

*На правах рукописи*

**Попова Анна Александровна**

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

Специальность 03.02.08 – экология

03.02.07 - генетика

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Воронеж - 2014

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Воронежский государственный университет»

**Научный руководитель:** доктор биологических наук, профессор  
*Калаев Владислав Николаевич*

**Официальные оппоненты:** *Сорокопудова Ольга Анатольевна*  
доктор биологических наук, профессор, ГНУ  
«Всероссийский селекционно-технический  
институт садоводства и питомниководства  
РАСХН», ведущий научный сотрудник

*Белоусов Михаил Владимирович*  
кандидат биологических наук,  
ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский  
государственный университет»,  
лаборатории физиологической  
генетики кафедры генетики и  
биотехнологии, стажер-исследователь  
(постдок)

**Ведущая организация:** Федеральное государственное  
бюджетное учреждение науки  
«Сибирский институт физиологии  
и биохимии растений  
Сибирского отделения Российской  
академии наук»

Защита состоится « 24 » декабря 2014 года в 14.00 часов на заседании диссертационного совета Д 212.038.05 на базе ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет»: 3940006, Воронеж, Университетская пл., 1, аудитория 59.

С диссертацией можно ознакомиться в зональной научной библиотеке и на сайте <http://www.vsu.ru> ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет».

Автореферат разослан «23» октября 2014 года.

Ученый секретарь диссертационного  
совета, кандидат биологических наук,  
доцент

Барабаш Галина Ильинична

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**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 вариативности 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 вариативность 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 (мутабильной, слабомутабельной, промежуточной) с территориями 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, медленнорастущие, 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, медленнорастущие и промежуточные группы сеянцев.

3. Цитогенетические характеристики семенного потомства дуба черешчатого могут являться маркерами морфологических показателей семян.

**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 использованию практическому 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 государственного университета 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**

В главе обсуждается полиморфизм как основа внутривидового разнообразия и характеристики адаптивного потенциала вида, рассматриваются параметры для определения полиморфизма на разных структурных уровнях организации, в том числе цитогенетические характеристики. Приведен материал о систематическом положении, биологии и генетике дуба черешчатого.

## **Глава 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ**

### **2.1. Объекты и территории исследования**

Исследования проводились в районе 9 километра Задонского шоссе, расположенного в 40 квартале Правобережного участкового лесничества Пригородного Воронежской области, на семенах, собранных в 2001 и 2007

гг. На данную территорию оказывается интенсивное антропогенное воздействие, обусловленное загрязнением выхлопными газами автотранспорта, рекреационной нагрузкой на лесонасаждения. В 2001 году сбор семян проводили с деревьев дуба черешчатого, произрастающих вблизи автомагистрали Москва – Воронеж в районе 9 километра Задонского шоссе. В 2007 году на территории 9 км Задонского шоссе были выбраны две опытных площади: у автомагистрали, где наблюдается высокая степень загрязнения атмосферного воздуха выхлопными газами; в глубине лесного массива в удалении приблизительно на 1 километр от дороги, что можно считать условно чистой территорией.

Второй опытной территорией является лесной массив вокруг отеля «Яр», 491 километр автодороги Москва-Воронеж, удаленный от г. Воронеж, расположенный в 53 квартале Животиновского лесничества учебно-опытного лесхоза Воронежской государственной лесотехнической академии. Исследования проводили на семенах, собранных в 2012 г. с двух опытных площадей, подобно исследованию 2007 г.

В качестве контроля была использована территория БУНЦ «Веневитиново» (район поселка Маклок), расположенная в 23 и 28 квартале Сомовского лесничества, где в 2008 г. провели сбор желудей. Ранее выполненные исследования (Щетинкина, 1992; Семенова, 2009) показали, что на указанной территории загрязнение растительного сырья и почвы тяжелыми металлами и пестицидами не превышает ПДК.

Сбор семян проводили с фенотипически нормальных деревьев, не поврежденных микозами и насекомыми. С каждой опытной площади собирали 150-200 семян.

## **2.2. Методы исследований**

### **2.2.1. Изготовление и анализ микропрепаратов**

Семена проращивались во влажном песке. Корешки проростков фиксировали 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). Изготовление препаратов для микроскопического исследования проводили по описанной ранее методике (Буторина, 2000). На каждом препарате анализировали не менее 700 клеток. Просмотр приготовленных препаратов проводили на микроскопе Laboval-4 (Carl Zeiss, Jena) при увеличении  $40 \times 1.5 \times 10$ ,  $100 \times 1.5 \times 10$ .

На препаратах фиксировали общее количество просмотренных клеток, количество делящихся клеток на стадиях профазы, метафазы, анафазы, телофазы митоза, количество и тип патологических митозов. Определяли митотический индекс (доля делящихся клеток, %), долю патологических митозов среди делящихся клеток (%), распределение клеток по стадиям митоза (%). 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 поверхно-

сти одиночных ядрышек ( $\text{мкм}^2$ ), частота встречаемости различных типов ядрышек (%).

### **2.2.2. Исследование морфологии растений**

Для анализа семенного потомства деревьев дуба черешчатого были отобраны неповрежденные семена. Производилось взвешивание желудей на электрических весах (с точностью 1 мг), диаметр и длину желудя измеряли штангенциркулем (с точностью 0,1 см). В семенной плантации, заложенной на территории Животиновского лесничества учебно-опытного лесхоза Воронежской государственной лесотехнической академии, определяли морфологические параметры и особенности роста сеянцев дуба черешчатого первого года роста. Для определения интенсивности роста сеянцев измерения проводились дважды (в 273 и в 313 дни с момента посадки). Особенности морфологии сеянцев изучали по биометрическим показателям – высота и диаметр, количество листьев. Определение групп по скорости роста осуществляли по параметрам высоты и диаметра сеянцев в группе. Сеянцы с низкими значениями высоты и диаметра сеянца относили к медленно растущей группе, сеянцы с высокими значениями – к активно растущей группе, также выделяли промежуточную группу.

### **2.2.3. Анализ содержания тяжелых металлов в почве**

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.

### **2.2.4. Статистическая обработка результатов исследования**

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

## **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 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 (Джувеликян, 2010; Чубирко, 2009). Максимальное содержание вредных веществ в приземном слое атмосферы наблюдается в самые теплые месяцы года (Акимов, 2011), когда происходит цветение, оплодотворение, формирование семени у древесных растений и возможно непосредственное влияние поллютантов на начальные этапы эмбриогенеза, что впоследствии может стать причиной различных патологий при прорастании семян и росте новых растений.

### **3.2. Элементный состав почв территорий исследования**

Во всех исследованных нами почвенных образцах встречается широкий спектр химических элементов, включая металлы с токсическим действием на биосистемы - медь, цинк, никель, сурьма, ванадий, кадмий. На эколо-



гически «чистой» территории спектр обнаруженных элементов уже, чем на опытных. Проведенный анализ установил, что на придорожной территории в зоне автомагистрали Воронеж – Москва зафиксировано увеличение содержания серы, марганца, наблюдается снижение содержания железа, магния, алюминия, однако даже для этой зоны превышения ПДК (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.

#### **Глава 4. ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СЕМЕННОГО ПОТОМСТВА ДЕРЕВЬЕВ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО**

##### **4.1. Цитогенетические характеристики семенного потомства деревьев дуба черешчатого, произрастающих на территориях с разным уровнем антропогенного загрязнения**

Как на опытных территориях, так и в контроле в апикальной меристеме корня были зафиксированы процессы митотического деления, протекающие без нарушений, и патологические митозы, проявляющиеся в отставаниях хромосом в метафазе, анафазе, мостов в анафазе, агглютинаций хромосом и других нарушений митотического и хромосомного аппаратов клетки (рис. 1).

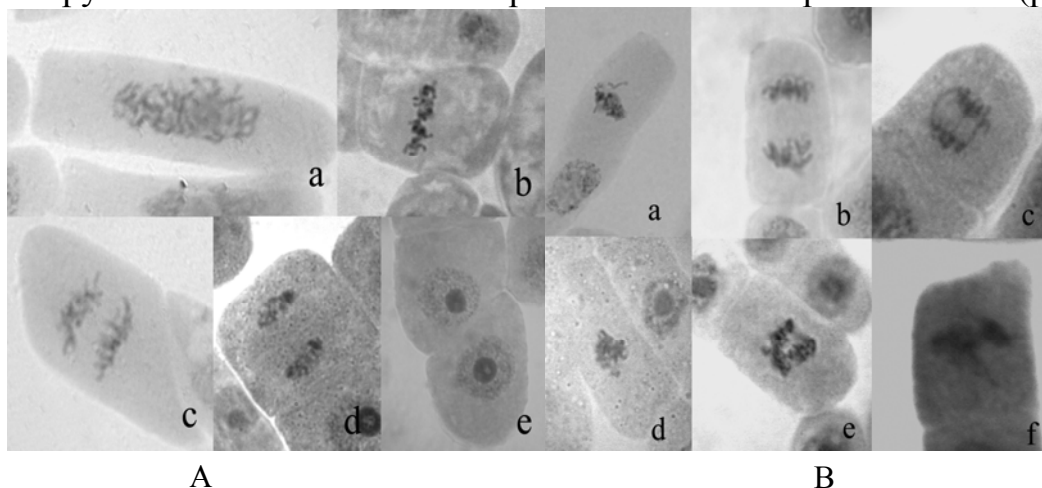


Рис. 1. А - митоз в норме в клетках корневой меристемы проростков семенного потомства деревьев дуба черешчатого (*Quercus robur* L.): а – профаза; б – метафаза; с – анафаза; д – телофаза; е – интерфаза; Б - патологии митоза в клетках корневой меристемы проростков: а – отставание хромосом в метакинезе; б – отставание хромосом в анафазе; с – мосты в анафазе; д – агглютинация хромосом; е – асимметричный митоз; ф – трехполюсный митоз.

Цитогенетические показатели семенного потомства деревьев дуба че-

решчатого представлены в таблице 1. Сравнивая полученные в разные годы исследования показатели на изученных территориях, можно отметить, что митотический индекс на территории, прилегающей к автомагистрали Москва – Воронеж, в условиях опыта разных лет ниже значений, ранее установленных для дуба черешчатого в норме (Калаев, 2000). На антропогенно загрязненных территориях митотический индекс, подсчитанный без учета профазных клеток, выше, чем на экологически «чистой» территории, что может являться следствием задержки клеток на стадиях метафазы, анафазы, телофазы митоза. Действительно, на опытных территориях наблюдается достоверное снижение доли клеток на стадии профазы (различия с контролем достоверны ( $P < 0,01$ )). На опытных территориях доли клеток на стадиях метафазы и анафазы – телофазы выше (различия с контролем достоверны ( $P < 0,01$ )). Задержка клеток на стадии метафазы в опыте может свидетельствовать о нарушениях формирования веретена деления, задержка на стадиях анафазы–телофазы – о нарушении формирования клеточной стенки (Алов, 1965).

На фоне разной скорости прохождения клетками стадий митоза наблюдается возрастание патологических митозов (различия с контролем достоверны ( $P < 0,01$ )).

На основании вышеприведенных фактов можно сделать вывод о том, что деревья, 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.

При сравнении исследуемых показателей семенного потомства с разных территорий (9 км Задонского шоссе и 491 км автомагистрали Москва–Воронеж, БУНЦ «Веневитиново») выявляется общая закономерность: снижается митотическая активность по сравнению с контрольной территорией и увеличивается доля клеток с патологическими митозами. Сравнение данных по 2012 г. с результатами опыта 2007 г. показало общую тенденцию поведения цитогенетических показателей под воздействием выхлопных газов автотранспорта. У автодороги наблюдается увеличение митотической активности за счет возрастания доли профазных клеток, что свидетельствует о нарушениях хромосомного аппарата, не позволяющих перейти клетке на следующую стадию митоза (Алов, 1965), а также активации системы checkpoint-проверки целостности генетического материала (Калаев, 2009). На территории около дороги отмечено возрастание частоты встречаемости патологий митоза, однако в опыте 2012 г. разница между опытными точками по этому показателю выражена резко, 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, 2009) показывали возрастание митотической активности по сравнению с контрольной территорией, которое обусловлено воздействием поллютантов на клеточное деление.

Таблица 1

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) | 491 км авто-трассы Москва - Воронеж, 2012 г. (точка в глубине лесного массива) | 491 км автотрассы Москва - Воронеж, 2012 г. (точка у автомагистрали) | БУНЦ «Веневи-тиново» (экологически чистая территория), 2008 г. |
| Митотический индекс, %                                | 7,7±0,4**                      | 7,5±0,3***  | 8,4±0,3***                                      | 6,8 ± 0,9  | 7,2 ± 0,9  | 10,5±0,7   |
| Митотический индекс, подсчитанный без учета профаз, % | 5,9±1,2                        | 5,1±0,3   | 5,2±0,3**                                       | 3,6 ± 0,3 **   | 3,9 ± 0,6 **   | 4,8±0,2  |
| Доля профаз, %  | 36,1±2,0***                    | 31,8±3,8***   | 38,3±2,6***                                     | 40,2 ± 4,8   | 47,4 ± 3,8   | 51,4±1,8   |
| Доля метафаз, %                                       | 20,9±1,2**                     | 27,5±1,9***   | 20,5±1,1**                                      | 23,1 ± 2,2   | 22,1 ± 2,9   | 16,4±0,8   |
| Доля анафаз, телофаз, %                               | 43,0±1,5***                    | 40,7±1,3**  | 41,2±2,0**                                      | 36,9 ± 3,4 *   | 30,6 ± 2,1 *   | 32,9±1,5   |
| Патологии митоза, %                                   | 12,6±1,5***                    | 11,3±1,3***   | 11,6±1,0***                                     | 8,9 ± 1,1 *  | 13,1 ± 1,5 *   | 4,3±0,4  |
| Патологии митоза, подсчитанные без учета профаз, %    | 19,3±1,1***                    | 16,0±2,2***   | 19,1±1,6***                                     | 14,1 ± 1,2 ***   | 24,3 ± 2,5 ***   | 8,9±0,8  |

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

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

#### **4.2. Ядрышковые характеристики семенного потомства деревьев дуба черешчатого, произрастающих на территориях с разной степенью антропогенной нагрузки**

В изменении ядрышковых характеристик на опытных территориях прослеживаются общие тенденции (табл. 2): на территории, прилегающей к автомагистрали, увеличивается площадь поверхности одиночных ядрышек, ядрышек типа «кора-сердцевина с вакуолью», снижается площадь поверхности высокоактивных компактных ядрышек, в клетках преобладают умеренноактивные ядрышки типа «кора-сердцевина с вакуолью» и «вакуолизированное», доля высокоактивных ядрышек «кора-сердцевина» снижается.

Семенное потомство деревьев дуба черешчатого на контрольной территории характеризуется более низким значением площади поверхности высокоактивных ядрышек «кора-сердцевина» ( $87,0 \pm 1,8$  мкм<sup>2</sup>), что сочетается с меньшей их долей среди других типов ядрышек ( $38,9 \pm 2,9$  %). Происходит восстановление общей активности ядрышка за счет увеличения площади поверхности ядрышек с меньшей синтетической активностью. Так, среди проростков отмечаются более высокие значения площадей поверхности менее активных ядрышек типа «кора-сердцевина с вакуолью» ( $106,9 \pm 1,9$  мкм<sup>2</sup>) и «вакуолизированные» ( $95,0 \pm 10,8$  мкм<sup>2</sup>) 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 наряду с митотической активностью и патологиями митоза могут служить мерой антропогенного воздействия и адаптивной реакции растений (Соболь, 2001), была предпринята попытка сравнить полученные данные с опытной и контрольной территорий. Анализ показал, что на опытной территории 9 км Задонского шоссе в сравнении с контрольной территорией снижаются многие ядрышковые показатели: площадь поверхности всех типов ядрышек, площадь поверхности высокоактивных ядрышек типа «кора-сердцевина», площадь поверхности умеренно активных ядрышек типа «кора-сердцевина с вакуолью». В условиях опыта можно отметить большие, по сравнению с показателями на экологически чистой территории, доли клеток с менее активными ядрышками типа «кора-сердцевина с вакуолью» и с вакуолизированным ядрышком. Снижение площади поверхности ядрышек и преобладание клеток с ядрышками типа «кора-сердцевина вакуолизированное» и «вакуолизированные» характеризует состояние семенного потомства дуба черешчатого, произрастающее в районе прохождения автомагистрали Москва – Воронеж, как угнетенное.

Таблица 2

Характеристика ядрышкового аппарата корневой меристемы семенного потомства деревьев дуба черешчатого, произрастающих на антропогенно загрязненной и экологически «чистой» территориях

| Ядрышковые характеристики   | 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 | 491 км авто-трассы М4, 2012 г. (в глубине лесн. массива) | 491 км авто-трассы М4, 2012 г. (у автомагистралей) | БУНЦ «Веневитиново» (экологически чистая террит.), 2008 г. |
| Площадь поверхности ядрышек типа «кора-сердцевина», мкм <sup>2</sup>            | 75,2±1,3***                   | 65,5±3,6***  | 65,0±2,7***                                  | 67,2 ± 2,6***  | 70,4 ± 2,8***                                      | 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***                                  | 85,9 ± 2,5***  | 88,4 ± 2,9***                                      | 106,9±1,9  |
| Площадь поверхности вакуолизированных ядрышек, мкм <sup>2</sup>                 | 78,2±3,0                      | 52,2±13,2  | 61,0±6,7                                     | 54,9 ± 5,5   | 48,7 ± 8,3   | 95,0±10,8  |
| Площадь поверхности компактных ядрышек, мкм <sup>2</sup>                        | 56,0±8,6***                   | 43,3±5,3*  | 39,6±3,7                                     | 49,5 ± 6,4**   | 32,3 ± 8,8   | 59,7±2,6   |
| Площадь поверхности одиночных ядрышек, мкм <sup>2</sup>                         | 89,6±1,5***                   | 75,6±3,7***  | 82,4±2,9***                                  | 75,7 ± 2,6***  | 81,7 ± 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***                                  | 47,1 ± 4,4   | 34,6 ± 4,3   | 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***                                  | 48,2 ± 3,8 *   | 62,9 ± 4,0   | 59,9±2,9   |
| Доля клеток с вакуолизированными ядрышками, %                                   | 1,0±0,2*                      | 0,6±0,2  | 3,6±2,7                                      | 1,4 ± 0,2 ***  | 1,9 ± 0,6 *  | 0,4±0,1  |
| Доля клеток с компактными ядрышками, %  | 0,3±0,2                       | 0,7±0,2  | 2,6±1,7                                      | 1,8 ± 0,4 *  | 0,7 ± 0,2  | 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).

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

Отмечена значительная изменчивость показателей митотической и ядерышковой активностей. 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 профаз», коэффициент вариации  $C_v$  превышает 25 %, что может свидетельствовать о генетической гетерогенности семенного потомства дуба черешчатого.

Как в опыте, так и в контроле, используя метод кластерного анализа (рис. 2), удалось выделить группы с разным уровнем нарушений митотического деления клеток. Группы проростков, отличающиеся высокими значениями патологий митоза, относили к мутабельной группе, с низкими значениями патологий митоза – к слабомутабельной группе, со средними - в промежуточные группы. 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.

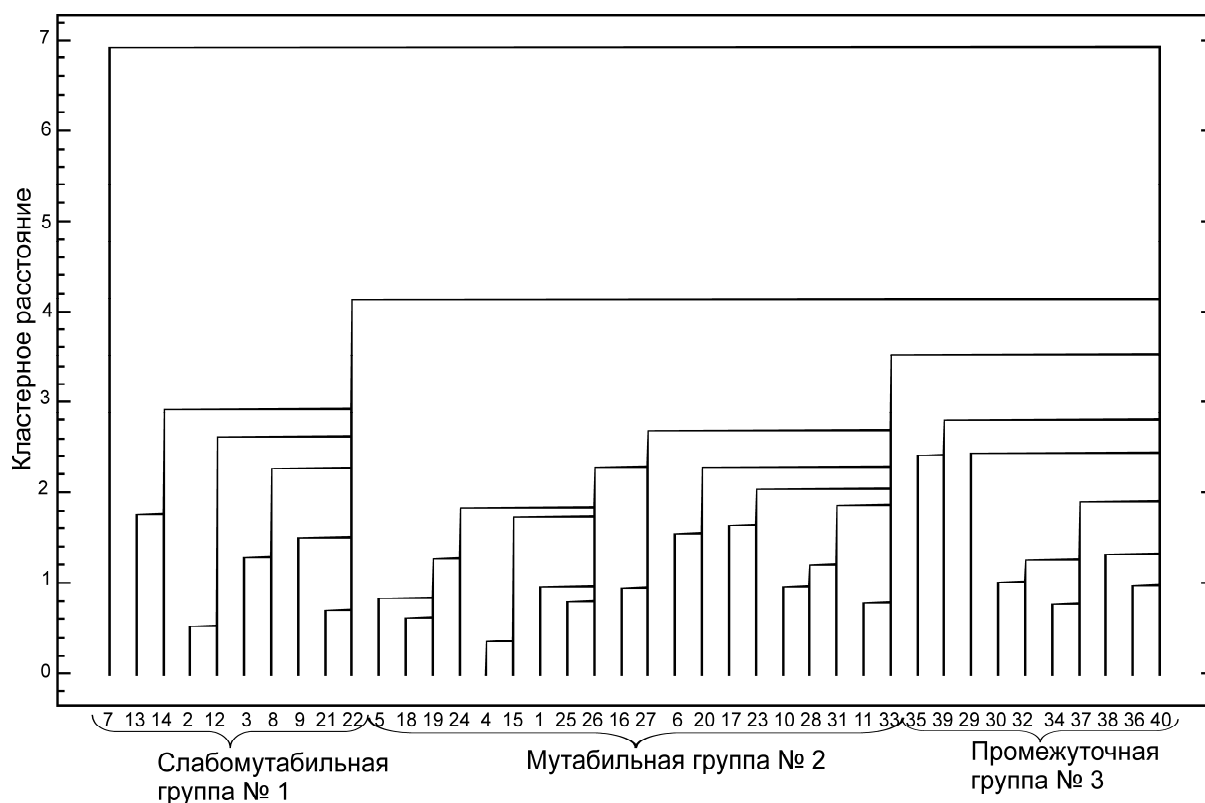


Рис. 2. Пример дендрограммы кластерных расстояний для семенного потомства дуба черешчатого (2001г, район 9 км Задонского шоссе).

Слабомутабельные группы проростков характеризуются низкой долей клеток с патологиями митоза, суженным спектром патологий митоза, высокой митотической активностью. Промежуточные группы характеризуются сред-

ним уровнем патологий митоза, остальные же изучаемые показатели могут варьировать в зависимости от исследуемой территории произрастания деревьев дуба черешчатого. На всех территориях преобладают проростки из мутабельных групп.

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

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

На опытных территориях 491 км автодороги М4 Москва - Воронеж, находящихся около автомагистрали и в глубине лесного массива, были отобраны партии желудей для морфологического анализа.

Желуди, собранные на территории у автомагистрали, обладают более низкими показателями веса и размера семени. Наиболее широкие пределы варьирования веса семени обнаруживаются среди семенного потомства, собранного с территории лесного массива Шмасса которых варьирует от 3 до 10 г) (рис. 3), что может свидетельствовать о высокой пластичности морфологических характеристик семенного потомства деревьев дуба черешчатого на данной территории по сравнению с таковым, собранным с территории у дороги. На территории вблизи 491 км автомагистрали Москва - Воронеж, распределение желудей по весу показало максимальную долю семян с значениями массы, близкими к медиане (рис. 3), что может свидетельствовать о высоком давлении факторов среды, элиминирующих образование крайних форм.

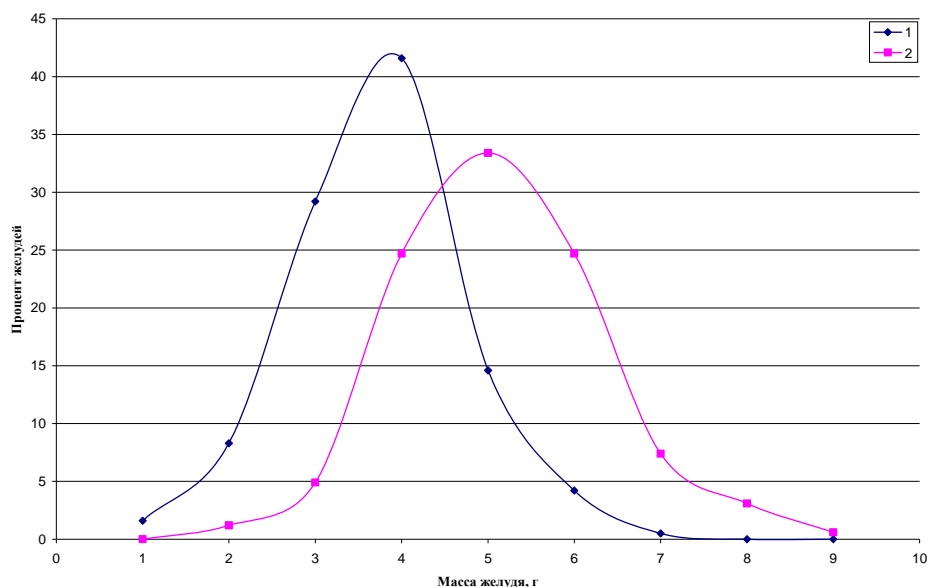


Рис. 3. График распределения желудей, собранных на опытных территориях, по весу (в г). Обозначения: 1 - территория около автомагистрали Москва - Воронеж; 2 – территория в глубине лесного массива

### **5.2. Морфологическая оценка сеянцев, выращенных из семенного потомства деревьев, произрастающих на территориях с разным уровнем антропогенного загрязнения**

Сеянцы, выращенные из желудей, собранных около автомагистрали,

показали низкую ростовую динамику (табл. 3). Снижение средней высоты побега (сеянца) на 313 день измерения вызвано засыханием главного побега и последующим ростом бокового побега, уступающего по высоте первому. Снижение средних показателей 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. Различия между измерениями достоверны по показателям диаметра побега, количества листьев, длины первого листа. Длина и ширина листовых пластинок несколько снижалась из-за засыхания части листовой пластинки, либо полного засыхания листа.

Таблица 3

Морфологические параметры роста сеянцев, выращенных из разного семенного материала

| Группа проростков<br>Показатели | Сеянцы из желудей, собранных<br>вблизи автомагистрали |                               | Сеянцы из желудей, собранных<br>в глубине лесного массива |                               |
|---------------------------------|---|-------------------------------|---|-------------------------------|
|                                 | 273 день с<br>момента посадки                         | 313 день с<br>момента посадки | 273 день с<br>момента посадки                             | 313 день с<br>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, выросших их желудей, собранных в глубине лесного массива, достоверны ( $P < 0,05$ ); \*\* - различия между сеянцами, выросших их желудей, собранных в глубине лесного массива, достоверны ( $P < 0,01$ ); \*\*\* - различия между сеянцами, выросших их желудей, собранных в глубине лесного массива, достоверны ( $P < 0,001$ ).

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 неблагоприятные воздействия биотических и абиотических факторов среды.

### **5.3. Морфологический полиморфизм сеянцев деревьев дуба черешчатого**

Расчет коэффициента вариации морфологических параметров сеянцев показал, что для всех показателей он превышает 25%. При помощи кластерного анализа выделены группы сеянцев: активно растущие, медленно растущие, промежуточные группы, которые различаются по показателям высоты, диаметра сеянцев.

Сеянцы, выращенные из желудей, собранных в районе 491 км автодороги Москва - Воронеж, в обоих измерениях были разделены на 4 группы. В возрасте 273 дней среди сеянцев выделены активно растущая группа сеянцев № 1 (25%), промежуточная группа № 2 (12,5 %), две медленно растущие группы - № 3 (29,2 %), № 4 (33,3 %). В возрасте 313 дней среди сеянцев выделены две промежуточные группы - № 1 (22,7 %), № 2 (27,3 %), активно растущая группа № 3 (18,2 %), медленно растущая группа № 4 (31,8 %).

Сеянцы, выращенные из желудей, собранных в глубине лесного массива района 491 км автодороги Москва - Воронеж, в обоих измерениях были разделены на 3 группы. В возрасте 273 дней среди сеянцев выделены: активно растущая группа сеянцев № 1 (18,6 %), промежуточная № 2 (27,1 %), медленно растущая № 3 (54,2 %). В возрасте 313 дней с момента посадки среди сеянцев выделены: промежуточная группа - № 1 (34,0 %), активно растущая № 2 (20,8 %), медленно растущая группа № 3 (45,3 %).

Сравнение ростовой динамики и долей групп в двух опытных измерениях выявило, что на территории у автомагистрали преобладает медленно растущая группа. При подрастании сеянцев идет выравнивание показателей и происходит увеличение доли сеянцев в промежуточных группах, доля сеянцев в активно растущей группе снижается.

На территории лесного массива, где интенсивность воздействия автотранспорта меньше, характерно преобладание сеянцев из медленно растущей группы, однако уже на 313 день с момента посадки их доля снижается за счет увеличения доли сеянцев из активно растущей и промежуточной групп.

В ходе исследования нами была предпринята попытка выявить связь между цитогенетическими и морфологическими параметрами сеянцев и семян. Было установлено, что проростки с худшими ростовыми показателями появляются из партий желудей с меньшей массой и поперечным размером, они имеют в корневой меристеме низкие значения митотической активности, высокий уровень патологий митоза, большую площадь поверхности одиночных ядрышек и значительную долю в общем спектре слабоактивных вакуолизированных ядрышек. При сравнении типов групп проростков по мутабельности и типов групп сеянцев по активности роста можно выделить следующие пары: мутабельная группа желудей – медленно растущая группа сеянцев; слабомутабельная и промежуточная группы желудей – активно растущая и промежуточная группа сеянцев.

## 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. 4). 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 яд-

рышковой 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 (табл. 4). При кластеризации семян дуба черешчатого были выделены группы по активности роста: активнорастущие, медленнорастущие, промежуточные. Сеянцы из активнорастущей группы отличаются высокими показателями

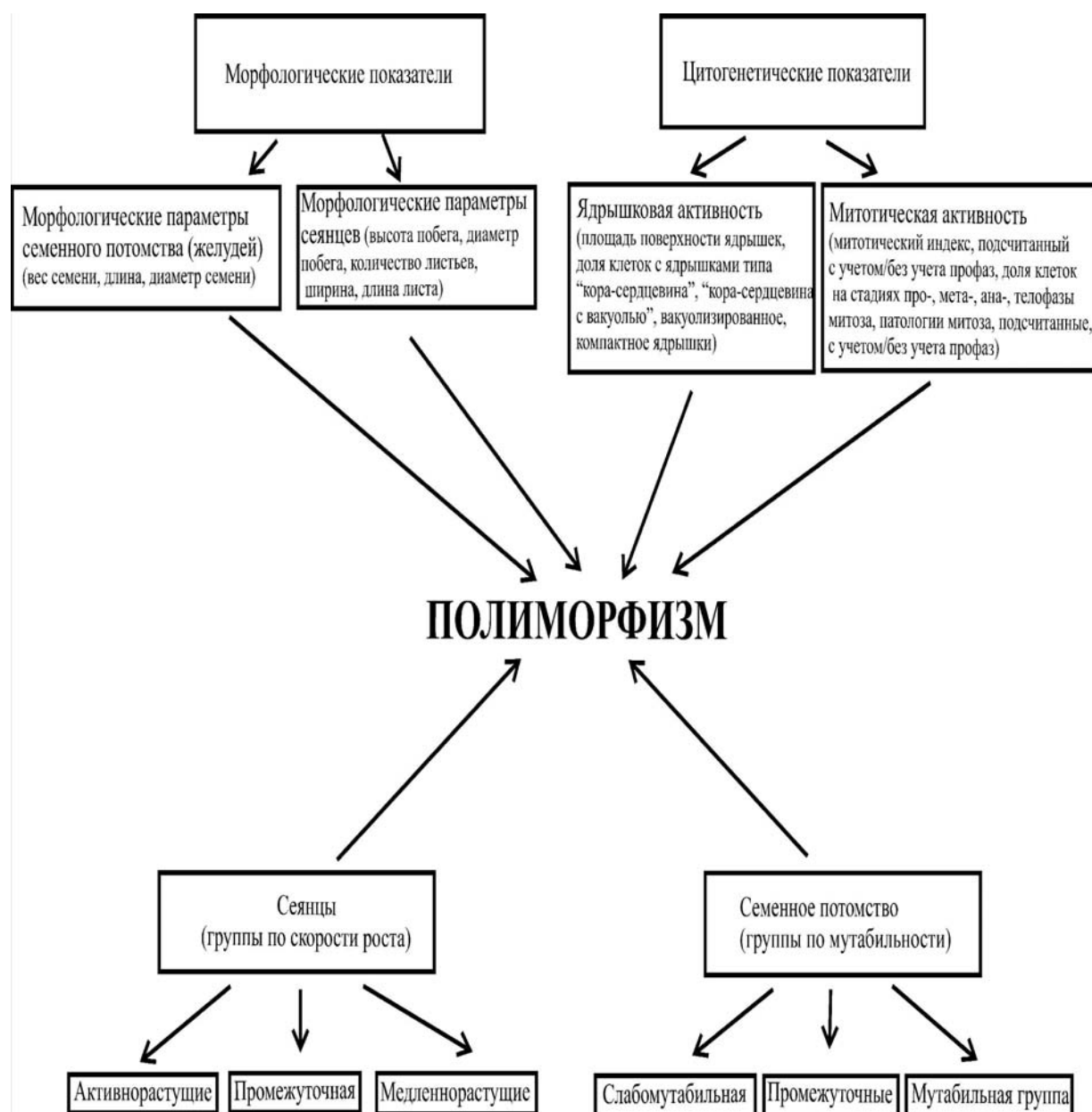


Рис. 4. Вклад цитогенетических и морфологических параметров в полиморфизм дуба черешчатого

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 сеянцев 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 сеянцев на группы мы можем выделить потомство, обладающее потенциалом 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 сеянцев с высокой скоростью роста и последующего получения здорового растения необходимо использовать представителей активнорастущей группы. При высокой конкуренции и меняющихся абиотических условиях сеянцы из медленнорастущей группы будут уступать активнорастущим особям и впоследствии могут погибнуть от недостатка питания, света, других необходимых веществ и факторов.

Таблица 4. Изменение цитогенетических и морфологических признаков семенного потомства дуба черешчатого на территориях с разным уровнем антропогенного загрязнения

|                                     |                                  | Цитогенетические показатели проростков  | Морфологические показатели семян   | 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 семян, 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 семян разделяется на 4 группы. Выделенные группы семян различаются по морфологическим показателям роста и относятся к активнорастущим, промежуточным, медленнорастущим группам. Преобладают семена 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 семян разделяется на 3 группы. Выделенные группы семян различаются по морфологическим показателям роста и относятся к активнорастущим, промежуточным, медленнорастущим группам. Преобладают семена 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, мень-

шей степенью их поврежденности, медленно растущая 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 ПУБЛИКАЦИЙ

### Публикации в научных изданиях, включенных в Перечень ВАК

1. Калаев В.Н. Цитогенетический полиморфизм проростков семян деревьев дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) на территориях с разным уровнем антропогенного загрязнения / В.Н. Калаев, **А.А. Попова** // Проблемы региональной экологии. - 2014. - № 2. - С. 176-190.
2. Калаев В.Н. Цитогенетические характеристики и морфологические показатели семенного потомства деревьев дуба черешчатого (*Quercus robur* L.), произрастающих на территориях с разным уровнем антропогенного загрязнения / В.Н. Калаев, **А.А. Попова** // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: химия, биология, фармация. - 2014. - № 4. - С. 64 – 70.
3. **Попова А.А.** Цитогенетический полиморфизм семенного потомства дуба черешчатого на территориях с разной антропогенной нагрузкой / **А.А. Попова** // В мире научных открытий. - 2010. - № 6-1. - С. 327-330.
4. Калаев В.Н. Интернет-ресурс, посвященный цитогенетическим исследованиям древесных растений / В.Н. Калаев, И.В. Игнатова, С.С. Карпова, **А.А. Попова**, А.П. Преображенский, И.Я. Львович // Вестник Воронежского государственного технического университета. - 2010. - Т. 6. - № 8. - С. 94-97.

### Статьи в сборниках научных трудов и материалов научных конференций

1. **Логачева (Попова) А.А.** Цитогенетический полиморфизм семенного потомства деревьев дуба черешчатого (*Quercus robur* L.), произрастающих на антропогенно загрязненных территориях / **А.А. Логачева (Попова)**, В.Н. Калаев // 5 съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров: матер. конференции. – Москва: Изд – во РГАУ-МСХА: 2009. – Ч. 2. – С. 247.
2. Калаев В.Н. Цитогенетические реакции семенного потомства дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) на загрязнение атмосферного воздуха выхлопными газами автотранспорта / В.Н. Калаев, **А.А. Логачева (Попова)** // Генетика и биотехнология 21 века. Фундаментальные и прикладные аспекты: материалы международ. науч. конф. – Минск: Издательский центр БГУ, 2008. - С. 93 – 95.
3. Калаев В.Н. Ядрышковые характеристики семенного потомства дуба черешчатого в условиях загрязнения окружающей среды автотранспортным комплексом / В.Н. Калаев, **А.А. Логачева (Попова)** // Фундаментальные и прикладные проблемы ботаники в начале 21 века: матер. всероссийск. конф. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2008. – Ч. 3. – С. 34.

4. Калаев В. Н. Индивидуальные различия цитогенетических реакций семенного потомства дуба черешчатого на территориях с разным уровнем антропогенного загрязнения / В. Н. Калаев, **А.А. Попова** // Кариология и молекулярная систематика : сб. науч. работ участников 6-го совещания по кариологии, кариосистематике и молекулярной филогении растений, 1-2 дек. 2009 г., СПб. — СПб. - 2009 .— С. 152-156 .
5. **Попова А. А.** Разработка метода комплексной оценки качества семян древесных растений / А. А. Попова // Инновационные технологии и материалы (ИТМ-2011): сборник докладов Всероссийской научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых (г. Воронеж, 15-16 ноября 2011 г.). - ФГБОУ УВПО «Воронеж. гос. техн. ун-т». - Воронеж, 2011. - С. 13-14.
6. **Попова А. А.** Цитогенетический полиморфизм как инструмент отбора качественного посадочного материала / А. А. Попова // Воспроизводство, мониторинг и охрана природных, природно-антропогенных и антропогенных ландшафтов: материалы международной молодежной научной школы, 14-15 июня 2012 г. - ФГБОУ ВПО "ВГЛТА". - Воронеж, 2012. - С. 125-128.

#### Тезисы докладов

1. Калаев В. Н. Цитогенетический полиморфизм семенного потомства древесных растений / В.Н. Калаев, И.В. Игнатова, С.С. Карпова, **А.А. Попова**, В.С. Воронина // VI съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров (ВО-ГиС) и ассоциированные генетические симпозиумы: тезисы докладов. — Ростов-на-Дону, 2014 .— С. 171-172.
2. Kalaev V. N. Cytogenetic Polymorphism in Seed Progeny of Trees of English Oak (*Quercus robur* L.) in Areas with Different Levels of Anthropogenic Pollution / V. N. Kalaev, **A. A. Popova** // Genetics of Fagaceae & Nothofagaceae, 9-12 Oct. 2012, Talence, France, Agora-University of Bordeaux : abstracts, posters .— Talence (France), 2012 .— P. 11.