализа, выделение групп растений по степени поврежденности какого-либо признака используются и другими исследовательскими группами. Так, Горбачев (2008), рассматривая деление на группы деревьев по степени угнетения радиального прироста, отмечает негативное действие антропогенного фактора путем снижения видового разнообразия. Стаценко (2008) выделила у сосны обыкновенной и ели европейской группы ферментов по устойчивости к химическому загрязнению – положительно коррелирующие, отрицательно коррелирующие, инертные группы. В популяциях *Quercus ilex* при исследовании белков растительного материала и мест произрастания популяций были выделены группы, коррелирующие с географическим местоположением и климатическими условиями (Galvan et al., 2011) Т.о., метод позволяет оценить адаптивные возможности популяции растений по рассматриваемым в исследовании параметрам и выделять группы по ним внутри популяции. В нашем исследовании группы проростков одного типа с опытных территорий обладали сходными тенденциями в поведении изучаемых показателей, в отличие от экологически чистой территорией. На экологически чистой территории митотические и ядрышковые показатели проростков семян более вариабельны, и внутри групп, отнесенных к одному типу, были обнаружены различия в ядрышковых или митотических показателях. Показано достоверное влияние фактора выделенной группы на большинство изучаемых цитогенетических показателей (табл. 7).



Таблица 7

Сила влияния (в %) фактора группы на цитогенетические показатели проростков семян деревьев дуба черешчатого, произрастающих на территориях с разным уровнем антропогенного загрязнения

Цитогенетические показатели	Опытные территории 9 км Задонского шоссе			Контроль
	у автомагистрали (2007 г.)	в глубине лесного массива (2007 г.)	у автомагистрали (2001 г.)	
Митотический индекс, подсчитанный с учетом клеток на стадии профазы, %	0	0	0,1***	0
Митотический индекс, подсчитанный без учета клеток на стадии профазы, %	1*	0	0	0
Доля клеток на стадии профазы митоза, %	0	0	3***	0
Доля клеток на стадии метафазы митоза, %	0	0	4***	0
Доля клеток на стадии анафазы-телофазы митоза, %	10*	1**	6*	0
Доля клеток с патологиями митоза, подсчитанная с учетом клеток на стадии профазы, %	0	2*	3***	0
Доля клеток с патологиями митоза, подсчитанная без учета клеток на стадии профазы, %	0	0	0	0
Площадь поверхности ядрышек типа «кора-сердцевина», мкм <sup>2</sup>	3**	10*	7*	5***
Площадь поверхности ядрышек типа «кора-сердцевина с вакуолью», мкм <sup>2</sup>	4***	1*	7*	5***
Площадь поверхности вакуолизированных ядрышек, мкм <sup>2</sup>	8***	10***	0	8***
Площадь поверхности компактных ядрышек, мкм <sup>2</sup>	0	0	0	0
Площадь поверхности одиночных ядрышек, мкм <sup>2</sup>	6***	3*	7*	5***
Доля ядрышек типа «кора-сердцевина», %	5***	0	5**	5***
Доля ядрышек типа «кора-сердцевина вакуолизированная», %	7***	0	4***	5***
Доля вакуолизированных ядрышек, %	0	8**	0	6**
Доля компактных ядрышек, %	0	5*	0	0

Обозначения: \* - влияние фактора группы на цитогенетические показатели проростков достоверно (P<0,05); \*\* - влияние фактора группы на цитогенетические показатели проростков достоверно (P<0,01); \*\*\* - влияние фактора группы на цитогенетические показатели проростков достоверно (P<0,001).

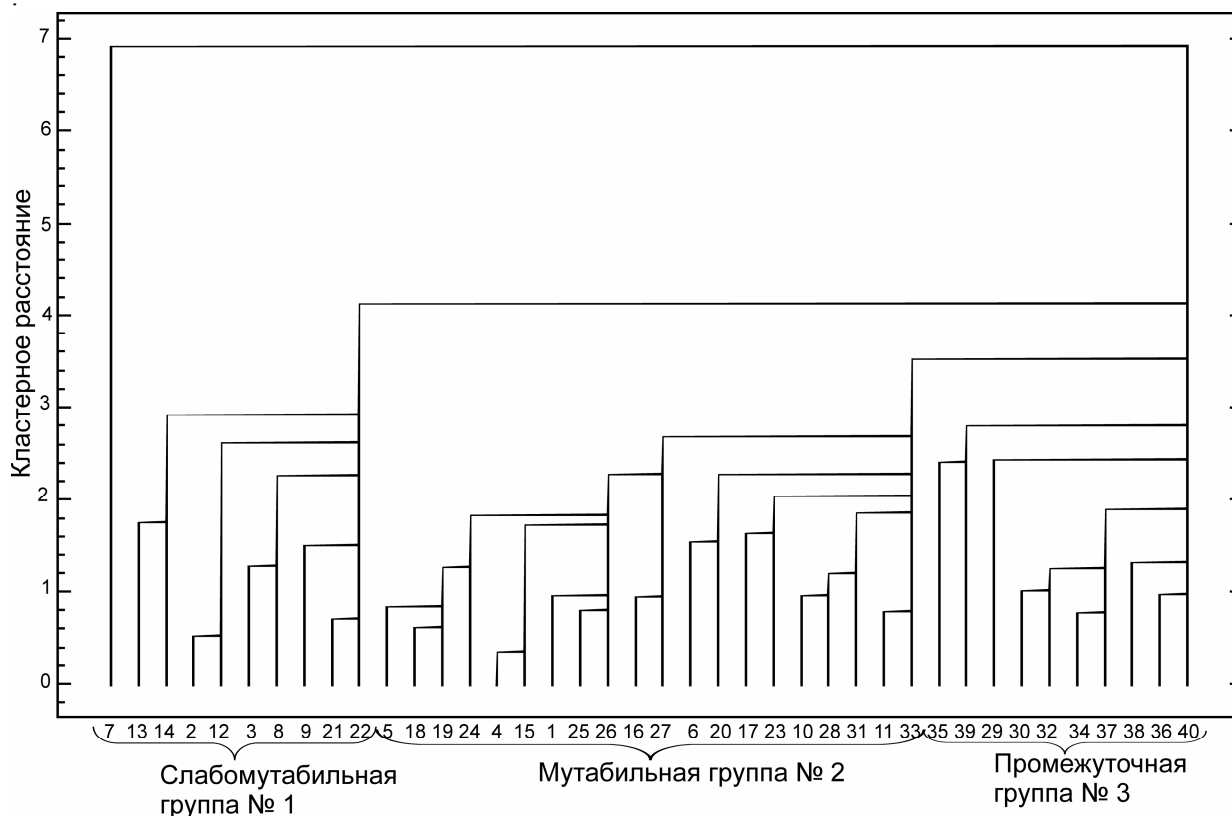


Рис. 11. Дендрограмма кластерных расстояний между проростками семенного потомства дуба черешчатого в 2001г в районе 9 км Задонского шоссе

В мутабельную группу входят 20 проростков (50% от общего числа проростков). Эта группа проростков отличается высокими показателями патологий митоза как с учетом профазных клеток, так и без учета ( $16,9 \pm 1,6 \%$ ;  $23,0 \pm 2,1 \%$ , соответственно). В ней наблюдается низкое значение митотического индекса  $6,3 \pm 0,4 \%$ .

По сравнению с двумя другими группами снижается доля высокоактивных ядрышек («кора-сердцевина» -  $29,0 \pm 2,2 \%$ ) и площадь поверхности одиночных ядрышек типа «кора-сердцевина» -  $71,6 \pm 1,8 \text{ мкм}^2$ ; «кора-сердцевина с вакуолью» -  $92,2 \pm 1,9 \text{ мкм}^2$ .

По сравнению с 2007 г. наблюдается обратная ситуация: в сильно мутабельной группе доля высокоактивных ядрышек ниже, чем в остальных группах.

Цитогенетические характеристики проростков семян деревьев дуба черешчатого, произрастающих на территории 9 км Задонского шоссе в 2001 г., в выделенных группах с разной стабильностью генетического материала

Цитогенетические показатели	Группа проростков		
	Слабомутабельная № 1	Промежуточная № 3	Мутабельная № 2
Митотический индекс, подсчитанный с учетом профаз, %	7,7±0,5	11,4±0,9	6,3±0,4
Митотический индекс, подсчитанный без учета профаз, %	4,8±0,3	5,1±0,6	4,5±1,3
Доля клеток на стадии профазы митоза, %	37,7±2,5	55,9±2,6	28,1±1,8
Доля клеток на стадии метафазы митоза, %	18,4±1,8	12,9±1,4	25,4±1,3
Доля клеток на стадии анафазы-телофазы митоза, %	43,9±2,3	31,3±1,5	46,4±1,9
Патологические митозы, подсчитанные с учетом профаз, %	8,1±1,1	8,5±1,2	16,9±1,6
Патологические митозы, подсчитанные без учета профаз, %	13,3±1,9	20,0±3,4	23,0±2,1
Площадь поверхности одиночных ядрышек, мкм <sup>2</sup>	94,4±2,6	91,4±4,1	85,9±1,9
Площадь поверхности ядрышек типа «кора-сердцевина», мкм <sup>2</sup>	77,6±1,6	80,5±3,2	71,7±1,8
Площадь поверхности ядрышек типа «кора-сердцевина с вакуолью», мкм <sup>2</sup>	104,5±3,9	100,0±5,3	92,2±1,9
Площадь поверхности вакуолизированных ядрышек, мкм <sup>2</sup>	78,7±2,8	69,1±0	78,9±5,9
Площадь поверхности компактных ядрышек, мкм <sup>2</sup>	41,2±0	55,2±0	71,2±0
Доля клеток с ядрышками типа «кора-сердцевина», %	35,0±2,1	48,5±6,0	29,0±2,2
Доля клеток с ядрышками типа «кора-сердцевина с вакуолью», %	62,6±2,2	49,0±6,1	69,7±2,1
Доля клеток с вакуолизированными ядрышками, %	2,2±0,3	0,8±0,3	1,2±0,3
Доля клеток с компактными ядрышками, %	0,3±0,3	1,7±0,6	0,7±0,2

Слабомутабельная группа проростков объединяет 10 проростков (25 % от общего числа проростков). Наряду с низкими значениями показателя патологий митоза (без учета профазных клеток -  $13,3 \pm 1,9$  %; с учетом -  $8,1 \pm 1,1$  %) отмечается высокое значение митотического индекса  $7,7 \pm 0,5$  %. Доля остаточных ядрышек и доля клеток с двумя, тремя и четырьмя ядрышками выше, чем в остальных группах, хотя влияние фактора группы на эти показатели не выявлено. Происходит увеличение доли умеренно активных ядрышек типа «кора-сердцевина с вакуолью» ( $62,6 \pm 2,2$  %), площади поверхности одиночных ядрышек типа «кора-сердцевина» -  $77,6 \pm 1,6$  мкм<sup>2</sup>; «кора-сердцевина с вакуолью» -  $104,5 \pm 3,9$  мкм<sup>2</sup>) по сравнению с другими группами.

Немалый интерес представляет собой промежуточная группа проростков. По ряду показателей она превосходит две предыдущие группы, хотя имеет значения показателей патологий митоза не являются самыми низкими (без учета профазных клеток -  $20,0 \pm 3,4$  %; с учетом -  $8,5 \pm 1,2$  %). Группа включает в себя 10 проростков (25 % от общего числа проростков). Данная группа проростков не отличается высокими значениями показателей доли остаточных ядрышки и долей клеток с двумя, тремя и четырьмя ядрышками.

Слабомутабельная и промежуточная группы, по сравнению с мутабельной, характеризуются высокой долей клеток на стадии профазы (слабомутабельная -  $37,7 \pm 2,5$  %; промежуточная -  $55,9 \pm 2,6$  %; мутабельная -  $28,1 \pm 1,8$  %). Можно предположить, что снижение уровня показателя патологий митоза происходит именно за счет этого явления. Клетки с нарушениями не могут перейти на стадии мета-, ана-, телофазы, где их можно обнаружить с помощью светового микроскопа. Подобное явление на данной территории нами было обнаружено в 1994 г. (Буторина и др., 2000).

В мутабельной группе, по сравнению со слабомутабельной группой, происходит расширение спектра патологий митоза. Появляются такие нарушения как асимметричный митоз и агглютинация хромосом.

В 2001г, по сравнению с 2007г., количество проростков в мутабельной группе больше и составляет 50% (2007 – 20,7 %). Тенденция к снижению митотической активности с увеличением уровня патологий митоза прослеживается как в 2001, так и в 2007 г.

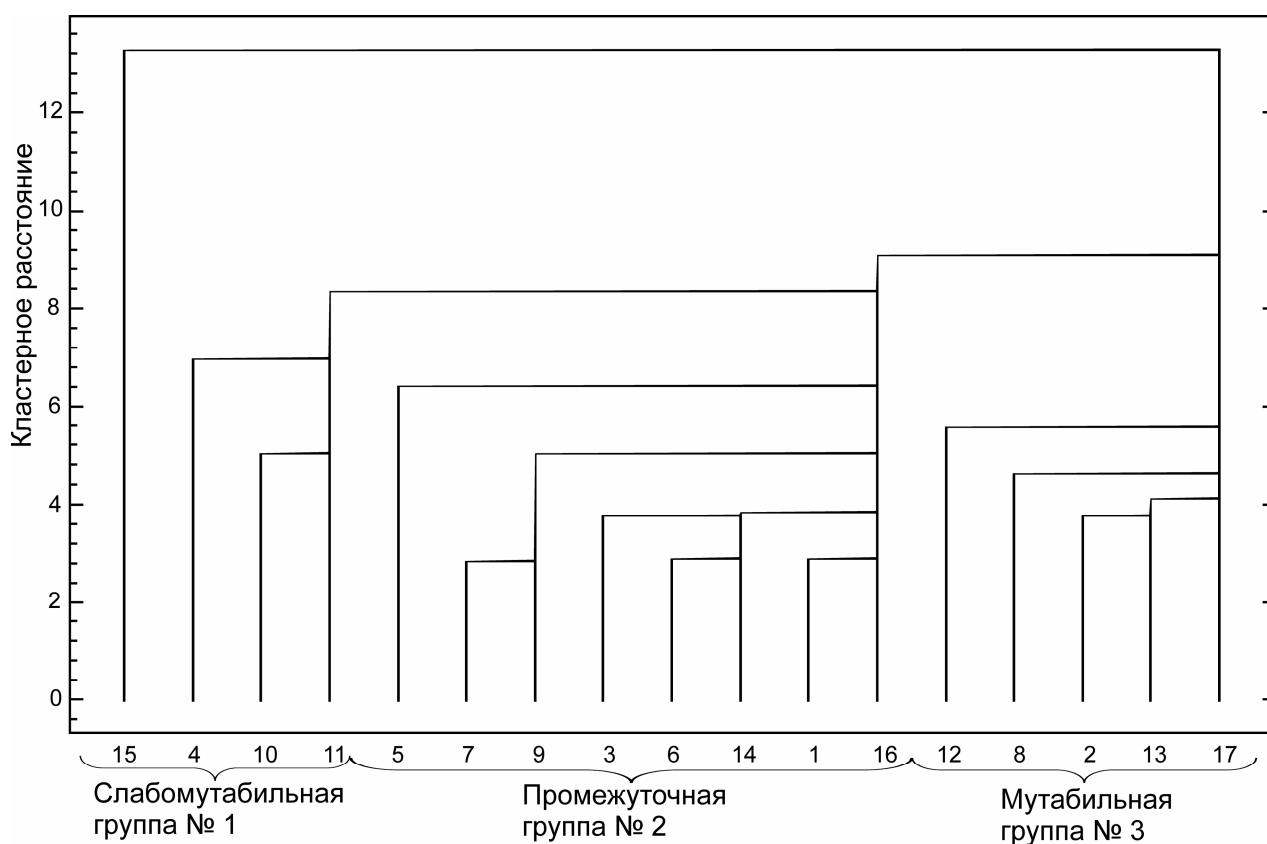


Рис. 12. Дендрограммы кластерных расстояний между проростками семенного потомства деревьев дуба черешчатого, произрастающих на 9 км Задонского шоссе на опытной площадке в глубине лесного массива в 2007 г

Цитогенетические характеристики проростков семян деревьев дуба черешчатого, произрастающих на территории 9 км Задонского шоссе в 2007 г. в глубине лесного массива, в выделенных группах с разной стабильностью генетического материала

Цитогенетические показатели	Группа проростков		
	Слабомутабельная № 1	Промежуточная № 2	Мутабельная № 3
Митотический индекс, подсчитанный с учетом профаз, %	6,8±0,5	7,5±0,5	8,1±0,6
Митотический индекс, подсчитанный без учета профаз, %	4,2±1,1	5,3±0,2	5,5±0,3
Доля клеток на стадии профазы митоза, %	41,1±13,9	27,4±3,6	31,5±3,7
Доля клеток на стадии метафазы митоза, %	22,9±5,6	30,1±2,1	26,9±3,1
Доля клеток на стадии анафазы-телофазы митоза, %	36,0±8,7	42,5±2,7	41,6±2,1
Патологические митозы, подсчитанные с учетом профаз, %	10,0±1,7	8,3±1,3	17,1±2,3
Патологические митозы, подсчитанные без учета профаз, %	11,7±4,2	12,4±1,8	25,2±3,7
Площадь поверхности одиночных ядрышек, мкм <sup>2</sup>	69,6±9,5	69,0±3,7	91,2±3,5
Площадь поверхности ядрышек типа «кора-сердцевина», мкм <sup>2</sup>	61,6±8,1	59,4±3,9	78,4±5,5
Площадь поверхности ядрышек типа «кора-сердцевина с вакуолью», мкм <sup>2</sup>	74,9±8,3	28,3±0	95,1±4,0
Площадь поверхности вакуолизированных ядрышек, мкм <sup>2</sup>	64,2±1,7	44,7±4,6	0
Площадь поверхности компактных ядрышек, мкм <sup>2</sup>	38,4±4,9	11,2±7,4	48,7±15,9
Доля клеток с ядрышками типа «кора-сердцевина», %	34,3±12,3	27,0±3,0	23,6±4,4
Доля клеток с ядрышками типа «кора-сердцевина с вакуолью», %	62,2±12,9	72,5±3,0	75,9±4,4
Доля клеток с вакуолизированными ядрышками, %	1,9±0,6	0,3±0,2	0
Доля клеток с компактными ядрышками, %	1,7±0,6	0,3±0,2	0,5±0,2

В глубине лесного массива 9 км Задонского шоссе (2007 г.) были выделены слабомутабельная группа № 1- 23,5 % (4 проростка), промежуточная группа № 2 - 47,1 % (8 проростков)) и мутабельная группа № 3 – 29,4 % (5 проростков). Мутабельная группа № 3 характеризуется высоким значением патологий митоза ( $25,2 \pm 3,7$  %). Доля высоко активных ядрышек типа «кора-сердцевина» ниже, чем в остальных группах (группа № 3 –  $23,6 \pm 4,4$  %; группа № 1 –  $34,3 \pm 12,3$  %; группа № 2 –  $27,0 \pm 3,0$  %). Низкая клеток с высокоактивными ядрышками типа «кора-сердцевина» компенсируется более высокой площадью поверхности одиночных ядрышек этого типа (группа № 3 –  $78,4 \pm 5,5$  %; группа № 1 –  $61,6 \pm 8,1$  %; группа № 2 –  $59,4 \pm 3,9$  %). В этой группе наблюдается более высокая доля клеток с остаточным ядрышком ( $5,9 \pm 1,5$  %). Группы № 1, 2 обладали более высокой синтетической активностью (доля ядрышек «кора-сердцевина» -  $34,3 \pm 12,3$  % и  $27 \pm 3,0$  % соответственно), низкими значениями патологий митоза ( $11,7 \pm 4,2$  % и  $12,4 \pm 1,8$  % соответственно), по сравнению с группой № 3, но в тоже время площадь поверхности одиночных ядрышек в этих группах снижалась (группы № 1, 2 -  $69,6 \pm 9,5$  мкм<sup>2</sup>,  $67,0 \pm 3,7$  мкм<sup>2</sup>, соответственно; группа №3 -  $91,2 \pm 3,5$  мкм<sup>2</sup>). В слабомутабельной группе проростков в спектре патологий доля отставаний хромосом в метакинезе выше, чем в остальных двух группах. Наряду с этим доля клеток с отставанием хромосом в анафазе ниже, что может свидетельствовать об активных репарационных процессах в клетках данной группы проростков. В спектре слабомутабельной группы отсутствуют агглютинации хромосом.

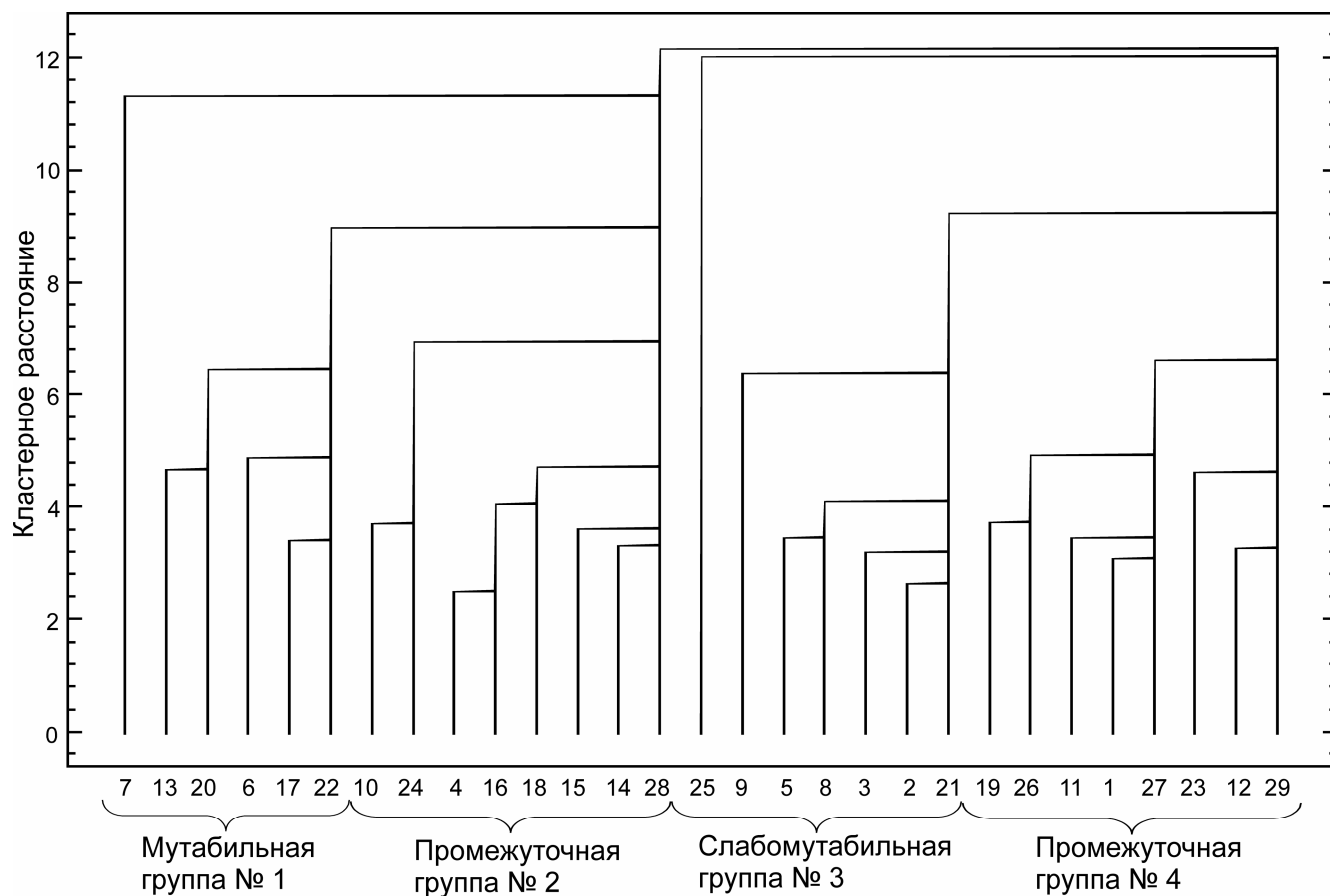


Рис. 13. Дендрограммы кластерных расстояний между проростками семенного потомства дуба черешчатого в 2007 г. на 9 км Задонского шоссе на опытной площадке, непосредственно прилегающей к автомагистрали



Цитогенетические характеристики проростков семян деревьев дуба черешчатого, произрастающих на территории 9 км Задонского шоссе в 2007 г. вблизи автомагистрали, в выделенных группах с разной стабильностью генетического материала

Цитогенетические показатели	Группа проростков			
	Промежуточная № 4	Промежуточная № 2	Слабомутабельная № 3	Мутабельная № 1
Митотический индекс, подсчитанный с учетом профаз, %	8,3±0,6	9,1±0,6	8,7±0,5	7,1±1,0
Митотический индекс, подсчитанный без учета профаз, %	5,1±0,3	6,3±0,5	4,9±0,5	4,1±0,8
Доля клеток на стадии профазы митоза, %	36,7±3,7	30,2±3,2	44,0±5,1	44,4±8,4
Доля клеток на стадии метафазы митоза, %	20,0±1,9	22,4±1,7	17,8±2,7	22,1±2,9
Доля клеток на стадии анафазы-телофазы митоза, %	41,9±3,7	36,6±2,9	48,9±4,7	48,5±7,9
Патологические митозы, подсчитанные с учетом профаз, %	11,3±1,1	12,5±1,5	8,0±2,3	14,9±2,4
Патологические митозы, подсчитанные без учета профаз, %	19,6±2,6	18,4±2,6	13,4±2,9	26,3±3,1
Площадь поверхности одиночных ядрышек, мкм <sup>2</sup>	97,5±5,1	72,8±1,5	89,3±3,8	67,0±4,4
Площадь поверхности ядрышек типа «кора-сердцевина», мкм <sup>2</sup>	76,6±3,9	54,7±4,0	70,4±4,9	56,8±3,3
Площадь поверхности ядрышек типа «кора-сердцевина с вакуолью», мкм <sup>2</sup>	102,6±5,0	76,3±2,1	92,2±3,9	73,3±5,5

## Продолжение таблицы 10

Площадь поверхности вакуолизированных ядрышек, мкм <sup>2</sup>	84,1±5,2	37,29±7,6	64,4±8,2	29,0±0,7
Площадь поверхности компактных ядрышек, мкм <sup>2</sup>	36,11±5,9	33,0±11,7	42,9±4,2	44,5±6,3
Доля клеток с ядрышками типа «кора-сердцевина», %	17,6±2,5	15,8±3,0	10,8±2,4	36,4±4,0
Доля клеток с ядрышками типа «кора-сердцевина с вакуолью», %	79,8±2,3	83,0±2,9	88,6±2,6	61,0±4,0
Доля клеток с вакуолизированными ядрышками, %	1,9±0,4	0,7±0,3	11,3±11,2	0,6±0,3
Доля клеток с компактными ядрышками, %	0,8±0,3	0,5±0,4	7,5±7,1	2,0±0,5

На территории вблизи автомагистрали Воронеж - Москва в 2007 были выделены слабомутабельная (группа № 3 - 24,1 % (7 проростков)), мутабельная (группа № 1 - 20,7 % (6 проростков)), а также две промежуточные группы по частоте встречаемости патологий митоза (группы № 2 - 27,6 % (8 проростков), № 4 - 27,6 % (8 проростков)). Группа № 3 обладает высокой синтетической активностью (доля компактных ядрышек -  $7,5 \pm 7,1$  %) и низкими значениями патологий митоза ( $13,4 \pm 2,9$  %). Кроме этого у промежуточной группы отмечается высокий процент вакуолизированных ядрышек ( $11,3 \pm 11,2$  %). Группа № 1, отнесенная к мутабельной группе, имеет высокий показатель патологий митоза ( $26,3 \pm 3,1$  %), ядрышковая активность снижена (доля компактных ядрышек  $2,0 \pm 0,5$  %). Наблюдается задержка клеток на стадии профазы ( $44,4 \pm 8,4$  %), что наряду с высоким значением патологий митоза может свидетельствовать о низком уровне репарации хромосомных нарушений. Во всех трех группах в спектре патологий митоза не наблюдается трехполюсных и ассиметричных митозов. В промежуточных группах наблюдается более высокая доля мостов в спектре, более низкая доля отставаний хромосом в метакинезе, по сравнению со слабо- и мутабельной группами.

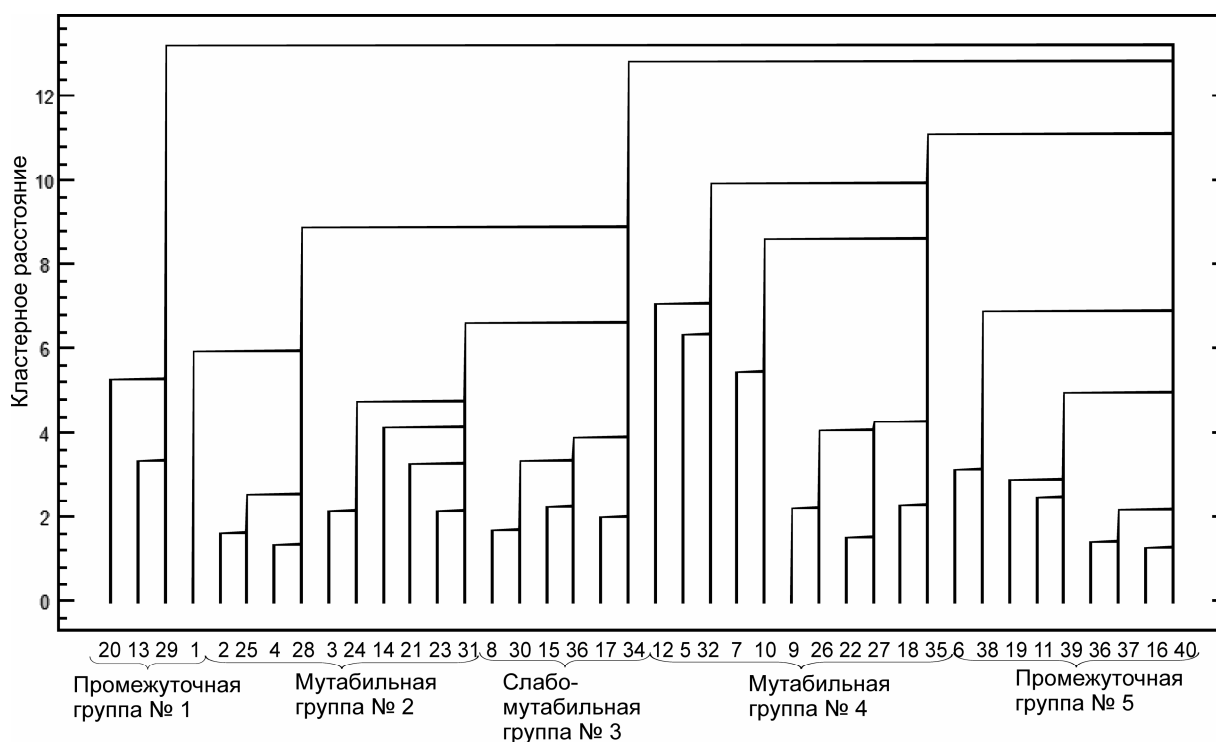


Рис. 14. Дендрограмма кластерных расстояний между проростками семенного потомства деревьев дуба черешчатого, произрастающих на территории озера Маклок, в 2008 г.

В контроле на территории биологического учебно-научного центра «Веневитиново» выделяется пять групп проростков – две мутабильные группы ( № 2 – 10 проростков– 25 % от общего числа проростков, № 4 – 11 проростков (27,5 % от общего числа проростков)), две промежуточные группы №1 - 4 проростка (10 % от общего числа проростков) и № 5 – 9 проростков (22,5 % от общего числа проростков) и слабо-мутабильная группа № 3 - 6 проростков (15 % от общего числа проростков).

В мутабильные группы входят проростки с самым высоким показателем доли клеток с патологическими митозами (№ 2 – доля клеток с патологиями митоза, подсчитанных без учета профаз –  $10,5 \pm 0,6$  %; доля клеток с патологиями митоза, подсчитанными с учетом профаз, –  $4,8 \pm 0,3$  %; № 4 - доля клеток с патологиями митоза, подсчитанные без учета профаз, –  $10,8 \pm 2,8$  %; доля клеток с патологиями митоза, с учетом профаз –  $5,0 \pm 1,4$  %); митотическая активность у этих групп в целом выше (№ 2 – митотический индекс, подсчитанный без учета профаз –  $5,5 \pm 0,3$  %;

митотический индекс, подсчитанный с учетом профаз –  $12,5 \pm 1,2$  %; №4 - митотический индекс, подсчитанный без учета профаз –  $4,7 \pm 0,4$  %; митотический индекс, подсчитанный с учетом профаз –  $10,4 \pm 0,8$  %).

Таблица 11

Характеристики митотического и ядрышкового аппарата проростков семян дуба черешчатого в выделенных группах с территории Усманского бора

Цитогенетические показатели	Группа проростков				
	Слабо-мутабельная № 3	Промежуточная № 1	Промежуточная № 5	Мутабельная № 2	Мутабельная № 4
Митотический индекс, подсчитанный с учетом профаз, %	$9,3 \pm 0,7$	$13,9 \pm 5,2$	$7,9 \pm 0,1$	$12,5 \pm 1,2$	$10,4 \pm 0,8$
Митотический индекс, подсчитанный без учета профаз, %	$4,1 \pm 0,2$	$5,3 \pm 0,6$	$4,6 \pm 0,2$	$5,5 \pm 0,3$	$4,7 \pm 0,4$
Доля клеток на стадии профазы митоза, %	$55,4 \pm 2,1$	$52,0 \pm 9,4$	$41,8 \pm 2,0$	$53,8 \pm 3,3$	$54,8 \pm 3,9$
Доля клеток на стадии метафазы митоза, %	$10,5 \pm 1,5$	$17,0 \pm 2,2$	$18,8 \pm 1,1$	$18,8 \pm 1,2$	$15,6 \pm 1,5$
Доля клеток на стадии анафазы-телофазы митоза, %	$33,7 \pm 1,4$	$31,1 \pm 7,9$	$39,4 \pm 2,2$	$27,4 \pm 2,9$	$32,7 \pm 2,9$
Патологические митозы, подсчитанные с учетом профаз, %	$2,9 \pm 0,4$	$3,9 \pm 0,9$	$4,3 \pm 0,6$	$4,8 \pm 0,3$	$5,0 \pm 1,4$
Патологические митозы, подсчитанные без учета профаз, %	$6,5 \pm 0,9$	$7,8 \pm 0,5$	$7,3 \pm 1,0$	$10,5 \pm 0,6$	$10,8 \pm 2,8$
Площадь поверхности одиночных ядрышек, $\text{мкм}^2$	$96,3 \pm 1,0$	$76,2 \pm 9,1$	$111,9 \pm 2,4$	$97,3 \pm 2,3$	$102,0 \pm 2,2$
Площадь поверхности ядрышек типа «кора-сердцевина», $\text{мкм}^2$	$80,5 \pm 2,4$	$65,5 \pm 5,2$	$90,8 \pm 2,2$	$88,3 \pm 2,4$	$95,4 \pm 2,3$

Площадь поверхности ядрышек типа «кора-сердцевина с вакуолью», мкм <sup>2</sup>	103,0±1,4	86,7±8,6	119,3±2,6	101,6±2,0	111,8±2,3
Площадь поверхности вакуолизированных ядрышек, мкм <sup>2</sup>	58,2±10,6	62,0±8,5	138,2±14,3	28,3±0	78,5±0
Площадь поверхности компактных ядрышек, мкм <sup>2</sup>	0	64,4±9,6	62,4±3,7	50,2±0	59,7±4,7
Доля клеток с ядрышками типа «кора-сердцевина», %	67,9±5,1	50,3±9,0	25,1±2,5	32,0±3,2	60,1±4,8
Доля клеток с ядрышками типа «кора-сердцевина с вакуолью», %	69,5±3,4	48,4±9,6	73,3±2,5	67,8±3,2	37,9±5,1
Доля клеток с вакуолизированными ядрышками, %	0,6±0,2	1,0±0,6	0,8±0,1	0,1±0,1	0,1±0,1
Доля клеток с компактными ядрышками, %	0,6±0,5	0,4±0,2	1,0±0,2	0,1±0,1	0,6±0,2

Основным отличием цитогенетических параметров проростков из двух мутабельных групп является преобладание ядрышек того или иного типа – высокоактивных, либо умеренно активных. Так, в мутабельной группе № 2 доля высоко активных ядрышек «кора-сердцевина» ниже доли умеренноактивных ядрышек типа «кора-сердцевина с вакуолью» (32,0 % и 67,8 % соответственно). Обратная ситуация наблюдается в мутабельной группе № 4 – доля ядрышек типа «кора-сердцевина» - 60,1 %; доля умеренноактивных ядрышек типа «кора-сердцевина с вакуолью» - 37,9 %. Т.о., можно говорить о различных путях клеточного ответа на стресс в мутабельных группах проростков.

В промежуточные группы входят проростки со средним значением доли клеток с патологиями митоза (группа № 1 -  $3,9 \pm 0,9$  %, № 5 –  $4,3 \pm$

0,6 %). По доле остаточных ядрышек группа №1 ближе к мутабельной группе. Только внутри данной группы наблюдается достаточно высокий уровень митотического индекса, подсчитанного с учетом профаз, –  $13,9 \pm 5,2$  %, в то время как митотический индекс, подсчитанный без учета профаз, занимает промежуточное положение в целом среди всех групп по контролю –  $5,3 \pm 0,6$  %. Группа № 5 характеризуется в целом средними показателями, в том числе и патологий митоза. Доля остаточных ядрышек низкая ( $0,4 \pm 0,4$  %).

В слабомутабельную группу № 3 входят проростки с самым низким уровнем патологий митоза –  $2,9 \pm 0,4$  %, доля клеток с патологиями митоза, подсчитанные без учета профаз, –  $6,5 \pm 0,9$  %. Наряду с низким уровнем нарушений группа имеет средние значения митотической активности (митотический индекс, подсчитанный с учетом профаз –  $9,3 \pm 0,7$  % ; митотический индекс, подсчитанный без учета профаз –  $4,1 \pm 0,2$  %).

В опыте 2012 г. исследования, так же как и в ранее проведенных исследованиях, удалось выделить группы проростков по патологиям митоза: слабомутабельная, промежуточная, мутабельная (рис. 15, 17). Мутабельная группа характеризуется высокими значениями патологий митоза, слабомутабельная группа – низкими.

На территории около автомагистрали было выделено 4 группы проростков (рис. 15). Слабомутабельная (группа № 1) состоит из 4 проростков (22,2 %), мутабельные (группы № 2, 4) состоят из 6 (37,5 %) и 2 (12,5 %) проростков, промежуточная (группа № 3) состоит из 4 проростков (25 %). Таким образом, преобладают проростки из мутабельных групп (50 % от общего числа проростков).

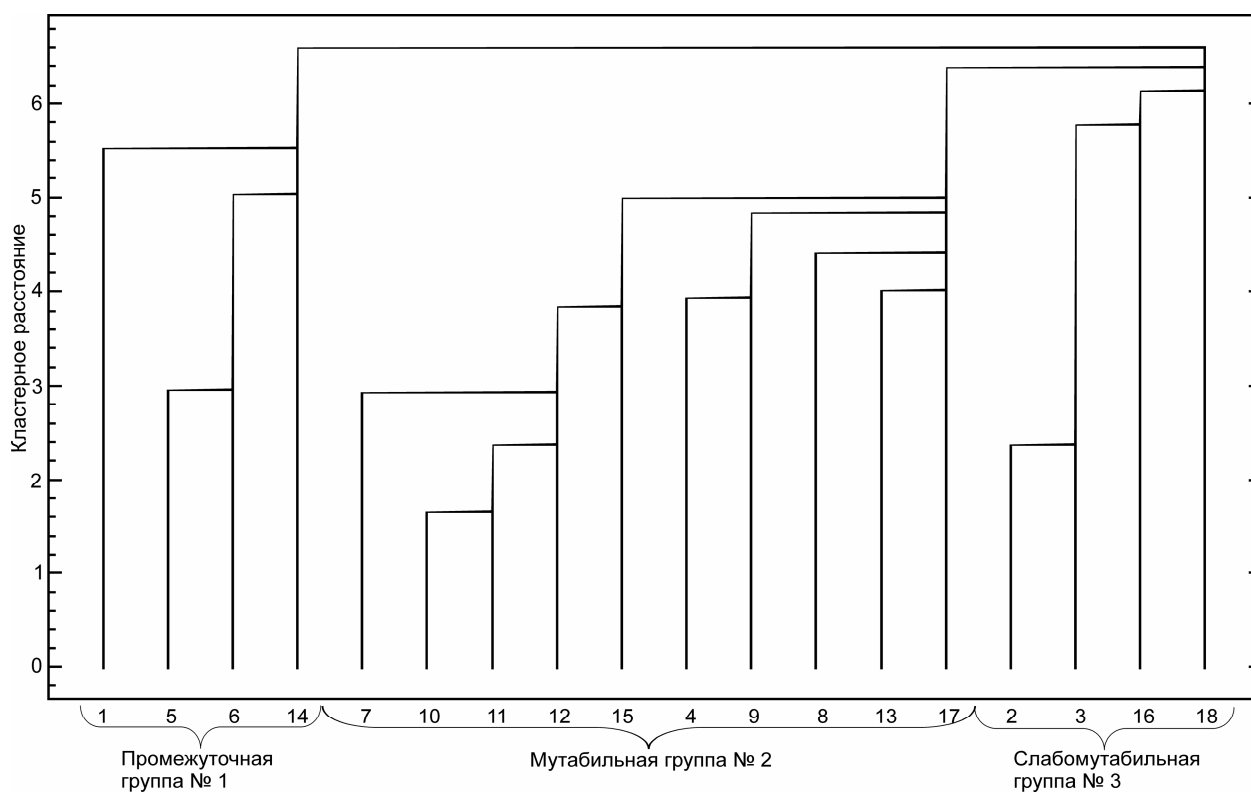


Рис. 15. Дендрограммы кластерных расстояний между проростками семенного потомства деревьев дуба черешчатого, произрастающих на опытной площадке в глубине лесного массива 491 км. автомагистрали Москва – Воронеж, 2012 г.

Цитогенетические показатели в выделенных группах представлены в таблице 12.

Из данных таблицы видно, что проростки из мутабельных групп превосходят проростки из слабомутабельной группы по значениям патологий митоза, подсчитанных как с учетом, так и без учета профаз. Для мутабельных групп патологии митоза составили  $16,5 \pm 0,8$  % (группа № 1) и  $19,4 \pm 0,3$  % (группа № 4), для слабомутабельной группы показатель патологий митоза составил  $8,7 \pm 4,0$  %. Митотическая активность в мутабельных группах варьирует: в группе № 2 наблюдаются самые высокие показатели митотического индекса, в подсчитанного как с учетом, так и без учета профаз (митотический индекс с учетом профаз –  $10,2 \pm 0,9$  %, митотический индекс без профаз –  $6,1 \pm 0,8$  %), в мутабельной группе

№ 4 наблюдается низкая митотическая активность (митотический индекс –  $3,5 \pm 0,6$  %, митотический индекс без профаз –  $2,1 \pm 0,4$  %).

Таблица 12

Характеристики митотического и ядрышкового аппарата проростков семян дуба черешчатого в выделенных группах с территории 491 км автомагистрали Москва – Воронеж, в опыте 2012 г. у автомагистрали.

Группа проростков	Слабомутабильна группа № 1	Мутабильна группа № 2	Промежуточная группа № 3	Мутабильная группа № 4
Показатели				
Митотический индекс, %				
с учетом профаз	$4,3 \pm 0,6$	$10,2 \pm 0,9$	$7,6 \pm 1,7$	$3,5 \pm 0,6$
без учета профаз	$2,0 \pm 0,5$	$6,1 \pm 0,8$	$3,9 \pm 1,1$	$2,1 \pm 0,4$
Доля клеток на стадии митоза, %				
профаза	$56,4 \pm 10,9$	$39,9 \pm 5,2$	$52,9 \pm 5,6$	$40,3 \pm 0,2$
метафаза	$9,4 \pm 4,7$	$28,4 \pm 4,3$	$24,1 \pm 4,2$	$24,4 \pm 3,2$
анафаза-телофаза	$34,1 \pm 6,7$	$31,7 \pm 1,4$	$22,9 \pm 1,5$	$35,3 \pm 3,1$
Патологические митозы, %				
с учетом профаз	$8,7 \pm 4,0$	$16,5 \pm 0,8$	$9,3 \pm 1,6$	$19,4 \pm 0,3$
без учета профаз	$17,3 \pm 7,0$	$28,4 \pm 2,3$	$20,9 \pm 4,6$	$32,5 \pm 0,5$
Площадь поверхности, мкм <sup>2</sup>				
одиночных ядрышек	$82,2 \pm 3,7$	$72,0 \pm 3,0$	$87,7 \pm 4,6$	$97,9 \pm 1,7$
ядрышек типа «кора-сердцевина»	$74,1 \pm 2,3$	$61,0 \pm 2,7$	$73,2 \pm 5,7$	$85,4 \pm 5,6$
ядрышек типа «кора-сердцевина с вакуолью»	$89,3 \pm 3,4$	$77,3 \pm 2,8$	$97,5 \pm 3,3$	$101,8 \pm 1,6$
вакуолизированное ядрышко	$39,4 \pm 23,2$	$43,5 \pm 11,3$	$57,6 \pm 19,2$	$64,9 \pm 8,5$
компактное ядрышко	0	$26,2 \pm 9,2$	$77,6 \pm 13,2$	$25,1 \pm 14,5$
Доля ядрышек, %				
ядрышек типа «кора-сердцевина»	$47,0 \pm 12,9$	$29,0 \pm 4,8$	$36,2 \pm 6,8$	$23,0 \pm 5,1$
ядрышек типа «кора-сердцевина с вакуолью»	$50,2 \pm 11,5$	$69,2 \pm 4,5$	$60,5 \pm 5,8$	$74,4 \pm 4,4$
вакуолизированное ядрышко	$2,8 \pm 2,2$	$1,3 \pm 0,4$	$1,5 \pm 0,7$	$2,3 \pm 1,0$
компактное ядрышко	0	$0,5 \pm 0,1$	$1,9 \pm 0,4$	$0,4 \pm 0,2$



Низкие значения митотического индекса в группе № 4 могут быть связаны с высокой долей поврежденных клеток и общим снижением устойчивости меристемы проростков данной мутабельной группы. Мутабельная группа № 4 отличается высокими показателями ядрышковых характеристик. Для проростков данной группы характерны максимальные значения площади поверхности одиночных ядрышек, ядрышек типа кора-сердцевина с вакуолью, кора-сердцевина, преобладают ядрышки типа «кора-сердцевина с вакуолью» и имеют максимальные значения среди групп (таблица 12). Мутабельная группа № 2 характеризуется низкими значениями площади поверхностей разных типов ядрышек (таблица 12), среди ядрышек преобладают ядрышки типа «кора-сердцевина с вакуолью». При сравнении спектра патологических митозов между мутабельными группами (рис. 16) были обнаружены отличия. В корневой меристеме проростков из мутабельной группы № 2 преобладают отставания хромосом в метакинезе (62,5 %), данная группа обладает максимальными значениями отставаний хромосом в анафазе (14,1 %), мостов (9,4 %) среди остальных групп, грубые нарушения митотического деления (агглютинации хромосом – 12,5 %, асимметричные митозы- 1,5 %) занимают наименьшую долю (в сравнении с другими группами). В мутабельной группе проростков № 4 в спектре патологий митоза преобладают отставание хромосом в метакинезе (72,7%), и превосходят своим значением процентное содержание данной патологии в остальных группах. Группа характеризуется высокой долей агглютинаций хромосом (18,2 %), асимметричных митозов (9,1 %). Отставания хромосом в анафазе и мосты в спектре патологий мутабельной группы № 4 отсутствуют. Таким образом, сравнение двух мутабельных групп показывает различия как по митотическим, так и по ядрышковым показателям. Так, в мутабельной группе № 2 отмечена высокая митотическая активность и низкая ядрышковая активность, минимальные доли среди групп по грубым нарушениям митоза, в мутабельной группе № 4 – низкая митотическая

активность и высокая ядрышковая активность, высокая доля грубых нарушений митоза, отсутствие отстававших в анафазе и мостов в спектре патологий митоза.

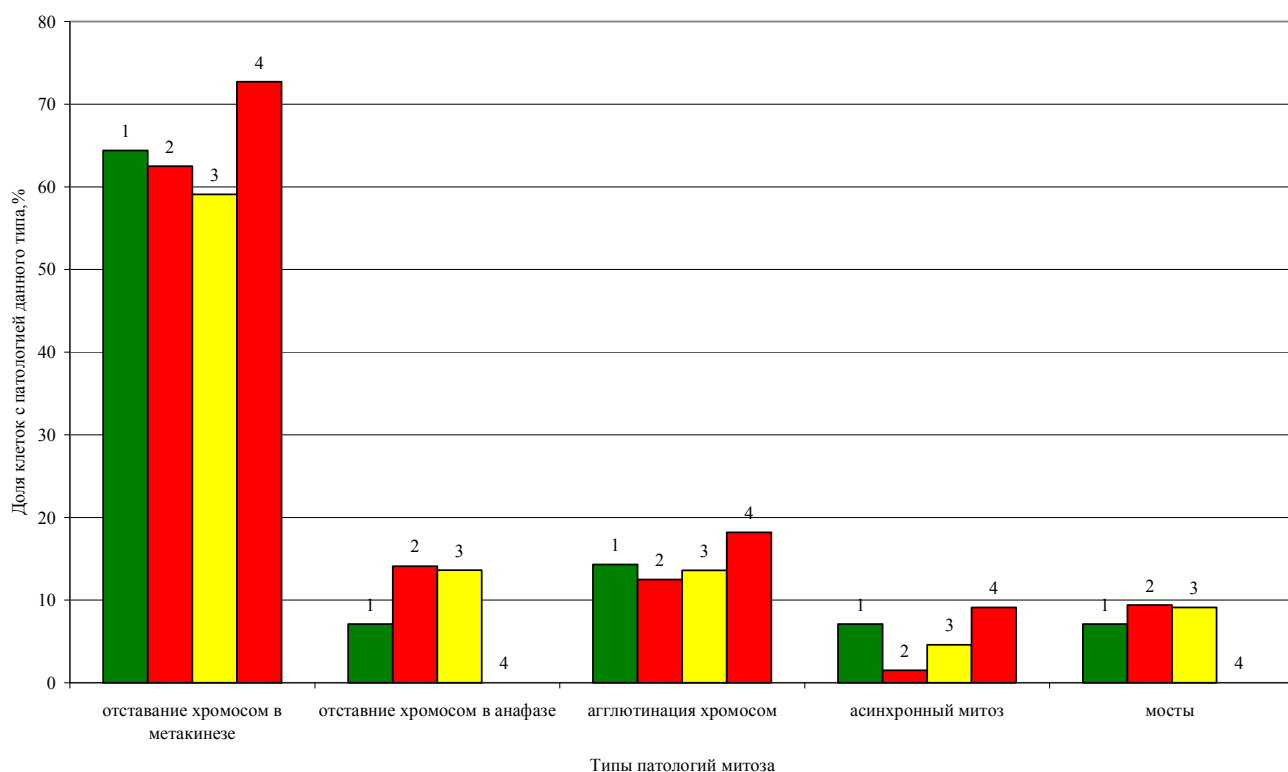


Рис. 16. Спектр патологий митоза в корневой меристеме проростков в выделенных группах на территории 491 км. автомагистрали Москва - Воронеж вблизи автомагистрали (2012 г. исследования). Обозначения: 1 – слабомутабельная группа № 1; 2 – мутабельная группа № 2; 3 – промежуточная группа № 3; 4 – мутабельная группа № 4.

По-видимому, соотношение показателей ядрышковой и митотической активностей является тонким механизмом регуляции гомеостаза растения на ранних этапах онтогенеза среди проростков из мутабельных групп. В группе № 4 низкая митотическая активность и отсутствие задержки на стадии профазы (точка Checkpoint), отсутствие мостов приводит к большой доле грубых нарушений митоза, в группе № 2 высокий митотический индекс позволяет невелировать патологический фон и снижать долю грубых нарушений, за счет репаративной работы клеточной системы (мосты, отставание хромосом в анафазе, как показатель работы репаративных систем).

Низкие показатели митотической активности в слабомутабильной группе (митотический индекс –  $4,3 \pm 0,6$  %, митотический индекс без профаз –  $2,0 \pm 0,5$  %) могут быть связаны с негативным влиянием автотранспорта. Для проростков из слабомутабильной группы характерны средние значения площади поверхности ядрышек (таблица 12), высокий процент клеток с высокоактивными ядрышками типа кора-сердцевина ( $47,0 \pm 12,9$  %), в сравнении с другими группами. В спектре патологий митоза преобладает отставание хромосом в метакинезе (64,4 %), по остальным патологиям показатели средние, в сравнении с другими группами (отставание хромосом в анафазе – 7,1 %, агглютинации хромосом – 14,3 %, асимметричный митоз – 7,1 %, мосты – 7,1 %).

Проростки из промежуточной группы № 3 обладают средними значениями показателей митотической и ядрышковой активностей, по показателю патологий митоза данная группа ближе к слабомутабильной группе проростков № 1 (таблица 12).

На территории в глубине лесного массива выделено 3 группы (рис. 17). В слабомутабильную группу (группа № 3) входят 4 проростка (22,2 %), в промежуточную (группа № 1) – 4 проростка (22,2 %), в мутабильную (группа № 2) – 10 проростков (55,6 %). Проростки из мутабильной группы с высокими значениями патологий митоза преобладают в семенном потомстве деревьев дуба черешчатого, произрастающих на удалении от автомагистрали. Цитогенетические показатели в выделенных группах представлены в таблице 13. Спектр патологий митоза в выделенных группах представлен на рисунке 18.

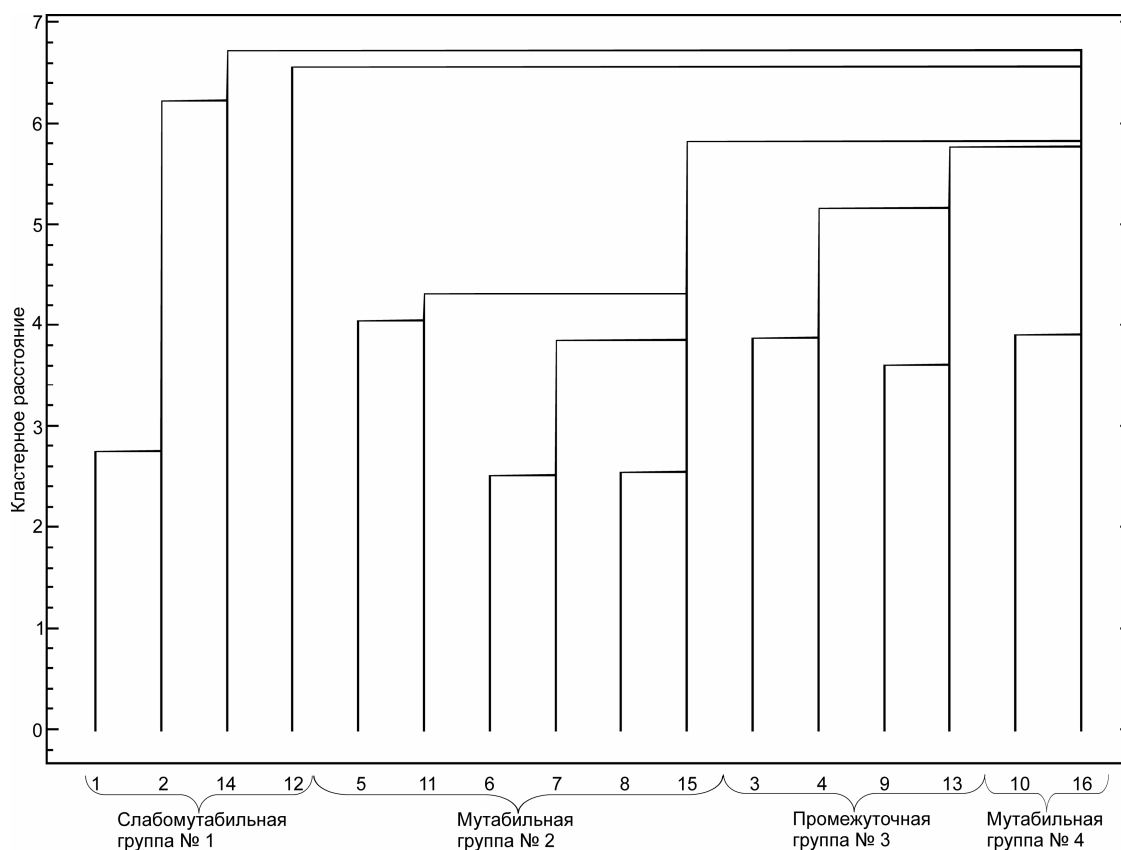


Рис.17. Дендрограммы кластерных расстояний между проростками семенного потомства дуба черешчатого в 2012 г. на территории 491 км. автомагистрали Москва - Воронеж, вблизи автомагистрали

Проростки из мутабельной группы характеризуются высокими значениями показателя патологий митоза (патологии митоза с учетом профаз –  $11,8 \pm 0,8$  %; патологии митоза без учета профаз –  $16,6 \pm 1,0$  %), это указывает на сильное повреждение митотического аппарата клеточной меристемы проростков данной группы. В группе снижена митотическая активность и составляет  $5,2 \pm 0,8$  % (с учетом профаз),  $3,6 \pm 0,4$  % (без учета профаз). Ядрышковые показатели характеризуются сниженной активностью ядрышек типа кора – сердцевина и «кора-серцевина с вакуолью» (минимальные площади поверхностей в сравнении с другими группами (таблица 13)).

Характеристики митотического и ядрышкового аппарата проростков семян дуба черешчатого в выделенных группах на территории 491 км автомагистрали Москва - Воронеж, в глубине лесного массива, 2012 г.

Показатели \ Группа проростков	Группа проростков		
	Промежуточная группа № 1	Мутабельная группа № 2	Слабомутабельная группа № 3
Митотический индекс, %			
с учетом профаз	8,6 ± 1,8	5,2 ± 0,8	9,0 ± 2,8
без учета профа	3,9 ± 0,3	3,6 ± 0,4	3,2 ± 0,8
Доля клеток на стадии митоза, %			
Профаза	50,9 ± 7,1	27,5 ± 4,7	61,2 ± 6,4
Метафаза	18,2 ± 2,3	29,3 ± 2,5	12,4 ± 0,7
анафаза-телофаза	31,5 ± 4,7	43,3 ± 4,3	26,4 ± 6,8
Патологические митозы, %			
с учетом профаз	7,9 ± 1,9	11,8 ± 0,8	2,5 ± 0,3
без учета профа	15,3 ± 2,1	16,6 ± 1,0	6,8 ± 1,4
Площадь поверхности, мкм <sup>2</sup>			
одиночных ядрышек	92,6 ± 3,0	70,1 ± 2,4	72,9 ± 1,5
ядрышек типа «кора-сердцевина»	81,3 ± 5,0	62,5 ± 2,6	64,9 ± 2,1
ядрышек типа «кора-сердцевина с вакуолью»	99,2 ± 2,6	80,7 ± 2,3	85,9 ± 3,3
вакуолизированное ядрышко	50,6 ± 9,8	60,7 ± 6,7	44,7 ± 16,3
компактное ядрышко	53,6 ± 7,0	52,1 ± 10,1	38,8 ± 13,1
Доля ядрышек, %			
ядрышек типа «кора-сердцевина»	22,3 ± 4,5	54,1 ± 4,8	54,5 ± 6,0
ядрышек типа «кора-сердцевина с вакуолью»	73,2 ± 4,5	40,9 ± 1,8	41,3 ± 7,5
вакуолизированное ядрышко	2,3 ± 0,6	1,2 ± 0,2	0,8 ± 0,3
компактное ядрышко	2,2 ± 0,5	0,9 ± 0,2	3,4 ± 1,7

Максимально активными ядрышками являются вакуолизированное и компактное ядрышки, имеющие низкую долю в корневой меристеме проростков (доля вакуолизированных ядрышек – 1,2 ± 0,2 %; доля компактных ядрышек – 0,9 ± 0,2 %). В спектре патологий митоза присутствуют агглютинации хромосом (10 %), относящиеся к

нерепарируемым нарушением митоза, группа отмечена минимальными значениями среди групп по доле отставин хромосом в анафазе (10 %), метакинезе (65 %).

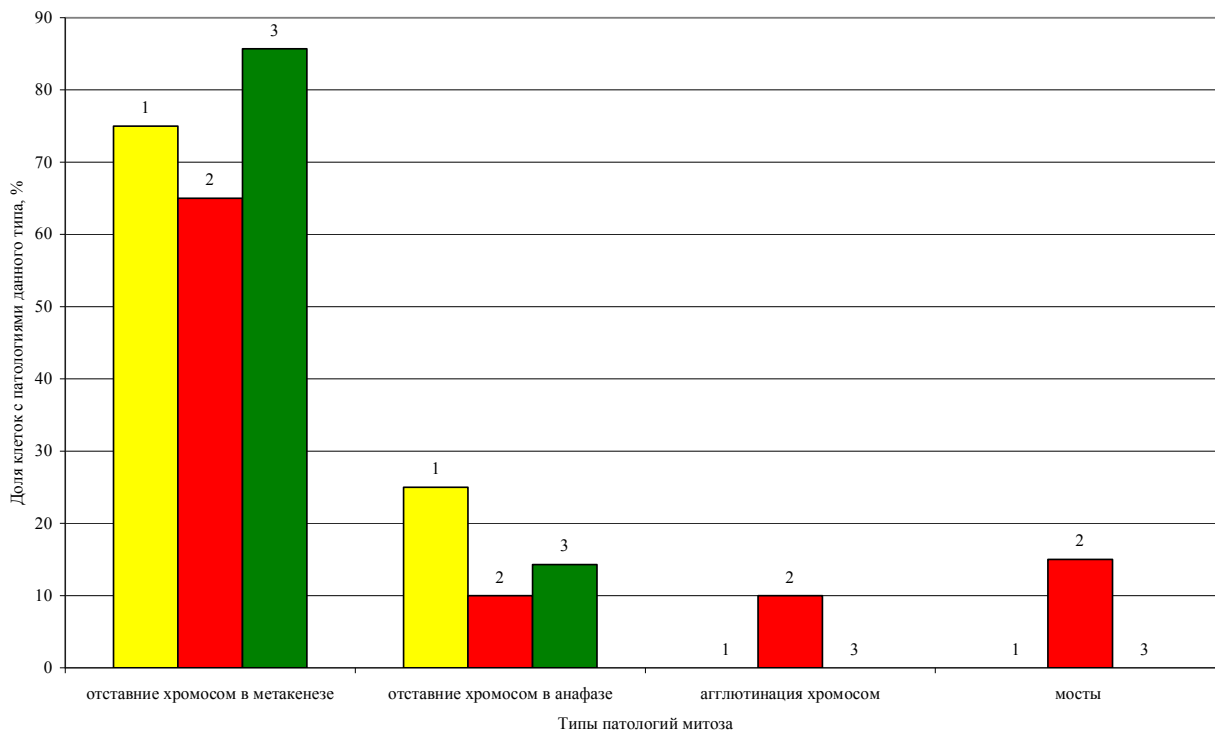


Рис. 18. Спектр патологий митоза в корневой меристеме проростков в выделенных группах на территории 491 км. автомагистрали Москва - Воронеж, в глубине лесного массива (2012 г. исследования). Обозначения: 1 – промежуточная группа № 1; 2 – мутабельная группа № 2; 3 – слабомутабельная группа № 3.

Слабомутабельная группа проростков имеет низкие показатели патологий митоза (патологии митоза с учетом профаз –  $2,5 \pm 0,3$  %; патологии митоза без учета профаз –  $6,8 \pm 1,4$  %), показатели митотической активности высокие (митотический индекс с учетом профаз –  $9,0 \pm 2,8$  %, митотический индекс без профаз –  $3,2 \pm 0,8$  %). Ядрышковые показатели проростков имеют средние значения (таблица 13), в сравнении с проростками из других групп, преобладают высокоактивные ядрышки типа кора-сердцевина. В спектре патологий митоза преобладают и занимают максимальное положение среди остальных групп отставние

хромосом в метакенезе (85,7 %), агглютинации хромосом, мосты отсутствуют. Таким образом, проростки данной группы не угнетены.

Промежуточная группа проростков по показателю патологий митоза ближе к мутабельной группе (таблица 13), при этом у проростков наблюдается высокая митотическая активность –  $8,6 \pm 1,8$  % (с учетом профаз),  $3,9 \pm 0,3$  % (без учета профаз), высокая ядрышковая активность (максимальные значения среди групп по показателям площадь поверхности одиночных ядрышек, ядрышек типа кора-сердцевина, «кора-сердцевина с вакуолью»), в меристеме преобладают умеренно активные ядрышки типа «кора-сердцевина с вакуолью». В спектре патологий митоза, в сравнении с остальными группами, наблюдается высокая доля клеток с отставаниями хромосом в анафазе (25 %), агглютинации хромосом и мосты отсутствуют. Исходя из выше изложенного, в клеточной системе проростков из промежуточной группы наблюдается компенсаторный механизм замещения поврежденных клеток новыми, за счет увеличения интенсивности клеточного деления и активации репаративных систем (преобладание профаз в митозе), усиления ядрышковой активности.

Таким образом, опыт 2012 года подтвердил результаты, полученные ранее: выделение групп по мутабельности (мутабельная, слабомутабельная, промежуточная группы), сходные характеристики групп по основным показателям (митотический индекс, патологии митоза), выделение мутабельных групп, отличающихся по ядрышковым характеристикам.

Полученные данные позволяют нам говорить о наличии фенотипического полиморфизма на клеточном уровне у проростков семян дуба черешчатого. Если рассматривать полиморфизм на уровне генов, белков, то на данном объекте исследования другими авторами были получены данные, также позволяющие говорить о его существовании. В изолированных популяциях на восточной границе ареала дуба черешчатого была показана аллозимная изменчивость (Муллагулов, 2008).

Этим автором изучался полиморфизм по целому ряду ферментов: 6-фосфоглюконатдегидрогеназа, шикиматдегидрогеназа, НАДНдегидрогеназа, малатдегидрогеназа, малик-энзима и др., авторами было показано, что из общей изменчивости двух популяций 94,6 % представлены внутривнутрипопуляционной компонентой, а межвыборочная составляющая равна всего 3,4 %. На представителях вида *Q. ilex* проводили анализ белков пыльцы, полученные данные подтвердили данные морфологического и белкового анализов семенного потомства (желудей) (Galvan et al., 2012). Для *Q. acutissima* показано, что генетическая вариабельность сосредоточена преимущественно внутри популяции (84%) (Zhang et al., 2013). Исследования хлоропластной ДНК образцов вида *Q. Variabilis* так же показали значимую внутривнутрипопуляционную генетическую вариабельность (Chen et al., 2012). Таким образом, среди представителей рода *Quercus* наблюдается высокая внутривнутрипопуляционная вариация изучаемых признаков на уровне генов, белков, клеток, тканей, органов.

Высокая гетерогенность внутри популяции по каким-либо признакам способствует выживанию вида. При меняющихся условиях внешней среды, в особенности при возрастании техногенной и рекреационной нагрузок на окружающую среду в целом и на отдельные составляющие экосистем, полиморфизм становится мощным фактором выживания. Отбор вариантов, наиболее приспособленных к новым условиям, ведет к изменению средних значений количественных признаков. Как следствие, увеличение изменчивости является признаком идущих в ней процессов адаптации (Гераськин, 2005). В свою очередь, функционирование экосистем поддерживается разнообразием видов растений, которое в частности может быть обеспечено генетическим разнообразием внутри вида (Castagneyrol et al., 2012). Из рассмотренных нами популяций деревьев дуба черешчатого с разных территорий, отличающихся по антропогенной нагрузке, более вариабельной оказалась популяция из



экологически «чистого» района, так как в данной популяции выделяется большее количество групп проростков, отличающихся по цитогенетическими показателям. В мутабельных группах на данной территории обнаружены две линии в изменении ядрышковых характеристик. В одной из групп преобладают высокоактивные ядрышки, в другой – умеренно активные, но с большей площадью поверхности. При равных долях клеток с патологиями митоза именно эти различия могут сыграть важную роль в адаптации популяции путем реализации более «выгодной» в данных условиях активности ядрышкообразующих районов хромосом. Данное предположение согласуется с выводами ряда авторов, показавших изменение активности ядрышкообразующих районов хромосом у разных видов растений при адаптации к стрессовому воздействию (Соболь, 2001; Муратова и др., 2009). На территориях, расположенных около автомагистрали, не происходит появления групп с подобными различиями между ядрышковыми показателями, что может свидетельствовать о снижении адаптивной способности данной популяции за счет снижения вариации признака среди особей. На хвойных растениях, также при рассмотрении цитогенетической изменчивости, была показана обратная ситуация – активация адаптивных процессов в популяциях сосны обыкновенной, которые подвергаются антропогенному воздействию (Гераськин, 2005). Другими авторами была изучена изменчивость ISSR-маркеров в популяциях вида *Adonis sibirica* на территориях с разной антропогенной нагрузкой. Показано достоверное снижение доли полиморфных локусов в сильно загрязненных популяциях по сравнению с популяциями, находящимися под слабым антропогенным влиянием. В сильно загрязненных популяциях отсутствуют редкие аллели (Боронникова, 2010). Действие антропогенного фактора может проявляться не только в прямом влиянии на организм, воздействие может быть опосредованно через изменение структуры видового ареала, его фрагментацию на ряд изолированных участков. Показано, что обобщенный

показатель генетической изменчивости тесно связан с географическими координатами. У светолюбивых видов ареал разомкнутый и, как следствие, изменчивость выше, чем у тенелюбивых растений (Горошкевич, 2007). Таким образом, антропогенная нагрузка, изменяя параметры не только самого объекта, но и его среды обитания, вызывает существенные изменения всего биогеоценоза. Именно такие изменения оказываются наиболее критичными для проявления генетической нестабильности древесных растений.

Рассматривая протекание митотического цикла в исследуемых популяциях в процессе адаптации к меняющимся экологическим условиям мест произрастания, можно дать следующую общую характеристику мутабельной и слабомутабельной групп проростков у дуба черешчатого (табл. 14). Мутабельные группы проростков характеризуются высокими значениями патологий митоза, расширением спектра патологий митоза (появление агглютинаций хромосом, асимметричных, трехполюсных митозов), более низким значение митотической активности, в сравнении со слабомутабельными группами проростков. Слабомутабельные группы проростков характеризуются низкой долей клеток с патологиями митоза, суженным спектром патологий митоза, высокой митотической активностью. Промежуточные группы характеризуются средним уровнем патологий митоза, остальные же изучаемые показатели могут варьировать в зависимости от изучаемой популяции проростков желудей дуба черешчатого. Общих тенденций в поведении ядрышковых характеристик не выявлено. По-видимому, ядрышковые характеристики определяются индивидуальными параметрами популяций. На опытной территории отмечается преобладание мутабельной группы (2001 г. – 50 %, 2007 г. (у автомагистрали) – 20,7 %), на менее загрязненной территории в глубине лесного массива доля мутабельной группы составила в 2007 г. 23,5%, на экологически чистой территории – 15 %. На экологически чистой территории преобладают проростки из промежуточных групп (65 %), в то

время как на опытной территории их доля ниже (2001 г. – 17,5 %, 2007 г. (лесной массив) – 47,1 %, 2007 г. (у автомагистрали) – 55,2 %).

Таблица 14

Цитогенетические характеристики слабомутабельных и мутабельных групп проростков желудей деревьев дуба черешчатого, произрастающих на антропогенно загрязненной и экологически «чистой» территориях

Показатели	«Мутабельная» группа	«Слабомутабельная» группа
Уровень патологических митозов	от 23,0±2,1 до 26,3±3,1 % – загрязненная территория 6,1±1,7 % - экологически «чистая» территория	от 11,7±4,2 до 19,6±2,6 % – загрязненная территория 2,9±0,4 % – экологически «чистая» территория
Спектр патологических митозов	Расширение спектра патологий – появление агглютинаций хромосом, асинхронных митозов	Отсутствие или низкая доля клеток с нерепарируемыми нарушениями - агглютинаций хромосом, асинхронных митозов
Митотическая активность	На загрязненной территории митотический индекс, подсчитанный с учетом клеток на стадии профазы - от 6,3±0,4 до 8,1±0,6 %, Митотический индекс, подсчитанный без учета клеток на стадии профазы, от 4,1±0,8 до 5,5±0,3 % На экологически «чистой» территории митотический индекс от 10,4±0,8 до 12,5±1,2 %, Митотический индекс, подсчитанный без учета клеток на стадии профазы, от 4,7±0,4 до 5,5±0,3 %	На загрязненной территории митотический индекс от 6,8±0,5 до 8,3±0,6 %, Митотический индекс, подсчитанный без учета клеток на стадии профазы, от 4,2±1,1 до 5,1±0,3 %) - На экологически «чистой» территории митотический индекс 9,3±0,7 %, он же, подсчитанный без учета клеток на стадии профазы, 4,1±0,2 %
Ядрышковые характеристики	На территории 9 км. Задонского шоссе прилегающей к автомагистрали в мутабельной группе проростков показатели ниже, чем в остальных группах. Из промежуточных групп на данной территории группа № 3 с меньшим значением патологий митоза имеет большие площади поверхностей по большинству типов ядрышек, в сравнении с группой № 2. В глубине лесного массива в мутабельной группе проростков снижена доля высокоактивных ядрышек, однако это компенсируется максимальными значениями площадей поверхностей ядрышек среди всех групп.	

	<p>На экологически «чистой» территории среди мутабельных и промежуточных групп есть 2 противоположные тенденции: в мутабельной группе № 4 (в промежуточной № 1) преобладают высоко активные ядрышки, в мутабельной группе № 2 (в промежуточной № 5) преобладают умеренно активные ядрышки. В группе № 2, 4 доля компактных ядрышек выше, чем в других сходных по типу группах.</p> <p>В слабомутабельной группе проростков преобладают умеренно активные ядрышки, площадь поверхности которых также выше. Площадь поверхности одиночных типов ядрышек выше, чем в остальных группах, где наблюдалось преобладание долей клеток с высоко активными ядрышками.</p>
--	--

Ранее были выполнены работы (Карпова, 2009; Калаев и др., 2010) по оценке цитогенетического полиморфизма семенного потомства березы повислой (*Betula pendula* Roth) и сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*) показали также наличие в потомстве трех типов групп проростков: мутабельная, слабомутабельная, промежуточная. На этих объектах было показано, что мутабельная группа отличается высокими значениями патологий митоза и увеличением площадей поверхности одиночных ядрышек в интерфазе. В спектре патологий митоза отмечаются трехгрупповая метафаза, асимметричный митоз, характерные только для данной группы. Высокие значения патологий митоза и расширение спектра патологий в мутабельных группах согласуется с данными, полученными в ходе нашего исследования. В слабомутабельной группе преобладают мосты в спектре патологий митоза, по данным ряда авторов это свидетельствует об активной работе систем репарации (Акопян, 1967; Симаков, 1983). Промежуточные группы характеризуются средними значениями цитогенетических характеристик. На чистой территории авторы отмечают преобладание группы «мутабельных» проростков, тогда как в популяции проростков дуба черешчатого преобладают проростки из промежуточных групп, на загрязненных территориях в популяциях проростков сосны обыкновенной и березы повислой преобладает группа «слабомутабельных» проростков, в нашем исследовании было показано

преобладание проростков из мутабельных групп. Характерным отличием проростков сосны обыкновенной в мутабельной группе является отсутствие задержки клеток на стадиях митоза; данный факт объясняется неработающей системой проверки целостности хромосомного аппарата checkpoint.

В исследовании на дубе особенно можно отметить две разных поведенческих стратегии проростков из мутабельных групп на экологически чистой территории, что не было отмечено для сосны обыкновенной и березы повислой.

Таким образом, сравнивая два объекта покрытосеменных древесных растений по цитогенетическому полиморфизму, можно отметить общую тенденцию разделения проростков по степени мутабельности. Исходя из того, что объекты исследований (*Betula pendula* Roth., *Quercus robur* L.) являются представителями отдельных самостоятельных семейств, то различия в размерах слабомутабельной, мутабельной и промежуточных групп на опытных территориях в зависимости от характера антропогенной нагрузки, а также различия в изменении цитогенетических показателей внутри групп можно объяснить видоспецифичными особенностями. Однако наличие этих групп является характерной чертой семенного потомства древесных растений, которую можно использовать в лесной селекции (отбор мутабельного потомства) и создания насаждений с устойчивым генетическим аппаратом (слабомутабельное потомство). В исследованиях фенотипической пластичности и экологической адаптации на пробковом дубе было показано сохранение физиологических параметров родительских особей у сеянцев, выращенных из семян изучаемых популяций при переносе семенного потомства в новые условия (Ramirez et al., 2010), нами была установлена взаимосвязь цитогенетических параметров семян и морфологических параметров сеянцев в выделенных группах. Учитывая возможность сохранения признаков, путем наследования, данные о цитогенетических вариациях

можно использовать в лесной селекции (отбор мутабельного потомства) и в создании насаждений с устойчивым генетическим аппаратом (слабомутабельное потомство).

## Глава 5. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СЕМЕННОГО ПОТОМСТВА И СЕЯНЦЕВ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО

### 5.1. Морфологическая оценка семенного материала деревьев дуба черешчатого

Нами была предпринята попытка изучения морфологических показателей, так как ранее не было показано влияния цитогенетических характеристик на морфо-физиологические особенности проростков.

На опытных территориях 491 км автомагистрали Москва - Воронеж, находящихся около автомагистрали и в глубине лесного массива, были отобраны партии желудей для морфологического анализа.

Среди семенного материала, собранного с опытных территорий, степень повреждения поверхности желудя не превышала 15 %, поэтому данный материал был использован для морфологического и цитогенетического анализов, а также для получения сеянцев дуба черешчатого.

На опытной территории 491 км около автомагистрали Москва - Воронеж показатели желудей по весу колеблются от минимума 2,9 г. до максимума 8,2 г. Среднее по весу составила 5,2 г. Преобладают желуди с массой семени от 5 до 6 г. (41 % от общего числа семян) (Рис. 19). 29 % желудей имеют массу от 4 до 5 г.

Показатели по длине желудя варьируют в пределах от 2,5 см до 3,6 см. Среднее значение по длине желудя составило 3,1 см. Показатели желудей по диаметру семени колеблются от минимума в 1,2 см до максимума в 1,9 см. Среднее значение поперечного размера желудей составило 1,6 см.

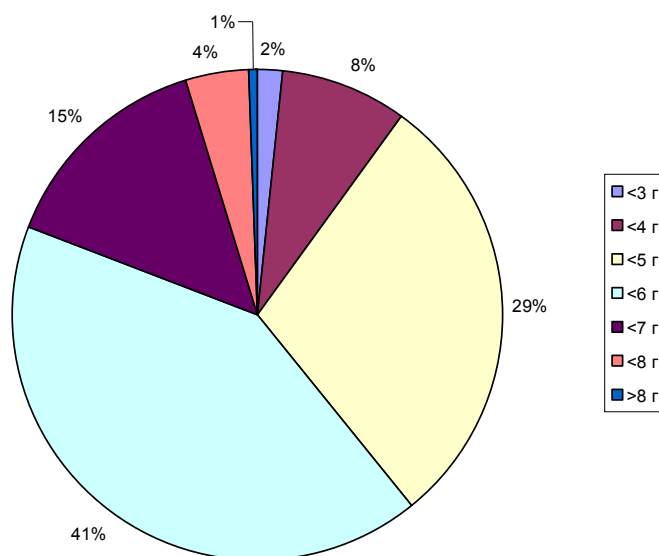


Рис. 19. Вариация массы желудей, собранных на территории около 489 км. автомагистрали Воронеж – Москва, по весу (в г).

На опытной территории 491 км автомагистрали Москва - Воронеж в глубине лесного массива показатели желудей по весу колеблются от минимального значения 3,7 г до максимального - 10,3 г (среднее значение по весу составило 6,6 г).

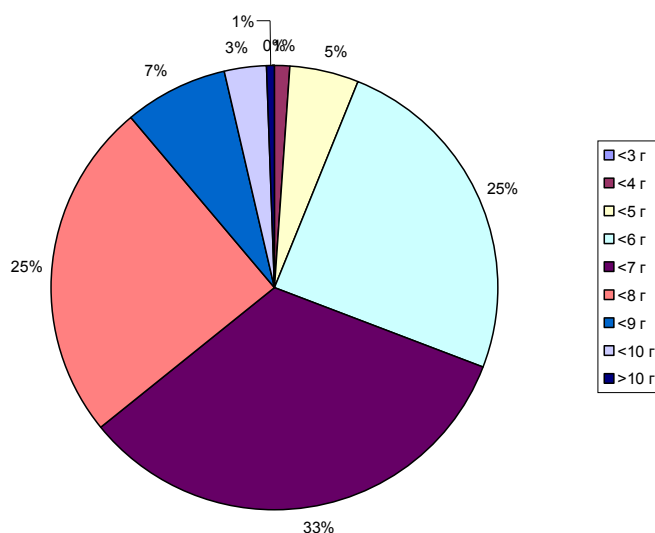


Рис. 20. Вариация массы желудей, собранных на территории в глубине лесного массива 491 км. автомагистрали Москва - Воронеж, (в г)

Основная масса желудей по весу находится в интервале от 5 до 8 г, причем наибольшей долей обладают семена с массой от 6 до 7 г (рис. 20). Показатели по длине желудя составляют от 2,1 см до 3,8 см. Среднее по длине желудя составила 3,1 см. Диаметр желудя колеблется от 1,4 см до 3,3 см. Среднее значение поперечного размера желудей составило 1,8 см.

Сравнение семенного потомства с разных опытных территорий показало, что максимальными показателями по весу обладает семенное потомство с опытной территории 491 км автомагистрали Москва - Воронеж в глубине лесного массива – 6,6 г. (различия достоверны ( $P < 0,01$ )). Достоверные различия по длине желудя были найдены между семенным потомством с опытных территорий 491 км около автомагистрали и в глубине лесного массива ( $P < 0,01$ ).

Изучение поперечного размера желудей показало, что наибольшим средним значением обладает семенное потомство с территории 491 км в глубине лесного массива – 1,8 см, различия достоверны ( $P < 0,01$ ).

Таким образом, морфологический анализ показал, что максимальными значениями по морфологическим признакам среди отобранного семенного материала обладают желуди, собранные с территории в глубине лесного массива 491 км автомагистрали Воронеж – Москва, которые отличаются наибольшим весом и поперечным размером семени.

Анализ кривых вариаций изучаемых параметров показывает насколько устойчива популяция по отношению к действию факторов окружающей среды (Лакин, 1990), а также дает возможность оценить потенцию образования новых форм в критических условиях.

Проведенный анализ изменчивости массы желудей дуба черешчатого показал, что наиболее широкие пределы варьирования по данному показателю обнаруживаются среди семенного потомства, собранного с деревьев, произрастающих на территории лесного массива 491 км автомагистрали Воронеж – Москва. Для этой группы желудей, масса



которых варьирует от 3 до 10 г, был представлен максимально широкий спектр значений. Данный факт может свидетельствовать о максимальной стабильности семенного потомства на данной площади по отношению к другим опытным территориям.

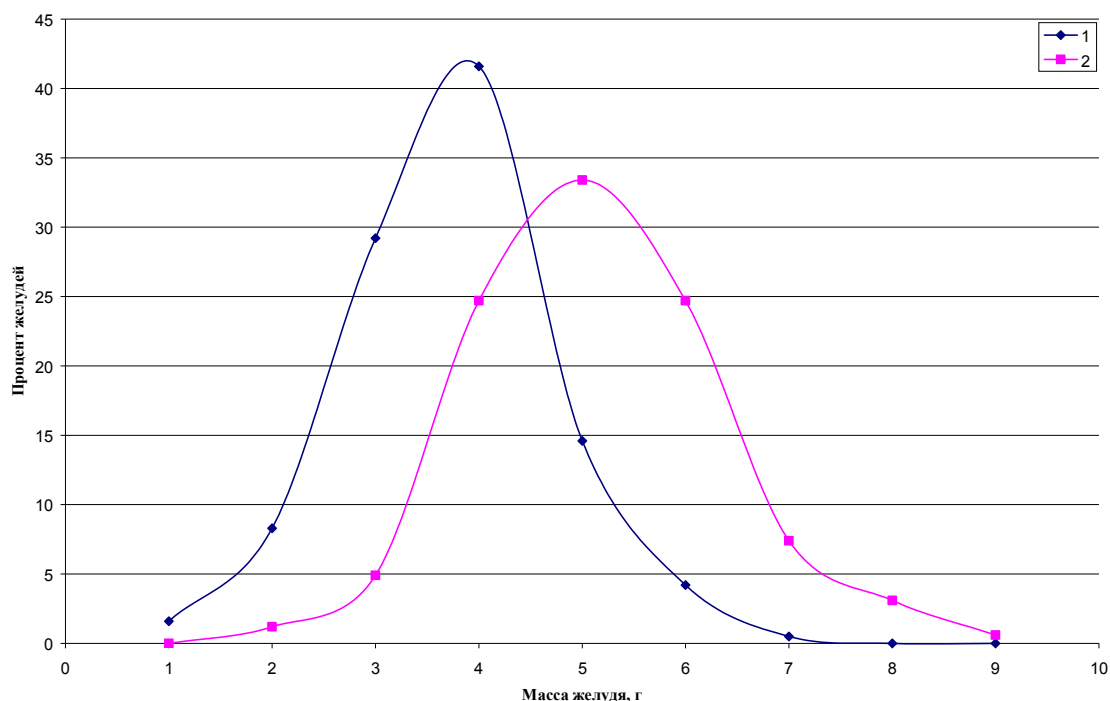


Рис. 21. График распределения желудей, собранных на опытных территориях по весу (в г.). Обозначения: 1 - территория около автомагистрали Москва - Воронеж; 2 – территория в глубине лесного массива

Для семенного потомства деревьев, произрастающих на территории вблизи 491 км автомагистрали Москва - Воронеж, построение графика распределения по Гауссу показало максимальную долю семян с значениями массы близкими к медиане (рис. 21), это может свидетельствовать о высоком давлении неблагоприятных факторов среды, элиминирующих образование крайних форм. Зона оптимума для семенного потомства данных деревьев уже в сравнении с другими опытными территориями. Это свидетельствует о низкой экологической пластичности популяции.

Таким образом, наибольшей вариацией признака среди семенного потомства обладает семенное потомство деревьев, произрастающих в

глубине лесного массива в районе 491 км автомагистрали Москва - Воронеж. Деревья находятся в наиболее оптимальных условиях и является устойчивой к действию экологических факторов, генерирует семенное потомство с максимальными значениями веса и длины семени. Низкой экологической пластичностью (по данным графика распределения по Гауссу) обладают деревья, произрастающие около 491 км автомагистрали Воронеж – Москва.

## 5.2. Морфологическая оценка сеянцев, выращенных из семенного потомства деревьев, произрастающих на территориях с разной антропогенной нагрузкой

Вопрос о возможном влиянии комплекса цитогенетических показателей на последующий рост растения остается открытым. В настоящее время проводятся исследования по морфологии и физиологии сеянцев древесных растений, активно изучаются вопросы порослевого возобновления, изучение связи разных стадий онтогенеза растений остается слабоизученным.

В ходе исследования нами была предпринята попытка установить связь между цитогенетическими и морфологическими параметрами. Для определения интенсивности ростовых процессов проводилось двух кратное измерение (273 и 313 день с момента посадки) морфологических показателей (таблица 15).

Морфологические параметры роста сеянцев, выращенных из разного  
семенного материала

Группа проростков Показатели	Сеянцы из желудей, собранных вблизи автомагистрали		Сеянцы из желудей, собранных в глубине лесного массива	
	273 день с момента посадки	313 день с момента посадки	273 день с момента посадки	313 день с момента посадки
Высота сеянца, см	10,8 ± 0,9	10,1 ± 0,9*	11,5 ± 0,5	12,6 ± 0,5
Диаметр сеянца, см	0,16 ± 0,01***	0,20 ± 0,03	0,22 ± 0,01	0,24 ± 0,01
Число листьев	3,4 ± 0,2***	2,6 ± 0,4***	5,5 ± 0,2	7,4 ± 0,5
Длина первого листа	3,7 ± 0,3	2,1 ± 0,4	4,1 ± 0,3	2,9 ± 0,4
Ширина первого листа, см	1,7 ± 0,2	1,0 ± 0,2	2,1 ± 0,2	1,9 ± 0,5
Длина второго листа, см	3,9 ± 0,3*	2,4 ± 0,4*	4,3 ± 0,3	3,7 ± 0,4
Ширина второго листа, см	1,8 ± 0,1*	1,4 ± 0,2*	2,3 ± 0,2	2,0 ± 0,2
Длина третьего листа, см	3,6 ± 0,4*	1,6 ± 0,4***	4,8 ± 0,3	4,0 ± 0,3
Ширина третьего листа, см	1,9 ± 0,2**	0,8 ± 0,2***	2,6 ± 0,2	2,2 ± 0,2

Обозначения: \* - различия между сеянцами их желудей, собранных на опытных территориях, достоверны  $P < 0,05$ ; \*\* - различия достоверны  $P < 0,01$ ; \*\*\* - различия достоверны  $P < 0,001$ .

Внешний вид сеянцев, полученных из разных опытных партий желудей, представлен на рисунках 22, 23.

Сеянцы, выращенные из желудей, собранных около автомагистрали, показали низкую ростовую динамику. В 273 день с момента посадки высота побега составила  $10,8 \pm 0,9$  см, диаметр побега у поверхности почвы –  $0,16 \pm 0,01$  см, количество листьев  $3,4 \pm 0,2$ , длина первых трех листьев варьировала в интервале от  $3,6 \pm 0,4$  см до  $3,9 \pm 0,3$  см, ширина – от  $1,7 \pm 0,2$  см до  $1,9 \pm 0,2$  см. В 313 день с момента посадки высота побега составила  $10,1 \pm 0,9$  см, диаметр побега у поверхности почвы –  $0,19 \pm 0,03$  см, количество листьев  $2,6 \pm 0,4$ , минимальная длина первых трех листьев



Рис. 22. Сеянцы, выращенные из желудей, собранных около автомагистрали Воронеж – Москва.



Рис. 23. Сеянцы, выращенные из желудей, собранных в глубине лесного массива автомагистрали Воронеж – Москва.

составила от  $1,6 \pm 0,4$  см., максимальная –  $2,4 \pm 0,4$  см, ширина листьев варьировала в пределах от  $0,8 \pm 0,2$  см. до  $1,4 \pm 0,2$  см. Различия между измерениями по всем показателям, за исключением высоты побега, достоверны ( $P < 0,05$ ). Снижение параметра средней высоты побега (сеянца) во втором измерении вызвано засыханием главного побега и последующим ростом бокового побега, уступающего по высоте первому. Снижение средних значений количества листьев, длины, ширины листовой пластинок объясняется засыханием листьев и исключением поврежденной поверхности, либо целого листа из измерения.

Сеянцы, выращенные из желудей, собранных в глубине лесного массива, показали высокую ростовую динамику. В 273 день с момента посадки высота побега составила  $11,5 \pm 0,5$  см, диаметр побега у поверхности почвы –  $0,22 \pm 0,01$  см, количество листьев  $5,5 \pm 0,2$ , длина первых трех листьев варьировала в интервале от  $4,1 \pm 0,3$  см до  $4,8 \pm 0,3$  см, ширина – от  $2,1 \pm 0,2$  см до  $2,6 \pm 0,2$  см. В 313 день с момента посадки высота побега составила  $12,6 \pm 0,5$  см, диаметр побега у поверхности почвы –  $0,25 \pm 0,01$  см, количество листьев  $7,4 \pm 0,5$ , минимальная длина первых трех листьев составила от  $2,9 \pm 0,4$  см, максимальная –  $4,0 \pm 0,3$  см, ширина листьев варьировала в пределах от  $1,9 \pm 0,5$  см до  $2,2 \pm 0,2$  см. Различия между измерениями достоверны по показателям диаметра побега, количества листьев, длины первого листа ( $P < 0,05$ ).

Отмечено увеличение высоты, диаметра побега, количества листьев. Длина и ширина листовых пластинок несколько снижалась из-за засыхания части листовой пластинки, либо полного засыхания листа.

Сравнение сеянцев, выращенных из разных партий опытных желудей, показало: желуди, собранные в глубине лесного массива, дают устойчивое, активно растущее потомство; желуди, собранные с территории вблизи автомагистрали, дают медленно растущие сеянцы, плохо переносящие биотические и абиотические факторы среды. Результаты нашего исследования сходны с ранее полученными выводами по

представителю рода *Quercus* дубу монгольскому (Усова, 2013). Авторами было показано, что лучшим по показателям роста является потомство маточного экземпляра, отселектированного по высоте, то есть потомство (выращенные сеянцы из семенного материала) высокого дерева.

### 5.3. Морфологический полиморфизм сеянцев деревьев дуба черешчатого

Проведенный расчет коэффициента вариации для морфологических параметров сеянцев показал сильную вариацию признаков: для всех показателей коэффициент вариации превышает 25%. Используя метод кластерного анализа, сеянцы были разделены на группы. Дендрограммы кластерных расстояний между сеянцами, выращенными из разных по морфологии и происхождению желудей, представлены на рис. 24-27. Выделенные группы различаются по показателям: высота сеянца, диаметр сеянца. По данным показателям выделяли следующие группы: активно растущие, медленно растущие, промежуточные. Возможность применения параметров активности роста ранее были показаны на примере сосны обыкновенной, на основе изучения интенсивности роста в высоту и по диаметру у сеянцев сосны обыкновенной были выделены группы сеянцев: нестандартные, стандартные, высокие группы (Ананьев, 2008).

Сеянцы, выращенные из желудей, собранных у автомагистрали Задонского шоссе, в обоих измерениях были разделены на 4 группы.

В возрасте 273 дней среди сеянцев выделены активнорастущая группа сеянцев № 1 (6 сеянцев – 25%), промежуточная группа № 2 (3 сеянца – 12,5 %), две медленно растущие группы - № 3 (7 сеянцев – 29,2 %), № 4 (8 сеянцев – 33,3 %).

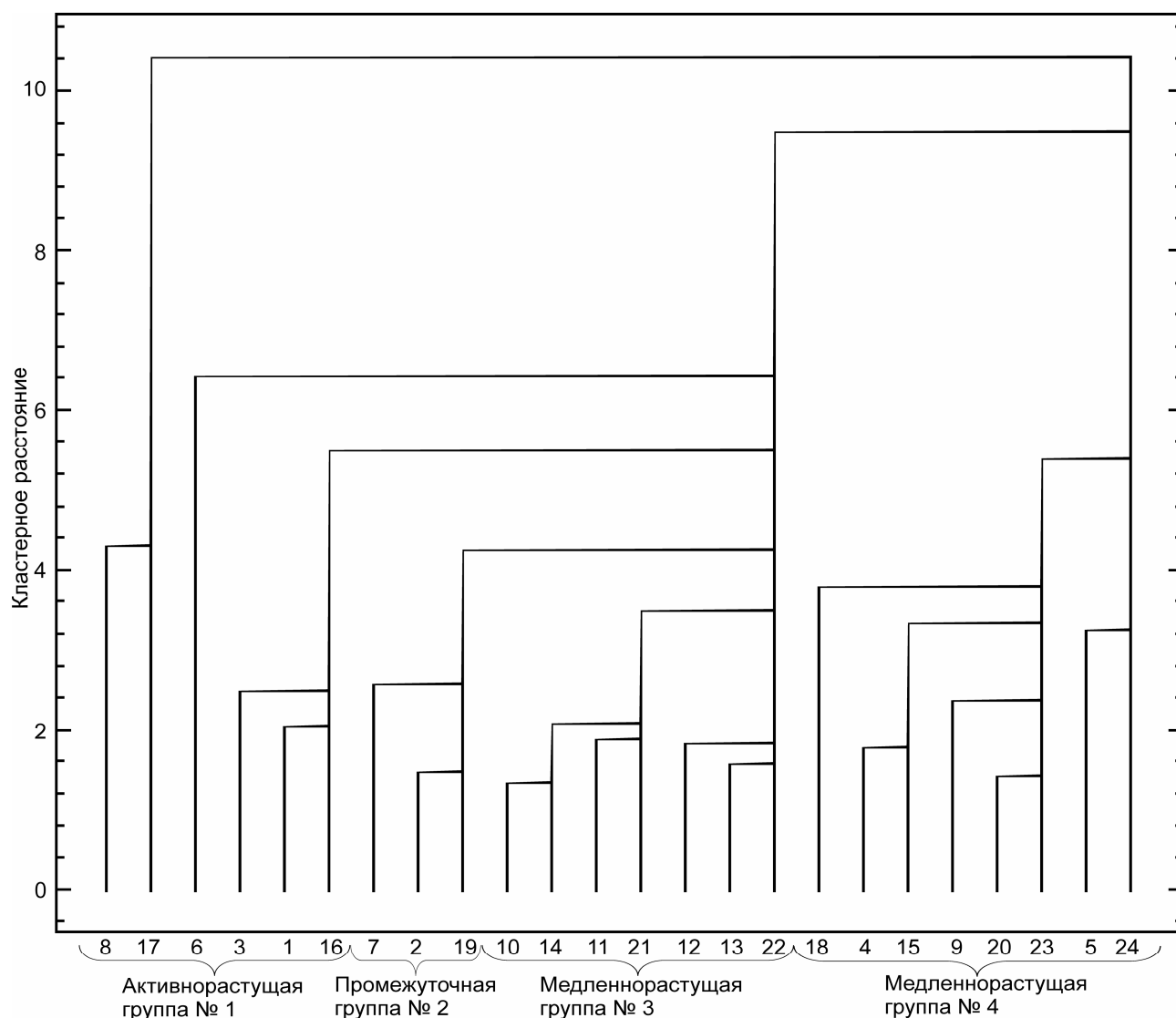


Рис. 24. Дендрограмма кластерных расстояний между сеянцами (273 дня с момента посадки) дуба черешчатого, выращенных из семян, собранных с деревьев на территории 491 км автомагистрали Москва – Воронеж, построенная на основании их морфологических показателей.

В возрасте 313 дней среди сеянцев выделены две промежуточные группы - № 1 (5 сеянцев – 22,7 %), № 2 (6 сеянцев – 27,3 %), активнорастущая группа № 3 (4 сеянца – 18,2 %), медленнорастущая группа № 4 (7 сеянцев – 31,8 %).

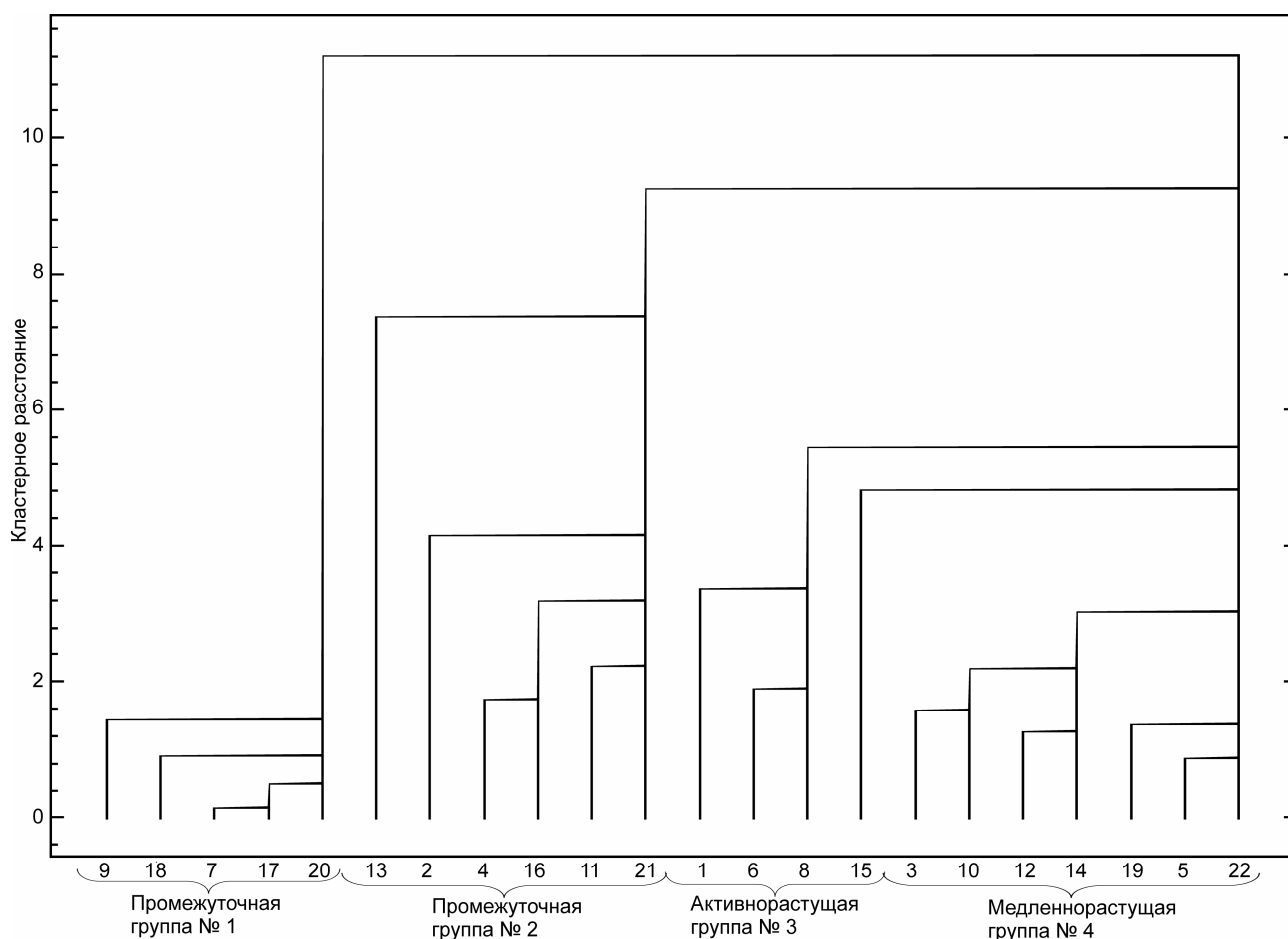


Рис. 25. Дендрограмма кластерных расстояний между сеянцами дуба черешчатого (313 дней с момента посадки), выращенных из семян, собранных с деревьев на территории 491 км автомагистрали Москва – Воронеж, построенная на основании их морфологических показателей.

Сеянцы, выращенные из желудей, собранных в глубине лесного массива района Задонского шоссе, в обоих измерениях были разделены на 3 группы.

В возрасте 273 дней среди сеянцев выделены активнорастущая группа сеянцев № 1 (11 сеянцев – 18,6 %), промежуточная группа № 2 (16 сеянцев – 27,1 %), медленнорастущая группа № 3 (32 сеянцев – 54,2 %).

В возрасте 313 дней среди сеянцев выделены промежуточная группа - № 1 (18 сеянцев – 34,0 %), активно растущая группа № 2 (11 сеянца – 20,8 %), медленно растущая группа № 3 (24 сеянцев – 45,3 %).



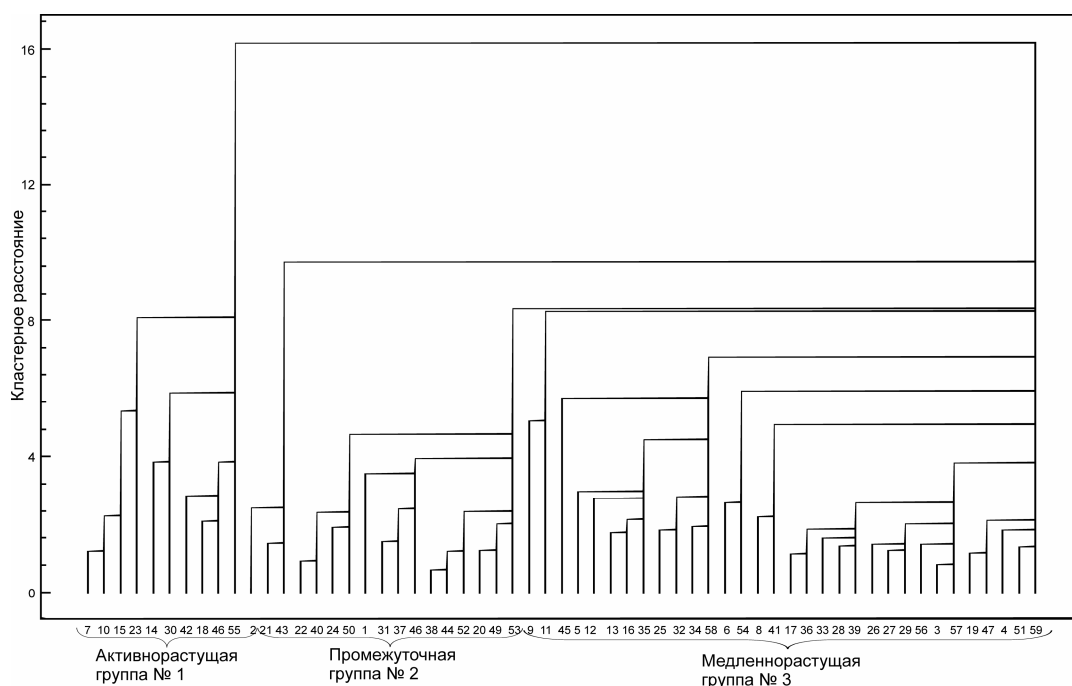


Рис. 26. Дендрограмма кластерных расстояний между сеянцами дуба черешчатого (273 дня с момента посадки), выращенных из семян, собранных с деревьев в глубине лесного массива на территории 491 км автомагистрали Москва – Воронеж, построенная на основании их морфологических показателей.

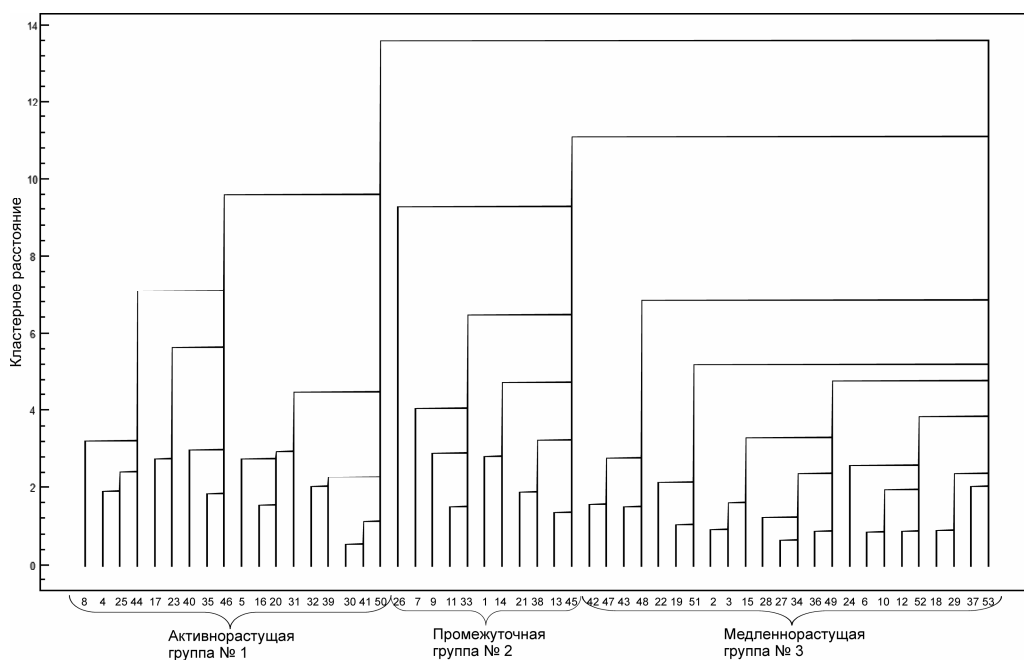


Рис. 27. Дендрограмма кластерных расстояний между сеянцами дуба черешчатого (313 дней с момента посадки), выращенных из семян, собранных с деревьев в глубине лесного массива на территории 491 км автомагистрали Москва – Воронеж, построенная на основании их морфологических показателей.

Морфологические параметры сеянцев в выделенных группах представлены в таблицах 16-19.

Таблица 16

Характеристики морфологических показателей роста сеянцев дуба черешчатого (273 дня с момента посадки) в выделенных группах на территории 491 км автомагистрали Москва – Воронеж, у автомагистрали.

Группа проростков	Активно-растущая группа № 1	Промежуточная группа № 2	Медленно-растущая группа № 3	Медленно-растущая группа № 4
Показатели				
Высота сеянца, см	16,5 ± 1,7	10,7 ± 0,9	9,8 ± 0,8	7,6 ± 0,7
Диаметр сеянца, см	0,22 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,13 ± 0,01
Число листьев	3,7 ± 0,5	3 ± 0	3,6 ± 0,2	3,3 ± 0,4
Длина первого листа, см	5,0 ± 0,3	5,3 ± 0,6	3,6 ± 0,2	2,9 ± 0,3
Ширина первого листа, см	2,5 ± 0,3	2,2 ± 0,5	2,1 ± 1,6	1,1 ± 0,2
Длина второго листа, см	5,2 ± 0,3	5,2 ± 0,2	4,1 ± 0,3	3,6 ± 0,3
Ширина второго листа, см	2,3 ± 0,2	2,5 ± 0,2	1,8 ± 0,2	1,8 ± 0,1
Длина третьего листа, см	5,0 ± 0,3	6,3 ± 0,6	4,8 ± 0,2	3,3 ± 0,1
Ширина третьего листа, см	2,3 ± 0,09	3,3 ± 0,2	2,5 ± 0,2	1,7 ± 0,2

Морфологические показатели сеянцев, выращенных из желудей с территории, прилегающей к автомагистрали, в выделенных группах.

Группы сеянцев в возрасте 273 дней с момента посадки. Активно-растущая группа сеянцев № 1 характеризуется см, среднее количество листьев составляет 3,7 ± 0,5 шт. Сеянцы из медленно-растущих групп № 3, 4 характеризуются низкой высотой – 7,6 ± 0,7 см, 9,8 ± 0,8 см, диаметр побега составил 7,6 ± 0,7 см, 9,8 ± 0,8 см, количество листьев – 3,3

$\pm 0,4$  шт.,  $3,6 \pm 0,2$  шт. Промежуточная группа № 3 включает сеянцы с средними значениями, по высоте и диаметру побега, в сравнении с другими группами, количество листьев минимально.

Таблица 17

Характеристики морфологических показателей роста сеянцев дуба черешчатого (313 дней с момента посадки) в выделенных группах на территории 491 км автомагистрали Москва – Воронеж, у автомагистрали.

Группа проростков	Промежуточная группа № 1	Промежуточная группа № 2	Активно-растущая группа № 3	Медленно-растущая группа № 4
Показатели				
Высота сеянца, см	$10,2 \pm 1,0$	$10,4 \pm 1,5$	$13,8 \pm 3,9$	$7,6 \pm 0,8$
Диаметр сеянца, см	$0,16 \pm 0,02$	$0,29 \pm 0,08$	$0,19 \pm 0,03$	$0,16 \pm 0,01$
Число листьев	0	$2 \pm 0,3$	$4,8 \pm 0,8$	$3,7 \pm 0,5$
Длина первого листа	0	$4,4 \pm 0,4$	$2,9 \pm 0,2$	$2,6 \pm 0,2$
Ширина первого листа, см	0	$2,1 \pm 0,2$	$1,6 \pm 0,1$	$1,3 \pm 0,1$
Длина второго листа, см	0	$4,8 \pm 0,6$	$2,5 \pm 0,3$	$3,1 \pm 0,3$
Ширина второго листа, см	0	$2,4 \pm 0,4$	$1,6 \pm 0,2$	$1,9 \pm 0,1$
Длина третьего листа, см	0	0	$2,8 \pm 0,3$	$3,3 \pm 0,3$
Ширина третьего листа, см	0	0	$1,4 \pm 0,2$	$1,8 \pm 0,2$

Группы сеянцев в возрасте 313 дней с момента посадки. Активно-растущая группа сеянцев № 3 включает сеянцы с высотой побега  $13,8 \pm 3,9$  см, диаметром побега –  $0,19 \pm 0,03$  см, среднее количество листьев составляет  $4,8 \pm 0,8$  шт. Сеянцы из медленно-растущей группы № 4 характеризуются низкой высотой –  $7,6 \pm 0,8$  см, диаметр побега составил  $0,16 \pm 0,01$  см, количество листьев –  $3,7 \pm 0,5$  шт. Промежуточные группы № 2, 3 включают сеянцы с средними значениями, по высоте и диаметру побега, в сравнении с другими группами, количество листьев минимально.

Характеристики морфологических показателей роста сеянцев дуба черешчатого (273 дня с момента посадки) в выделенных группах на территории 491 км автомагистрали Москва – Воронеж, в глубине лесного массива.

Группа проростков Показатели	Активно- растущая группа № 1	Промежуточная группа № 2	Медленно – растущая группа № 3
Высота сеянца, см	14,0 ± 1,5	13,2 ± 8,9	12,1 ± 0,6
Диаметр сеянца, см	0,25 ± 0,02	0,24 ± 0,2	0,24 ± 0,01
Число листьев	6,8 ± 0,6	4,4 ± 0,3	5,6 ± 0,3
Длина первого листа	4,3 ± 0,8	4,9 ± 0,3	4,5 ± 0,4
Ширина первого листа, см	2,4 ± 0,6	2,8 ± 0,2	2,2 ± 0,1
Длина второго листа, см	2,5 ± 0,1	5,9 ± 0,2	4,8 ± 0,2
Ширина второго листа, см	1,5 ± 0,1	3,0 ± 0,2	2,6 ± 0,1
Длина третьего листа, см	5,5 ± 0,2	6,1 ± 0,3	5,2 ± 0,3
Ширина третьего листа, см	2,9 ± 0,5	3,2 ± 0,2	2,9 ± 0,1

Морфологические показатели сеянцев, выращенные из желудей с территории, расположенной в глубине лесного массива, в выделенных группах.

Группы сеянцев в возрасте 273 дня с момента посадки. Активнорастущая группа № 1 включает сеянцы с высотой побега  $14,0 \pm 1,5$  см, диаметром побега –  $0,25 \pm 0,02$  см, среднее количество листьев составляет  $6,8 \pm 0,6$  шт. Сеянцы из медленнорастущих групп № 3 характеризуются низкой высотой –  $12,1 \pm 0,6$  см, диаметр побега составил  $0,24 \pm 0,01$  см, количество листьев –  $5,6 \pm 0,3$  шт. Промежуточная группа № 2 включает сеянцы с средними значениями, по высоте и диаметру побега и по количеству листьев.

Характеристики морфологических показателей роста сеянцев дуба черешчатого (313 дней с момента посадки) в выделенных группах с территории 491 км автомагистрали Москва – Воронеж, в глубине лесного массива.

Группа проростков Показатели	Промежуточная группа № 1	Активно-растущая группа № 2	Медленно-растущая группа № 3
Высота сеянца, см	13,4 ± 1,0	15,4 ± 1,1	11,2 ± 0,7
Диаметр сеянца, см	0,27 ± 0,01	0,32 ± 0,02	0,21 ± 0,01
Число листьев	8,2 ± 1,0	9,7 ± 0,8	6,2 ± 0,5
Длина первого листа	3,3 ± 0,7	5,9 ± 0,8	4,2 ± 0,3
Ширина первого листа, см	1,6 ± 0,2	5,6 ± 2,6	2,2 ± 0,2
Длина второго листа, см	4,4 ± 0,9	6,1 ± 0,6	4,4 ± 0,3
Ширина второго листа, см	2,5 0,6	3,2 ± 0,4	2,4 ± 0,2
Длина третьего листа, см	5,0 ± 0,4	6,3 ± 0,6	4,5 ± 0,3
Ширина третьего листа, см	2,6 ± 0,2	3,5 ± 0,3	2,5 ± 0,2

Группы сеянцев в возрасте 313 дней с момента посадки. Активно-растущая группа сеянцев № 2 характеризуются высотой побега  $15,4 \pm 1,1$  см, диаметром побега –  $0,32 \pm 0,02$  см, среднее количество листьев составляет  $9,7 \pm 0,8$  шт. Сеянцы из медленно-растущей группы № 3 характеризуются низкой высотой –  $11,2 \pm 0,7$  см, диаметр побега составил  $0,21 \pm 0,01$  см, количество листьев –  $6,2 \pm 0,5$  шт. Промежуточная группа № 1 включают сеянцы со средними значениями по высоте, диаметру побега, по количеству листьев.

Сравнение ростовой динамики и выделение групп в двух опытных измерениях на одних и тех же сеянцах выявило интересные факты. При том, что сеянцы из двух опытов росли на одной и той же территории, удаленной от автомагистрали, на почвах идентичных месту произрастания

материнских деревьев, динамика изучаемых показателей среди сеянцев разная.

Так, в сеянцы, выращенные из желудей, собранных у автомагистрали, преобладают сеянцы из медленно растущих групп. Со временем, при подрастании сеянцев, идет выравнивание показателей среди групп, происходит увеличение доли сеянцев из промежуточных групп, доля сеянцев из активнорастущей группы снижается. Это может быть отдаленным эффектом воздействия автотранспорта на материнские деревья и процесс образования, созревания семенного потомства.

Для сеянцев, полученных из желудей с территории лесного массива, где интенсивность воздействия автотранспорта меньше, характерно преобладание медленно растущих сеянцев, однако уже во втором опытном измерении параметров их доля снижается, за счет увеличения активнорастущих и промежуточных групп сеянцев. Увеличивается разница показателей между выделенными группами. Данная ростовая динамика свидетельствует о заложенном ростовом потенциале сеянцев из промежуточной и активнорастущей групп.

При анализе взаимосвязей между выделенными группами по цитогенетическим и морфологическим параметрам удалось выявить их взаимосвязь.

Сравнивая между собой цитогенетические и морфологические параметры семенного потомства и сеянцев, мы отметили определенные закономерности.

На территории, прилегающей к автомагистрали, проростки из слабомутабельной группы обладают низкими значениями патологий митоза, сеянцы из активно растущей группы превосходят остальные группы по высоте и диаметру побега, количеству листьев, проростки из слабомутабельной группы обладают низкими значениями митотической активности и средними показателями ядрышковой активности, то есть нет потенциального запаса роста, доля сеянцев из активнорастущей группы

снижается (273 дня с момента посадки – 25 %, 313 дней с момента посадки – 18,2 %).

Проростки семян из мутабельных групп обладают высокой степенью повреждения клеток, как следствие большой процент аберрантных клеток и низкая скорость роста. Сеянцы из медленно растущих групп характеризуются низкой высотой побега.

Проростки из мутабельной группы № 1 обладают высокими показателями митотической активности, большим процентом клеток на стадии профазы, в этом случае можно говорить о потенциальной возможности репарации поврежденных клеток, средняя ядрышковая активность клеток направлена на максимизацию репаративных и ростовых процессов. Доля медленно растущей группы с ростом сеянцев снижается (273 дня с момента посадки – 62,5 %, 2 измерение – 31,8 %), происходит увеличения количества сеянцев в промежуточных группах (1 измерение – 12,5 %, 313 дней с момента посадки – 50 %).

На территории, расположенной в глубине лесного массива проростки из слабомутабельной группы отличаются высокими показателями митотической активности, что может способствовать дальнейшему активному росту сеянцев. Сеянцы из активно растущей группы на данной территории увеличивают свою долю среди других групп (273 дня с момента посадки – 18,6 %, 313 дней с момента посадки – 20,8 %). Проростки семян из промежуточной группы обладают высокой ядрышковой активностью, направленной на снижение мутабельного фона в потомстве так, сеянцы из промежуточной группы заметно увеличивают свою долю среди сеянцев (273 дня с момента посадки – 27,1 %, 313 дней с момента посадки – 34,0 %).

Таким образом, нами было показано, что семенное потомство, собранное у автомагистрали, обладает низкими значениями митотической и ядрышковой активностей, что может впоследствии снижать рост растения. Большой процент клеток с нарушениями митоза в корневой

меристеме также ухудшает рост растения. При сравнении типов групп проростков по мутабельности и типов групп сеянцев по активности роста можно выделить следующие пары:

мутабельная группа желудей – медленнорастущая группа сеянцев;  
слабомутабельная и промежуточная группы желудей – активнорастущая и промежуточная группа сеянцев.

Так, в насаждениях среди семенного потомства снижаются патологии митоза, увеличивается митотическая и ядрышковая активности, в тоже время сеянцы, полученные из желудей, собранных в глубине лесного массива вдали от автомагистрали, характеризуются высокой скоростью роста и увеличением морфологических показателей как по высоте и диаметру побега, так и по количеству листьев. При этом, рассматривая возможную взаимосвязь цитогенетических параметров корневой меристемы и последующими морфологическими показателями роста сеянцев, мы можем предположить, что при низких значениях ядрышковой и митотической активностей и большом проценте клеток с нарушениями митоза нет потенциального запаса роста, направленного на преодоление неблагоприятных факторов среды. В некоторых мутабельных группах наблюдается высокая ядрышковая активность, и задержка клеток на стадии профазы митоза (Checkpoint-проверка), что может быть направлено на максимизацию роста тканей и снижение последствий патологических митозов для организма в целом.



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования цитогенетических и морфологических характеристик дуба черешчатого нами было отмечено широкое варьирование изучаемых показателей, определяющих свойства семян (желудей), проростков и сеянцев. В местах произрастания с разной антропогенной нагрузкой параметры отдельных особей популяции по цитогенетическим и морфологическим признакам изменяются. Так, на загрязненной территории в клетках корневой меристемы проростков отмечаются повышение частоты встречаемости и расширение спектра патологий митоза, увеличение площади поверхности одиночных ядрышек, возрастание доли клеток с умеренноактивными ядрышками; на экологически чистой территории выявлены низкие значения встречаемости патологий митоза, уменьшение площади поверхности одиночных ядрышек, увеличение площади поверхности высокоактивных ядрышек, снижение доли умеренноактивных ядрышек типа «кора-сердцевина с вакуолью», вакуолизированное ядрышко. Проведенная нами оценка влияния антропогенного загрязнения на биосистемы согласуется с результатами выполненных ранее работ по этому направлению, в которых было выявлено негативное воздействие антропогенно загрязненной среды на цитогенетические (Калаев, 2009; Буторина, 2000; Владимирова, 2005 и др.), морфологические (Шашурин, Журавская, 2007; Воробьев, 2003; Вишнякова, 2011) параметры растений. Среди сеянцев, выращенных из желудей, собранных в местах с разной антропогенной нагрузкой, особо выделяется группа проростков с территорий, подверженных существенному воздействию автотранспортного комплекса. Так у сеянцев, выращенных из желудей с экологически чистой территории, зафиксированы высокие значения высоты и диаметра побегов, большая листовая поверхность, большое количество листьев, низкая степень их поврежденности. Сеянцы, полученные из семян с загрязненной

территории, характеризуются низкими показателями высоты и диаметра побегов, малым размером и высокой степенью поврежденности листовой поверхности.

Полученные в ходе исследования данные позволяют говорить о полиморфизме морфологических показателей желудей (масса, диаметр, длина желудя), цитогенетических характеристик проростков (митотическая, ядрышковая активности, нарушения митотического деления), морфологических параметров сеянцев первого года жизни (высота и диаметр побега, количество листьев, длина, ширина листовой пластинки, степень ее поврежденности) (рис. 28). При кластеризации популяции по цитогенетическим или по морфологическим параметрам выделяются группы различающиеся по степени мутабельности проростков и по активности роста сеянцев. Так, среди семенного потомства дуба черешчатого удалось выделить три типа групп проростков по мутабельности: слабомутабельная, промежуточная, мутабельная. Мутабельная группа проростков отличается от других высокими значениями частот встречаемости патологий митоза, преобладанием умеренноактивных ядрышек. Слабомутабельная группа проростков характеризуется низкой степенью нарушений митотического деления, часто - высокой митотической и ядрышковой активностями. Промежуточная группа проростков имеет средние значения по патологиям митоза, остальные показатели могут варьировать. Влияние автотранспортного комплекса на гетерогенность потомства дуба черешчатого заключается в появлении разнонаправленных по своей стратегии ответных реакций мутабельных групп, увеличению числа проростков в мутабельной и промежуточной группах (таблица 20). При кластеризации сеянцев дуба черешчатого были выделены группы по активности роста: активнорастущие, медленнорастущие, промежуточные. Сеянцы из активнорастущей группы отличаются высокими показателями

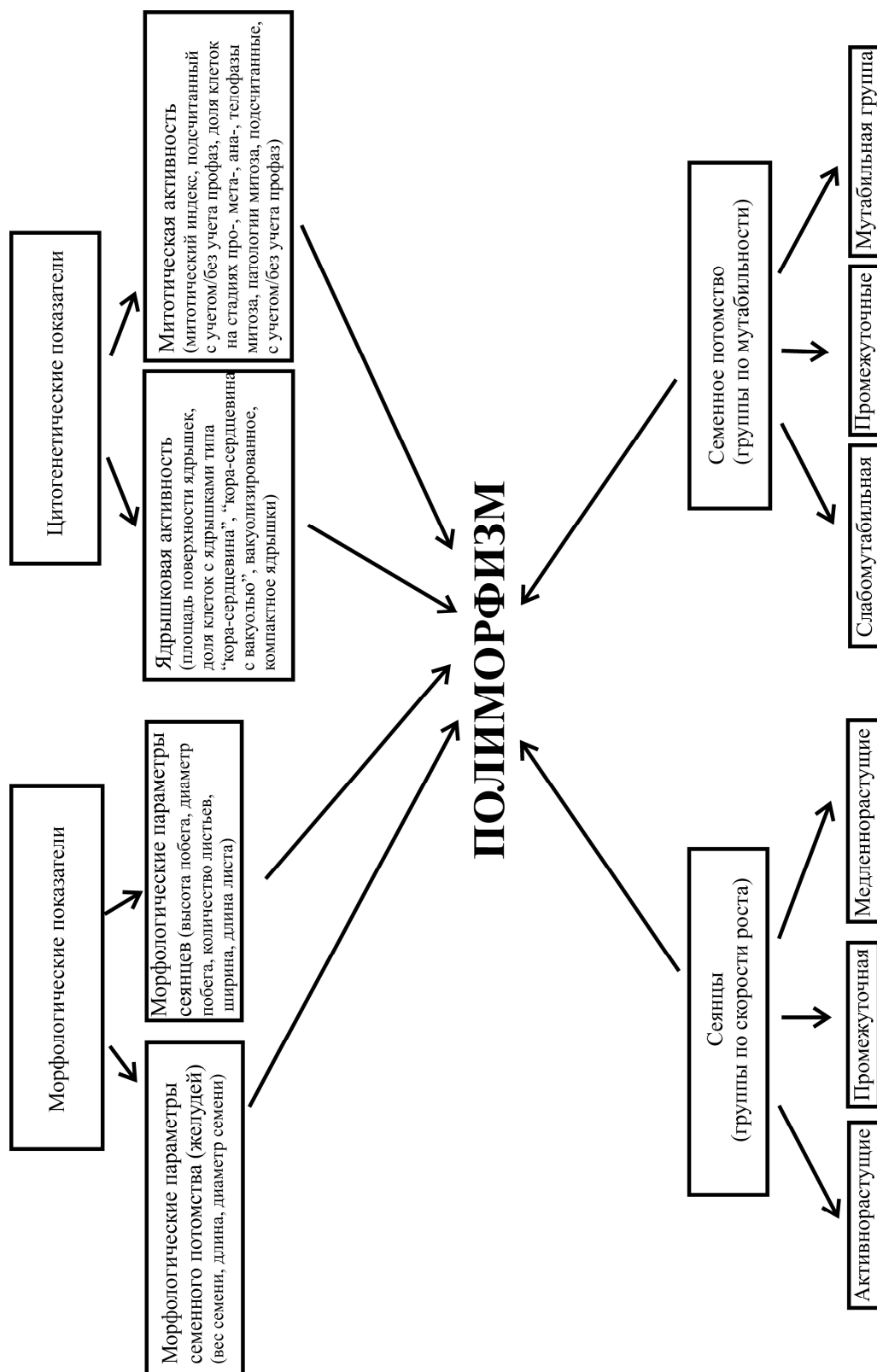


Рис. 28. Вклад цитогенетических и морфологических параметров в полиморфизм дуба черешчатого

высоты, диаметра побега, низкой поврежденностью листьев; сеянцы из медленнорастущей группы характеризуются низкой скоростью роста, высокой степенью поврежденности листьев (засыхание). Близость

автодороги приводит к уменьшению числа промежуточных групп. Результаты нашего исследования согласуются с проведенной ранее оценкой цитогенетического полиморфизма среди семенного потомства березы повислой (Карпова, 2011), сосны обыкновенной (Калаев, 2010), а так же разделением семян сосны обыкновенной на группы по высоте роста (Ананьев, 2008), подходом к анализу семян пузырника восточного с учетом индивидуальной и групповой изменчивости (Умаров, 2013). При сравнении изучаемых показателей в разных условиях произрастания объекта и при разделении проростков и семян на группы мы можем выделить потомство, обладающее потенцией продуктивного роста и развития, а также потомство с нестабильным течением митоза, что может привести к появлению новых форм признака в потомстве. Так, семенное потомство из слабомутабельных групп может использоваться для создания устойчивых древостоев и лесонасаждений, семенное потомство из мутабельных групп может послужить материалом для лесной селекции. Для отбора семян с высокой скоростью роста и последующего получения здорового растения необходимо использовать представителей активнорастущей группы. При высокой конкуренции и меняющихся абиотических условиях семена из медленнорастущей группы будут уступать активнорастущим особям и впоследствии могут погибнуть от недостатка питания, света, других необходимых веществ и факторов.

Таблица 20

Изменение цитогенетических и морфологических признаков семенного потомства дуба черешчатого на территориях с разным уровнем антропогенного загрязнения

		Цитогенетические показатели проростков	Морфологические показатели сеянцев	Морфологические показатели желудей
На загрязненной территории	В выборке	Высокие показатели патологий митоза, увеличение площади поверхности одиночных ядрышек, увеличение доли клеток с вакуолизированными ядрышками	Низкие значения высоты и диаметра побегов сеянцев, малый размер листовой поверхности и высокая степень ее поврежденности	Среднее по весу 5,2 г, по длине – 3,1 см, по поперечному размеру – 1,6 см. Варьирование по массе от 2,9 до 8,2 г.
	В выделенных полиморфных группах	Популяция проростков разделяется на 4 группы. Выделенные группы различаются по числу патологических митозов в апикальной меристеме корня и относятся к мутабельным, промежуточным, слабомутабельным группам. Преобладают проростки из мутабельных групп. Мутабельные проростки обладают высокими показателями патологий митоза, увеличивается доля умеренноактивных ядрышек типа кора-сердцевина с вакуолью, снижается доля высокоактивных ядрышек типа кора-сердцевина. Зафиксировано наличие двух мутабельных групп с разнонаправленными характеристиками митотического и ядрышкового аппарата: при низких значениях митотической активности регистрируется высокая площадь поверхности одиночных ядрышек, при высокой - площадь поверхности одиночных ядрышек снижается.	Популяция сеянцев разделяется на 4 группы. Выделенные группы сеянцев различаются по морфологическим показателям роста и относятся к активнорастущим, промежуточным, медленнорастущим группам. Преобладают сеянцы из медленнорастущих групп. Сеянцы из активнорастущей группы обладают высокими показателями высоты побега, диаметра побега, количества листьев. Сеянцы из медленнорастущей группы отличаются низкими показателями роста.	
На экологически «чистой» территории	В выборке	Низкие показатели патологий митоза, снижение площади поверхности одиночных ядрышек, увеличение площади поверхности компактных ядрышек и ядрышек типа «кора-сердцевина», снижение доли умеренноактивных ядрышек типа кора-сердцевина с вакуолью, вакуолизированное ядрышко.	Высокие значения высоты и диаметра побегов, большая листовая поверхность, большое количество листьев, низкая степень их поврежденности.	Среднее по весу 6,6 г, по длине – 3,1 см, по поперечному размеру – 1,8 см. Более широкие пределы варьирования по параметру массы от 3 до 10 г.
	В выделенных полиморфных группах	Популяция проростков разделяется на 3 группы. Выделенные группы различаются по мутабельности и относятся к мутабельной, промежуточной, слабомутабельной группам. Преобладают проростки из мутабельной группы. Мутабельные проростки обладают высокими показателями патологий митоза, низкими значениями митотической активности, сниженной долей клеток на стадии профазы митоза, низкой площадью поверхности одиночных ядрышек, ядрышек типа «кора-сердцевина», «кора-сердцевина с вакуолью»	Популяция сеянцев разделяется на 3 группы. Выделенные группы сеянцев различаются по морфологическим показателям роста и относятся к активнорастущим, промежуточным, медленнорастущим группам. Преобладают сеянцы из медленнорастущих групп. Сеянцы из медленнорастущей группы отличаются низкими показателями роста. Сеянцы из активнорастущей группы обладают высокими показателями высоты побега, диаметра побега, количества листьев.	

## ВЫВОДЫ

На основании проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. На опытных территориях с различным уровнем антропогенного загрязнения происходят изменения цитогенетических показателей семенного потомства деревьев дуба черешчатого: отмечается снижение митотической активности, возрастает доля патологических митозов, изменяется время прохождения клеток стадий митоза (возрастает доля метафаз, анафаз – телофаз), расширяется спектр патологий митоза.

2. В условиях антропогенного загрязнения опытных территорий происходит изменение ядрышковых характеристик клеток апикальной меристемы корня проростков желудей дуба черешчатого. Снижается площадь поверхности одиночных ядрышек, увеличивается доля умеренноактивных ядрышек типа «кора-сердцевина с вакуолью» и «вакуолизированные». Увеличивается доля клеток с остаточным ядрышком на стадии мета-, ана-, телофазы митоза и число многоядрышковых клеток.

3. Выявлен полиморфизм по цитогенетическим показателям среди семенного потомства деревьев дуба черешчатого, произрастающих на территориях с разным уровнем антропогенного загрязнения. Среди семенного потомства выделены слабомутабельная, мутабельная, промежуточные группы проростков, дана их цитогенетическая характеристика, определены размеры групп. На территориях, подверженных антропогенному загрязнению, число выделенных групп меньше, чем на экологически «чистой» территории. Число проростков внутри групп зависит от времени и места проведения исследования.

5. Проведенный сравнительный анализ цитогенетических характеристик полиморфных групп у разных видов древесных растений (по результатам собственных исследований и данных литературы) выявил

схожую тенденцию (у березы повислой, сосны обыкновенной, дуба черешчатого) к делению проростков по степени мутабельности на три группы: слабомутабельная, мутабельная, промежуточные группы. В выделенных группах у дуба цитогенетический гомеостаз поддерживается за счет взаимодействия митотического и ядрышкового аппарата клетки.

6. Выявлены морфологические характеристики семенного потомства и сеянцев дуба черешчатого на территориях с разным уровнем антропогенного загрязнения. Показано, что на территории с высокой степенью антропогенной нагрузки (вблизи автомагистрали Воронеж-Москва) происходит снижение варьирования желудей по весу. Сеянцы, выращенные из желудей, собранных с деревьев, произрастающих у автомагистрали, отличаются низкой скоростью роста, малым количеством листьев в сравнении с сеянцами, полученных от желудей из лесного массива, находящегося в удалении от автотрассы.

7. Показана высокая степень варьирования морфологических показателей сеянцев дуба черешчатого. Выделены активнорастущие, медленнорастущие, промежуточные группы сеянцев по высоте и диаметру побега, дана их характеристика, определены размеры групп. Активнорастущая группа сеянцев обладает максимальными показателями роста, большим количеством листьев, меньшей степенью их поврежденности, медленнорастущая группа обладает низкими показателями роста, меньшим количеством листьев и высокой степенью повреждения листовой поверхности, засыхания главного побега.

8. Показана взаимосвязь цитогенетических показателей семенного потомства дуба черешчатого с морфологическими характеристиками его проростков. Чем больше нарушений митотического аппарата, ниже митотическая и ядрышковая активность в корневой меристеме проростков, тем меньше показатели интенсивности роста сеянцев (высота, диаметр побега, количество, размер листьев).

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Айала Ф. Введение в популяционную и эволюционную генетику. - М.: Мир, 1984. - 232 с.
2. Акимов Л.М. Экологическая оценка загрязнения воздушного бассейна автотранспортом в зависимости от состояния атмосферы города Воронежа / Акимов Л.М., Якушев А.Б., Куролап С.А. // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: География. Геоэкология. - 2011. - № 2. - С. - 158-165.
3. Акопян Э.М. Влияние различных типов ионизирующих излучений на возникновение хромосомных aberrаций у гороха. I. Пострадиационное восстановление / Э.М. Акопян // Генетика. - 1967. – Т. 3. - № 5. - С. 45 - 51.
4. Алиханян С.И. Общая генетика : учебник для студентов биологических специальностей университетов / С.И. Алиханян, А.П. Акифьев, Л.С. Чернин. – М.: Высш. шк., 1985. – 448 с.
5. Алов И.А. Патология митоза / И.А. Алов // Вестник АМН СССР. - 1965. - №11. - С. 58 - 66.
6. Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяции / Ю.П. Алтухов. – М. : ИКЦ «Академия», 2003. – 431 с.
7. Ананьев М.Е. Повышение качества посадочного материала сосны обыкновенной [в Алтайском крае] / М. Е. Ананьев, Е. Г. Парамонов // Изв. Алт. гос. ун-та. - 2008. - № 3. - С. 35-38.
8. Антонова О.Ю. Полиморфизм последовательностей оргanelьных ДНК видов картофеля / О.Ю. Антонова, Т.А. Гавриленко // Экологическая генетика. – 2006. - Т. 4, №1. – С. 3 – 10.
9. Арефьев В.А. Англо-русский толковый словарь генетических терминов / В.А. Арефьев, Л.А. Лисовенко.- М.: Изд-во ВНИРО, 1995. – 407 с.
10. Артюхов В.Г. Цитогенетический полиморфизм семенного потомства деревьев березы повислой (*Betula pendula* Roth), произрастающих в



различных экологических условиях / В.Г. Артюхов, В.Н. Калаев, С.С. Карпова // Экологическая генетика. - 2009. - Т. 7, № 1. - С. 30-40.

11. Архипчук В. В. Влияние малых доз радиации на ядрышковую активность эмбрионов карповых рыб / В. В. Архипчук // Радиобиология. – 1990. - Т. 30, вып. 4. - С. 496 – 501.

12. Архипчук В. В. Цитогенетический метод определения влияния пороговых величин антропогенных факторов на геном растений и животных / В. В. Архипчук, В. Д. Романенко, М. В. Архипчук и др. // Докл. АН (Россия). - 1992. - Т. 326, № 5. – С. 908 – 910.

13. Архипчук В. В. Использование ядрышковых характеристик в биотестировании / В. В. Архипчук // Цитология и генетика. – 1995. – Т. 29, №3. – С. 6 – 9.

14. Биологический энциклопедический словарь / [Гл. ред. М. С. Гиляров]. - 2-е изд., исправл. — М.: Сов. Энциклопедия, 1986. – 831 с.

15. Богданова Е.В. Адаптивное значение и возможное происхождение в-хромосом у ели колючей / Е.В. Богданова, А.К. Буторина // Цитология. – 2001. - Т. 43, № 8.- С. 809-814.

16. Большева Н.Л. Теломеры как ценный дополнительный маркер при исследовании кариотипов мелкохромосомных растений / Н.Л. Большева [и др.] // Цитология. – 2005. - Т. 47, № 9. - С. 795-796.

17. Боронникова С.В. Молекулярно-генетический анализ популяций редкого лекарственного вида *ADONIS SIBIRICA PATRIN EX LEDEB.* на основании полиморфизма ISSR маркеров / С.В. Боронникова [и др.] // Успехи современной биологии. – 2010. – Т. 130, № 5. – С. 481 – 486.

18. Бродский А.К. Общая экология: учебник для студентов вузов. - М.: Академия, 2006. - 256 с.

19. Бугаев В.А. Дубравы лесостепи: монография / В.А. Бугаев, А.Л. Мусиевский, В.В. Царалунга. – Воронеж: ФГБОУ ВПО «ВГЛТА», 2013. – 247 с.

20. Буторина А.К. Перспективы использования цитогенетического анализа в лесоводстве на примере оценки состояния островных боров Воронежской области / А.К. Буторина [и др.] // Успехи современной биологии. - 2008. - Т. 128, № 4. - С. 399-407.
21. Буторина А.К. Пуфинг хромосом в метафазе - телофазе митотического цикла у дуба черешчатого / А.К. Буторина, Ю.Н. Исаков // Докл. АН СССР. - 1989а. - Т. 308, № 4. - С. 987 - 988.
22. Буторина А.К. Цитогенетическая характеристика семенного потомства некоторых видов древесных растений в условиях антропогенного загрязнения г. Воронежа / А.К. Буторина [и др.] // Цитология. - 2000 - Т. 42, № 2. - С. 196 - 201.
23. Буторина А.К. Цитогенетика лесных древесных растений (в связи с вопросами их эволюции и селекции): Дис. ... докт. биол. наук / А.К. Буторина. - Воронеж, 1990. - 368 с.
24. Ветчинникова Л.В. Береза: вопросы изменчивости (морфофизиологические и биохимические аспекты) / Л.В. Ветчинникова, Отв. ред. А.Ф. Титов. - М. : Наука, 2004. - 183 с.
25. Вишнякова С. В. Влияние выбросов автотранспорта на анатомические параметры хвои ели колючей в условиях г. Екатеринбурга / С. В. Вишнякова, Л. И. Аткина // Хвойные бореальной зоны. - 2011. - Т. 28, № 1-2. - С. 134-136.
26. Вишнякова Х.С. Изучение геномной структуры пшенично-пырейных дисомных дополненных линий / Х.С. Вишнякова, Г.Л. Ячевская, В.Ю. Поляков // Генетика. - 1994а. - Т. 30, № 3. - С. 404 - 410.
27. Владимирова О.С. Кариологические особенности ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb/) в условиях антропогенного загрязнения г. Красноярска / О.С. Владимирова, Е.Н. Муратова // Экологическая генетика. - 2005. - Т. 3, № 1. С. 18 - 23.

28. Владимирова О.С. Кариологические особенности ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb/) в условиях антропогенного загрязнения г. Красноярска / О.С. Владимирова, Е.Н. Муратова // Экологическая генетика. – 2005. – Т. 3, № 1. - С. 18 – 23.
29. Влияние загрязнений воздуха на растительность / Под ред. Х.-Г. Десслера. – М.: Лесная промышленность, 1981. – 184 с.
30. Воробьев С.А. Рассмотрено влияние выбросов автотранспорта на содержание тяжелых металлов в листве основных пород деревьев городских зеленых насаждений, на асимметрию листьев и другие внешние признаки их поражения, а также в почвах, на которых произрастали данные растения / С.А. Воробьев // Безопасность жизнедеятельности. – 2003. - № 10. – С. 36-38.
31. Вострикова Т.В. Цитогенетическая реакция берёзы повислой на действие стрессовых факторов / Т.В. Вострикова, А.К. Буторина // Изв. РАН. Сер. биол. - 2006. - № 2. - С. 232-238.
32. Гераськин С.А. Оценка методами биоиндикации техногенного воздействия на популяцию *Pinus sylvestris* L. в районе предприятия по хранению радиоактивных отходов / С. А. Гераськин, Д. В. Васильев // Экология. – 2005. – №4. – С. 275 – 285.
33. Глазго В.И. Генетика изоферментов животных и растений / В.И. Глазго, И.А. Созинов. – Киев: Урожай, 1993. – 525 с.
34. Горбаев А.А. Реакция лесной растительности на промышленное загрязнение на примере сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) / А.А. Горбачев, И.Л. Прокофьев, Л.С. Жирина // Вестник Брянского государственного университета. – 2008. - № 4. – С. 124 – 128.
35. Горошкевич С.Н. Эколого-географическая дифференциация и интеграционные процессы в группе близкородственных видов с трансконтинентальным ареалом (на примере 5-хвойных сосен Северной и

- Восточной Азии) / С.Н. Горошкевич [и др.] // Хвойные бореальной зоны. – 2007. – Т. 24, № 2 – 3. – С. 167 - 173.
36. Гостимский С.А. Изучение организации и изменчивости генома растений с помощью молекулярных маркеров / С.А. Гостимский, З.Г. Кокаева, Ф.А. Коновалов // Генетика. – 2005. - Т. 41, №4. – С. 480 - 492.
37. Григорьевская А.Я. Флора дубрав городского округа город Воронеж: биогеографический, экологический, природоохранный аспекты: монография / А.Я. Григорьевская, Д.С. Зелепукин. – Воронеж: Издательство им. Е.А. Болховитинова, 2013. – 260 с.
38. Гуськов Е.П. Свободно-радикальные процессы и уровень аберрации хромосом в листьях древесных растений как тест-системы на генотоксичность городской среды / Е.П. Гуськов [и др.] // Экология. – 2000. - № 4. – С. 270 -275.
39. Джамбетова П.М. Чувствительность растительных и бактериальных тест-систем при определении мутагенного влияния нефтезагрязнений на окружающую среду / П.М. Джамбетова, Н.В. Реутова // Экологическая генетика. - 2006. - Т. 4, № 1. - С. 22-27.
40. Джувеликян Х. А. Влияние техногенных факторов на городские и пригородные ландшафты Центрального Черноземья / Х.А. Джувеликян // Вестник ВГУ, Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2010. - № 1. – С. 68 – 75.
41. Динамика популяционных генофондов при антропогенных воздействиях / [под ред. Ю.П. Алтухова]. – М. : Наука, 2004. – 619 с.
42. Дорошев С.А. Влияние антропогенных стрессоров на изменчивость цитогенетических показателей у сосны обыкновенной : Автореф. дис. ... канд. биол. наук / С.А. Дорошев. – Воронеж, 2004. – 23 с.
43. Дуброва А. Н. Ядрышковые организаторы хромосом как адаптивный элемент вида / А. Н. Дуброва // Журнал общей биологии. – 1989. – Т. 50, №2. – С. 213-217.

44. Дунаев. А.В. Макромицеты, связанные с корневой системой дуба в лесостепных дубравах / А.В. Дунаев, Е.Н. Дунаева, С.В. Калугина // Научные ведомости БелГУ. Сер. Естественные науки. - 2010. - №15, вып. 12. - С. 79 - 81.
45. Егоров М.Н. Введение в фенетику древесных растений / М.Н. Егоров. – Воронеж: Изд-во Воронеж. гос. ун-та, 2004. – 119 с.
46. Еленевский А.Г. Ботаника. Систематика высших, или наземных растений / А.Г. Еленевский, М.П. Соловьева. – М.: Академия, 2001. – 432с.
47. Изменчивость цитологических показателей семян сосны обыкновенной уникального Хреновского бора / А.К. Буторина [и др.] // Генетика. – 2005. – Т. 41, № 6. – С. 778 – 783.
48. Калаев В.Н. Цитогенетический мониторинг загрязнения окружающей среды с использованием растительных тест - объектов: Автореф. дис. ...канд. биол. наук / В. Н. Калаев: Воронеж. гос. ун-т, 2000. - 25 с.
49. Калаев В.Н. Цитогенетический полиморфизм семенного потомства деревьев березы по вислой (*betula pendula roth*), произрастающих в различных экологических условиях / В.Н. Калаев, В.Г. Артюхов, С.С. Карпова // Экологическая генетика. - 2009. - Т. 7, № 1. - С. 30 - 40.
50. Калаев В.Н. Цитогенетический полиморфизм семенного потомства сосны обыкновенной на востоке Воронежской области / В.Н. Калаев и др. // Лесоведение. - 2010. - № 4. - С. 56-65.
51. Калаев В.Н. Цитогенетические реакции лиственных древесных растений на стрессовые условия и перспективы их использование для оценки генотоксичности окружающей среды : Дис. ... докт. биол. наук / В.Н. Калаев. – Воронеж, 2009. – 414 с.
52. Кайданов Л.З. Генетика популяций / Л.З. Кайданов. – М. : Высшая школа, 1996. – 320 с.

53. Калашник Н.А. Использование цитогенетических методов для оценки загрязнения окружающей среды / Н.А. Калашник, Т.А. Лихонос // 2 съезд ВОГиС. – СПб., 2000. – Т. 1. – С. 236 – 237.
54. Калашник Н.А. Цитогенетическая характеристика южноуральских представителей семейства сосновых (*Pinaceae* Lindl.) / Н.А. Калашник // V съезд ВОГиС: матер. Конференции, 21 – 28 июня 2009 г., Москва – Москва: Изд-во РГАУ-МСХА, 2009. – Ч. 2. – С. 239.
55. Калашник Н.А. Хромосомные нарушения как индикатор оценки спетени техногенного воздействия на хвойные насаждения / Н.А. Калашник// Экология. - 2008. - № 4. - С. 276-286.
56. Карпова С.С. Влияние антропогенного загрязнения на цитогенетический полиморфизм семенного потомства березы повислой (*Betula pendula* Roth) в естественных и искусственных древостоях: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Воронеж, 2011. – 23 с.
57. Карпова С.С. Использование морфологических характеристик ядрышек клеток корней проростков березы повислой для определения степени загрязнения окружающей среды / С.С. Карпова и др. // Известия Российской академии наук. Серия биологическая. - 2006. - № 1. - С. 86-94.
58. Карпова С.С. Цитогенетическая изменчивость семенного потомства деревьев березы повислой (*Betula pendula* Roth) в естественных древостоях Хреновского бора / С.С. Карпова // Вестник ВГУ. Серия химия, биология, фармация. – 2010. - № 2. – С. 79-86.
59. Квитко О.В. Цитогенетическая и кариологическая характеристика пихты сибирской (*Abies sibirica* Ledeb.) : Автореф. дис. ... канд. биол. Наук / О.В. Квитко. – Красноярск, 2009. – 19 с.
60. Квитко О.В. Кариологические особенности пихты сибирской (*Abies sibirica* Ledeb.) в низкогорье Восточного Саяна / О.В. Квитко, Е.Н. Муратова // Вестник Северо-Восточного научного центра ДВО РАН. - 2009. - № 1. - С. 72-80.

61. Князева С.Г. База данных по внутривидовой изменчивости хвойных растений Сибири / С.Г. Князева [и др.] // Хвойные бореальной зоны. – 2007.- Т. 24, № 2 – 3. - С. 201-206.
62. Костылева Л.Н. Экологическая оценка сезонной динамики воздушного бассейна города Воронежа / Л.Н. Костылева, С.И. Корыстин, С.А. Куролап // Вестник ВГУ. Серия география, геоэкология. – 2009. – № 2. – С. 107 – 113.
63. Кулагин Ю.З. О структуре адаптивного потенциала вида / Ю.З. Кулагин // Журнал общей биологии. – 1984. – Т. 45, №5. – С. 596-601.
64. Кулаичев А.П. Методы и средства комплексного анализа данных. М.: ФОРУМ: ИНФА-М, 2006. – 512 с.
65. Лакин Г.Ф. Биометрия. - М.: Высшая школа, 1990. - 352 с.
66. Левина А.А. Растительные тест-системы в оценке состояния окружающей среды / А.А. Левина, М.В. Трушин, А.А. Ратушняк // Сборник научных трудов Sworld. - 2012. - Т. 28, № 2. - С. 50а-54.
67. Лесная энциклопедия / Под ред. Воробьева Г. И. - М., 1985. - Т. 1. - С. 286 - 290, 508.
68. Лисичко В.Н. Микроспорогенез и формирование пыльцы у дуба черешчатого (электронно-микроскопические исследования): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Воронеж, 1978. - 20 с.
69. Лобашев М.Е. Генетика с основами селекции / М.Е. Лобашев, К.В. Ватти, М.М. Тихомирова. – М. : Просвещение, 1970. – 432 с.
70. Мамаев С.А. Формы внутривидовой изменчивости древесных пород. М.: Наука, 1973. -283 с.
71. Маракаев О.А. Техногенный стресс и его влияние на листовенные древесные растения (на примере парков г. Ярославля) / О.А. Маракаев, Н.С. Смирнова, Н.В. Загоскина // Экология. – 2006. - № 6. – С. 410 – 414.
72. Матьяш Ч. Генетические и экологические ограничения адаптации / Ч. Матьяш // Лесная генетика, селекция и физиология древесных растений:

материалы Междунар. симп. (25–30 сентября 1989 г., Воронеж). – М., 1989. – С. 60 – 67.

73. Мельникова Н.В. Использование молекулярно-генетических маркеров для верификации коллекции *in vitro* сирени обыкновенной (*Syringa vulgaris* L.) / Н.В. Мельникова [и др.] // Генетика. – 2009. – Т. 45, № 1. – С. 97 – 103.

74. Мирзоян А.В. Создание и апробация генетико-биохимической тест-системы для мониторинга мутагенности окружающей среды с использованием листьев древесных растений: Дис. ... канд. биол. наук / А.В. Мирзоян. – Ростов-на-Дону, 2001. – 163 с.

75. Муллагулов Р.Ю. Аллозимная изменчивость дуба черешчатого *Quercus robur* L. (Fagaceae) в изолированных популяциях на восточной границе ареала / Р.Ю. Муллагулов, Н.Н. Редькина, Ю.А. Янбаев // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2008. – № 2. – С. 107 – 110.

76. Муратова Е.Н. Геномные и хромосомные мутации у сосны обыкновенной (*Pinus silvestris* L.) в экстремальных условиях произрастания / Е.Н. Муратова, Т.С. Седельникова // Хвойные бореальной зоны. – 2004. – № 2. – С. 128 – 139.

77. Муратова Е.Н. Кариологическое исследование болотных и суходольных популяций сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) / Е.Н. Муратова, Т.С. Седельникова // Экология. – 1993. – № 6. – С. 41 – 50.

78. Муратова Е.Н. Кариологический обзор голосеменных растений на основе базы данных по хромосомным числам / Е.Н. Муратова, С.Г. Князева // Журнал Сибирского федерального университета. Серия: Биология. – 2008. – Т. 1, № 3. – С. 295-307.

79. Муратова Е.Н. Цитогенетическая характеристика сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в районе выбросов тепловой электростанции / Е.Н. Муратова, О.Н. Зубарева // Изв. СО АН СССР. Сер. биол. – 1990. – Вып. 3. – С. 36 – 41.



80. Муратова Е.Н. Цитологическое изучение лиственницы сибирской в антропогенно нарушенных районах г. Красноярска и его окрестностей / Муратова Е.Н. [и др.], Вестник экологии, лесоведения и ландшафтоведения. - 2009. - № 9. - С. 99-108.
81. Муратова Е.Н. Ядрышкообразующие хромосомы у представителей рода *Larix* Mill. / Е.Н. Муратова // Генетика. – 1994. – Т. 30, приложение. - С. 105.
82. Муратова Е.Н. Цитологическое изучение лиственницы сибирской в антропогенно нарушенных районах г. Красноярска и его окрестностей / Е.Н. Муратова и др. // Вестник экологии, лесоведения и ландшафтоведения. – 2009. - № 9. - С. 99-108.
83. Наквасина Е.Н. Перспективы эколого-генетического мониторинга основных лесобразующих пород на европейском севере России / Е.Н. Наквасина, Н.А. Прожерина, П.Р. Тихонов // Вестник Поморского университета. Серия: Естественные и точные науки. – 2006. - № 1. – С. 54 – 62.
84. Научные объекты на территории Учебно-опытного лесхоза ВГЛТА / [под ред. М.Т. Серикова, А.И. Журихина]. – Воронеж: ФГБОУ ВПО «ВГЛТА», 2014. – 219 с.
85. Овчинникова Т.В. Оценка негативных воздействий хозяйственной деятельности человека на территории Воронежской области / Т.В. Овчинникова // Экологическая оценка и картографирование. – 2008. - № 4. – С. 8 – 12.
86. Погосянц Е.Е. Из истории лаборатории цитогенетики ВОИЦ АМН СССР / Е.Е. Погосянц // Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. - 1991. - Т. 2. - № 2. - С. 55-57.
87. Пожидаева И.М. Характер мейотических нарушений и их частотное распределение в популяции сосны обыкновенной / И.М. Пожидаева [и др.] // Фенетика популяций: сб. науч. тр. – М., 1985. – С. 84 – 85.

88. Политов Д.В. Генетика популяций и эволюционные взаимоотношения видов сосновых (сем. Pinaceae) Северной Евразии : автореф. дис. ... д-ра биол. наук / Д.В. Политов; Москва, 2007. – 40 с.
89. Политов Д.В. Динамика аллозимной гетерозиготности в дальневосточных популяциях кедрового стланника *Pinus pumila* (PALL.) REGEL: сравнение зародышей и матерински растений / Д.В. Политов, М.М. Белоконь, Ю.С. Белоконь // Генетика. - 2006. - Т. 42, № 10. - С. 1348-1359.
90. Потенко О.В. Автотранспорт как угроза экологической безопасности на примере города Артема / О.В. Потенко // Вологдинские чтения. - 2009. - № 75. - С. 68-69.
91. Правдин Л.Ф. Сосна обыкновенная: Изменчивость, внутривидовая систематика и селекция / Л.Ф. Правдин. – М.: Наука, 1964. – 192 с.
92. Путенихин В.П. Микроэволюционные аспекты внутривидовой дифференциации лиственницы сукачева на Урале / В.П. Путехин // Хвойные бореальной зоны. - 2003. - № 1. – С. 21-27.
93. Розанова М. А. Экспериментальные основы систематики растений, М.: - Л, 1946. – 152 с.
94. Рыжова Н.Н. Использование ITS-последовательностей для оценки таксономических отношений у представителей трибы Vicieae (ADANS.) BRONN сем. Fabaceae LINDL / Н.Н. Рыжова [и др.] // Экологическая генетика. – 2007 – Т. 5, № 3. – С. 5 – 14.
95. Седельникова Т.С. Дифференциация болотных и суходольных популяций видов семейства Pinaceae Lindl. (репродуктивные и кариотипические особенности) : Автореф. дис. ... докт. биол. наук / Т.С. Седельникова. – Томск, 2008. – 36 с.
96. Седельникова Т.С. Изучение ядрышек у хвойных на болотах и суходолах / Т.С. Седельникова, Е.Н Прохорчук // Цитология. – 1999а. – Т. 41, № 12. – С. 1082.

97. Седельникова Т.С. Кариологические особенности сосны кедровой сибирской (*Pinus sibirica* Du Tour) на болотах Западной Сибири / Т.С. Седельникова, Е.Н. Муратова // Экология. – 2002. - № 5. – С. 323 – 328.
98. Седельникова Т.С. Особенности ядрышкообразующих хромосом и структурные перестройки в кариотипе болотных популяций сосны обыкновенной / Т.С. Седельникова, С.П. Ефремов, Е.Н. Муратова // Сибирский экологический журнал. – 2001. - № 6. - С. 689 – 695.
99. Седельникова Т.С. Популяционная изменчивость генеративных структур сосны обыкновенной болотных местообитаниях Западной Сибири / Т.С. Седельникова // Генетика. – 1994. – Т. 30, приложение. – С. 141.
100. Седельникова Т.С. Хромосомные мутации в болотной и суходольной популяциях *Abies sibirica* Ledeb. / Т.С. Седельникова, А.В. Пименов // Цитология. – 2003. - Т. 45, № 5. – С. 515 – 520.
101. Седельникова Т.С. Кариологические особенности болотных и суходольных популяций *Picea obovata* в Западной Сибири / Т.С. Седельникова [и др.] // Ботанический журнал. – 2004. – Т. 89, № 5. – С. 718 – 733.
102. Семенов В.И. С-окраска хромосом некоторых видов злаковых и их гибридов / В.И. Семенов, Е.В. Семенова // Четвертый съезд Всесоюзного общества генетиков и селекционеров имени Н.И. Вавилова : тезисы симпоз. докл. – М. : Наука, 1982. – С. 139 – 141.
103. Семенова В.А. Комплексный мониторинг состояния среды г. Воронежа и его окрестностей методами морфологического и цитогенетического анализа животных и растительных тест-объектов: Автореф. ... канд. биол. наук / Семенова В.А. – Воронеж, 2009. – 24 с.
104. Семериков Л.Ф. Популяционная структура дуба черешчатого / Л.Ф. Семериков, Н.В. Глотов // Физиологическая и популяционная

изменчивость (популяционная изменчивость): сб. науч. тр. – Саратов, 1983. – С. 81 – 83.

105. Семерикова С.А. Структура аллозимной изменчивости и генетические связи пихт сахалинской (*Abies sachalinensis* FR. Schmidt) и белокорой (*Abies nephrolepis* (TRAUTV.) MAXIM.) / С.А. Семерикова, В.Л. Семериков // Вестник Северо-Восточного научного центра ДВО РАН. - 2008. - № 1. - С. 77-85.

106. Сенькевич Е.В. Цитогенетика сосны обыкновенной и березы повислой в районе Нововоронежской АЭС в связи с вопросами оценки загрязнения окружающей среды : Дис. ... канд. биол. наук / Е.В. Сенькевич. – Воронеж, 2007. – 193 с.

107. Симаков Е.А. О пострadiационном восстановлении цитогенетических повреждений в проростках семян разных форм картофеля / Е.А. Симаков // Радиобиология. - 1983. - Т. 23, вып. 5. - С. 703 - 706.

108. Синская Е.Н., Динамика вида, М.: - Л., 1948. – 143 с.

109. Смирнов В.Г. Анализ генетической структуры популяции у перекрестноопыляющихся растений / В.Г. Смирнов // Четвертый съезд Всесоюзного общества генетиков и селекционеров имени Н.И. Вавилова : тезисы симпоз. докл. – М.: Наука, 1982. – С. 176.

110. Соболев М.А. Роль ядрышка в реакциях растительных клеток на действие физических факторов окружающей среды / М.А. Соболев // Цитология и генетика. – 2001. – Т. 35, №3. – С. 72-84.

111. Соснихина С.П. Инбридинг в цитогенетических исследованиях перекрестноопыляющихся растений / С.П. Соснихина // Четвертый съезд Всесоюзного общества генетиков и селекционеров имени Н.И. Вавилова : тезисы симпоз. докл. – М.: Наука, 1982. – С. 141.

112. Стаценко А.П. Растительные преоксидазы – маркеры химического загрязнения природных сред / А.П. Стаценко, Л.И. Тужилова, А.А. Вьюговский // Вестник ОГУ. – 2008.- № 10 (92). – С. 188 – 191.

113. Тахтаджян А.Л. Система магнолиофитов .М: Наука, 1987. - 439 с.
114. Умаров М.У. Морфологическая изменчивость семян пузырника восточного (*Colutea orientalis* Mill.) в условиях города Грозный / М.У. Умаров, М.А. Тайсумов, М.И. Хасанов // Вестник Академии наук Чеченской Республики. – 2013. - № 2 (19). – С. 19- 24.
115. Усова Е.А. Изменчивость семенного потомства дуба монгольского в дендрарии СибГТУ / Е. А. Усова // Вестник КрасГАУ. – 2013. – 12. - С. 154 - 156.
116. Фадеева Т.С. Сравнительная генетика растений : учеб. Пособие / Т.С. Фадеева, С.П. Соснихина, Н.М. Иркаева. – Л. : Изд-во Ленингр. ун-та, 1980. – 248 с.
117. Черкашина О.Н. Цитогенетический мониторинг насаждений сосны обыкновенной в условиях Хреновского и Усманского боров : Автореф. дис. ... канд. биол. наук / Черкашина О.Н. – Воронеж, 2007. – 23 с.
118. Чубирко М.И. Доклад «О санитарно-эпидемиологической обстановке в городе Воронеже в 2008 году» / М.И. Чубирко, Ю. И. Степкин – Воронеж: Упр. Роспотребнадзора по Воронежской области, 2009. – 97 с.
119. Челидзе П. В. Ультраструктура и функции ядрышек интерфазной клетки / П. В. Челидзе. – Тбилиси : Мецсниереба, 1985. – 120 с.
120. Шаврак Е.И. Анализ некоторых аспектов транспортных рисков / Е. И. Шаврак // Безопасность жизнедеятельности. – 2009. -№ 1.- С.17-22.
121. Шашурин М.М. Изучение адаптивных возможностей растений в зоне техногенного воздействия / М.М. Шашурин, А.Н. Журавская // Экология. – 2007. - № 2. – С. 93 – 98.
122. Шишкина А.А. Выявление хромосомных перестроек и их эффектов у яровой тритикале : автореф. дис. ... канд. биол. наук / А.А. Шишкина. – М., 2009. – 21 с.
123. Шлапакова С.Н. Рост, репродуктивная способность и перспективы воспроизводства дуба черешчатого в радиоактивно загрязненных

насаждениях Брянского округа зоны широколиственных лесов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Брянск, 1999. – 19 с.

124. Щетинкин Н.А. Минеральный состав и загрязненность радиоактивными веществами некоторых травянистых растений пригородной зоны г. Воронежа / Н.А. Щетинкин и др. // Состояние и проблемы экосистем Усманского бора. - Воронеж, 1992. - Вып. 2. - С. 209 - 219.

125. Экологический мониторинг. Методы биомониторинга / [Под ред. Гелашвили Д.Б]. - Н. Новгород: Изд - во ННГУ, 1995. - Ч. 2. - 272 с.

126. Alvarez I. Ribosomal ITS sequences, plant phylogenetic inference / I. Alvarez, J. Wendel // *Molec. Phyl. Evol.* - 2003. - Vol. 29. - N 3. - P. 417 - 434.

127. Axelrod D.I. Biogeography of oaks in the Arcto-Tertiary province / D.I. Axelrod // *Ann. Missouri Bot. Gard.* - 1983. - V 70. - P. 629-657.

128. Badaeva E.D. Cytogenetic investigation of *Triticum timopheevii* (Zhuk.) Zhuk. And related species using C-banding / E.D. Badaeva, A.A. Filatenko, N.S. Badaev // *Theor. Appl. Genet.* – 1994b. – V. 89, № 5. – P. 622 – 628.

129. Badaeva E.D. Genome differentiation in *Aegilops*. 1. Distribution of highly repetitive DNA sequences on chromosomes of diploid species / E.D. Badaeva, B. Friebe, B.S. Gill // *Genome.* – 1996. – V. 39, № 2. – P. 293 –306.

130. Badaeva E.D. Genome differentiation in *Aegilops*. 3. Evolution of the D-genome cluster / E.D. Badaeva [et al.] // *Plant Syst. Evol.* – 2002. – V. 231, № 1-4. – P. 163 – 190.

131. Badaeva E.D. Intraspecific karyotype divergence in *Triticum araraticum* / E.D. Badaeva, N.S. Badaev, B.S. Gill [et al.] // *Plant Syst. Evol.* – 1994a. – V. 192, № 1. – P. 117 – 145.

132. Bakker E.G. Towards molecular tools for management of oak forests. Wageningen: PhD, Alterra, 2001. - 114 p.

133. Barreneche T. A genetic linkage map of *Quercus robur* L. (pedunculate oak) based on RAPD, SCAR, microsatellite, minisatellite, isozyme and 5S

- rDNA markers / T. Barreneche [et al.] // *Theor Appl Genet.* – 1998. – V. 97. – P. 1090 - 1103.
134. Barreneche T. Comparative mapping between *Quercus* and *Castanea* using simple-sequence repeats (SSRs) / T. Barreneche [et al.] // *Theor Appl Genet.* – 2004. – V. 108. – P. 558-566.
135. Butorina A.K. Cytogenetic study of diploid and spontaneous triploid oaks, *Quercus robur* L. / A.K. Butorina // *Ann. Sci. For.* - 1993. - V.50, Suppl. 1. – P. 144 - 150.
136. Butorina A. The first detected case of amitosis in pine / A. Butorina, N. Evstratov // *Forest Genetics.* – 1996. - № 3. – P. 137-139.
137. Borzan K. Standardization of gymnosperm karyotypes using *Picea omorika* as an example / K. Borzan., M. Idzajtich, H. Guttenberger // *Forest Genetics.* – 1996. - №3. – P. 127-136.
138. Castagneyrol B. Genetic diversity increases insect herbivory on oak saplings / B. Castagneyrol [et al.] // *PLoS One.* – 2012. – V. 7(8). – e.44247.
139. Chen D. Phylogeography of *Quercus vaiabilis* based on chloroplast DNA sequence in East Asia: multiple glacial refugia and Mainland-migrated island population / D. Chen [et al.] // *PLoS One.* – 2012. – V. 7(10). – e.47268.
140. Cytogenetic damages as an indicator of oak forestry decline / V. Zoldos, V. Besendorfer, S. Jelenic, et al // *Cytogenetic studies of forest trees and shrub species.* - Zagreb, 1997. – P. 275 - 284.
141. Dzialuk A. Presence of triploids among oak species / A. Dzialuk [et al.] // *Annals of Botany.* – 2007. - V. 99. – P. 959-964.
142. D’emerico S. Karyotype analysis in *Quercus* ssp. (Fagaceae) / S. D’emerico [et al.] // *Silvae genetica.* – 1995. – V. 44. – P. 66-70.
143. Ford E. B. Polymorphism and taxonomy / E. B. Ford // *The New Systematics.* – Oxford: Clarendon Press, 1940. – P. 461 – 503.
144. Ford E. B. Ecological genetics / E. B. Ford. – Chapman Hall, 1971. – P. 1 – 410.

145. Gadella T. W. J, Kliphuis E. Chromosome numbers of flowering plants in the Netherlands. II // K. Akad. Wetenschap. Amsterdam Proc. - 1966. - V.69, Ser. C., № 5. – P. 541 - 556.
146. Gailing O. QTL analysis of leaf morphological characters in a *Quercus robur* full-sib family (Q-*robur* x Q-*robur* ssp *slavonica*) / O. Gailing // Plant Biology. – 2008. – V. 10(5). – P. 624-634.
147. Galvan V.J. Proteomic analysis of Holm oak (*Quercus ilex* subsp. *Ballota* [Desf.] Samp.) pollen / V.J. Galvan [et al.] // J. Proteomics. – 2012. - V. 75(9). – P. 2736-3744.
148. Galvan V. Studies of variability in Holm oak (*Quercus ilex* subsp. *Ballota* [Desf.] Samp.) through acorn protein profile analysis / V. Galvan [et al.] // J Proteomics. – 2011. - V. 74 (8)/ - P. 1244-1255.
149. Grattapaglia D. Genetic linkage maps of *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus urophylla* using a pseudo test-cross mapping strategy and RAPD markers / D. Grattapaglia, R. Sederoff // Genetics. – 1994. – V. 137. – P. 1121-1137.
150. <http://dic.academic.ru/dic.nsf/es/63338/%D1%86%D0%B8%D1%82%D0%BE%D0%B3%D0%B5%D0%BD%D0%B5%D1%82%D0%B8%D0%BA%D0%B0>; 2866.
151. <https://w3.pierroton.inra.fr/QuercusPortal/index.php?p=BIODIVERSITY>
152. [https://w3.pierroton.inra.fr/QuercusPortal/index.php?p=GENETIC\\_MAPPING](https://w3.pierroton.inra.fr/QuercusPortal/index.php?p=GENETIC_MAPPING)
153. Kremer, A., M. Fagaceae: comparative Genetic Mapping in Fagaceae. / A.M. Kremer [et al.] // Forest Trees. – 2007. – V. 5. - P. 161-187.
154. Manos P.S. Phylogenetic analyses of “higher” Hamamelidae based on plastid sequence data / P.S. Manos and K.P. Steele // Amer. J. Bot. -1997. - V. 84. – P. 1407-1419.
155. Mehra P.N. Cytomorphology of Himalayan Fagaceae / P.N. Mehra, A.S. Hans, T.S. Sareen // *Silvae Genetica*. – 1972. – V. 21. – P. 102-109.



156. Menitsky Y.L. Oaks of Asia. USA. - Enfield (NH): Science Publishers, 2005. - 549 p.
157. Miiller M. Chromosomal aberrations in ozone-impacted spruce as a test of cytological damage in forest trees / M. Miiller, D. Grill // *Forest Genetics*. - 1996. - V. 3. - P. 161-166.
158. Natividade J. V. Recherches cytologiques sur quelque especes et hybrides du genre *Quercus* (I) // *Bot. Sol. Broteriana*. - 1937. - V. 12, Ser. 2. - P. 21 - 85.
159. Naujoks G. Characterisation and propagation of an adult triploid pedunculate oak (*Quercus robur*) / G. Naujoks, H. Hertel, D. Ewald // *Silvae genetica*. - 1995. - V. 44. - P. 282-286.
160. Nixon K.C. The genus *Quercus* in Mexico. In Ramammoorthy / K.C. Nixon [et al.] // *Biological diversity of Mexico: origins and distribution*. - 1993. - P. - 447-458.
161. Ohri D. Giemsa C-banding in *Fagus sylvatica* L., *Betula pendula* Roth and *Populus tremula* L. / D. Ohri, M.R. Ahuja // *Silvae Genetica*. - 1991. - V. 40. - P. 72-75.
162. Ohri D. Giemsa C-banding in *Quercus* L. (oak) / D. Ohri, M.R. Ahuja // *Silvae Genetica*. - 1990. - V. 39. - P. 216-219.
163. Ramirez-Valiente J.A. Phenotypic plasticity and local adaptation in leaf ecophysiological traits of 13 contrasting cork oak populations under different water availabilities / J.A. Ramirez-Valiente [et al.] // *Tree Physiol*. - 2010. - V. 30(5). - P. 618-627.
164. Schwarz O. 1964. *Quercus* L. In *Flora Europaea* / O. Schwarz [et al.] //: *Lycopodiaceae to Platanaceae*. - 1964. - V. 1. - P. 61-64.
165. Tanksley S. Chromosome landing: A paradigm for map-based gene cloning in plants with large genomes / S. Tanksley, M. Ganai, G. Martin // *Trends in Genetics*. - 1995. - V. 11, № 2. - P. 63 - 68.
166. Valencia S.A. Diversidad del genero *Quercus* (Fagaceae) en Mexico / S.A. Valencia // *Bol. Soc. Bot. Mex.* - 2004. - V. 75. - P. 33 - 54.

167. Wang Lian min. A taxonomy study of the deciduous Oak in China by means of cluster and karyotypic analysis // Bull. Bot. Res. - 1986. - V. 6. - P. 55 - 69.
168. Xu L.A. Diversité de l'ADN chloroplastique et relations phylogénétiques au sein des Fagacées et du genre Quercus. - Nancy: Thèse Université Henri Poincaré, 2004. - 129 p.
169. Zhang Y.Y. Molecular characterization and genetic structure of Quercus acutissima germplasm in China using microsattellites / Y.Y. Zhang [et al.] // Mol. Biol. Rep. – 2013. – V. 40 (6). – P. 4083-4090.
170. Zoldos V. Genome size and base composition of seven Quercus species: inter- and intra- population variation / V. Zoldos [et al.] // Genome. – 1998. – V. 4. – P. 162-168.
171. Zoldos V. Cytogenetic damages as an indicator of oak forestry decline / V. Zoldos [et al.] // IUFRO cytogenetics working party Symposium, Brijuni National Park, Croatia, 8 - 11 Sept. 1993: Abstracts.- P. 24.