

УДК 576.6:632.15

ВЛИЯНИЕ РАДИОАКТИВНОГО ОБЛУЧЕНИЯ МАТЕРИНСКИХ ДЕРЕВЬЕВ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО (*Quercus robur* L.) НА ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЕМЕННОГО ПОТОМСТВА (ОТДАЛЕННЫЕ ЭФФЕКТЫ)

© 2004 г. В.Г. Артюхов, В.Н.Калаев, А.Д. Савко

Воронежский государственный университет

Проведено изучение цитогенетических показателей (митотической активности, уровня и спектра нарушений митоза, частоты встречаемости клеток с остаточным ядрышком на стадии метафазы, анафазы, телофазы митоза и многоядрышковых клеток) у семенного потомства деревьев дуба черешчатого, произрастающих на территориях, подвергшихся радиоактивному загрязнению в результате аварии на Чернобыльской АЭС и в настоящий момент не испытывающих на себе антропогенного прессинга. Радиация индуцирует в отдаленные сроки у семенного потомства дуба черешчатого нестабильность цитогенетических показателей по типу волновой кинетики мутационного процесса, делая их более подверженными влиянию средовых факторов.

Авария на Чернобыльской АЭС привела к крупномасштабному радиоактивному загрязнению лесных экосистем на территории Российской Федерации, Беларуси и Украины, что поставило острейшую проблему по научному обоснованию и организации лесопользования на радиоактивнозагрязненных землях [1]. Несмотря на значительное снижение на загрязненных территориях уровня цитогенетических нарушений, приводящих к ухудшению качества семенного потомства деревьев, что обусловлено нормализацией радиационного фона, необходимо учитывать и отдаленные эффекты радиации [2]. Проблема отдаленных цитогенетических эффектов изучалась, в основном, применительно к животным и человеку. У них показано значительное увеличение хромосомных aberrаций в генеративных и соматических клетках в отдаленные сроки после облучения, даже если впоследствии радиационный фон не превышал предельно допустимых значений [3 – 6]. Исследования отдаленных цитогенетических эффектов действия радиации у растительных объектов показали вариабельность и лабильность цитоморфологических свойств растений в отдаленные сроки после облучения и при облучении в малых дозах, обусловленные радиационно индуцированной нестабильностью генома [7]; в некоторых популяциях отмечалось возрастание в отдаленные сроки хромосомных aberrаций [8], в других же – снижение хромосомных нарушений до контрольного уровня, а потом наблюдалась волнообразная кинетика мутагенеза, выражающаяся в том, что частота мутаций в отдельных популяциях то возрастала, то вновь снижалась до контрольных значений, а также возрастание в популяциях растений-анеуплоидов (гиперплоидов) и по-

явление добавочных хромосом [9 – 11]. Работ по изучению отдаленных цитогенетических последствий воздействия радиоактивного загрязнения на семенное потомство дуба черешчатого на территориях, где гамма-фон уже нормализовался, в исследованной нами литературе не обнаружено, хотя данная проблема имеет огромное значение для проведения лесовосстановительных работ с использованием желудей, собранных с ранее загрязненных территорий, а также для адекватной оценки данных цитогенетического мониторинга территорий, подвергшихся воздействию радиоактивных выбросов в результате Чернобыльской катастрофы, с использованием в качестве тест-объекта семенного потомства дуба черешчатого. Ранее было показано у семенного потомства деревьев дуба черешчатого, произрастающих на территориях Брянского округа широколиственных лесов, подвергшихся радиоактивному загрязнению в результате аварии на Чернобыльской АЭС, и где уровень гамма-фона на момент исследования составлял от 0,4 до 0,5 мР/ч, отмечалось значительное варьирование митотической активности (однако авторы в своих исследованиях не указывали время фиксации материала, что может отразиться на полученных результатах, т.к. этот показатель подвержен изменениям в течение суток [12 – 13]), увеличение времени прохождения клетками стадии анафазы митоза и рост на опытных территориях хромосомных нарушений, среди которых преобладали мосты [14].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Определение отдаленных цитогенетических эффектов воздействия радиоактивного облучения, а также

цитогенетический мониторинг с использованием в качестве тест-объекта семенного потомства дуба черешчатого проводили на территории населенного пункта Старый Курлак Аннинского района Воронежской области, где в 1986 году загрязненность почв цезием-137 достигала 3 Ки/км² [15]. Сбор семян осуществляли с трех опытных территорий: Кашара (1996, 1998 г.г., 1997 год – неурожайный); Кушелево, район гидрологического памятника природы Воронежской области – Черное озеро [16] (1996, 1997, 1998 г.г.); Ясная поляна (1998 г.). Во время сбора гамма-фон не превышал 14–17 мкР/час, а загрязненность территории цезием-137, по данным кафедры ядерной физики ВГУ, составляла для Кашары в 1995 году 0,74 Ки/км², в 1998 – 0,15 Ки/км², для Кушелево в 1995–0,15 Ки/км², в 1998–0,07 Ки/км², для Ясной поляны в 1998 году – 0,23 Ки/км². Снижение загрязненности почвы цезием, возможно, связано с его миграцией в более глубокие слои и частичным распадом. Указанные территории в настоящий момент практически не подвергаются антропогенному прессингу. Поэтому можно рассматривать обнаруженные цитогенетические эффекты у семенного потомства дуба черешчатого как отдаленные последствия действия радиоактивного загрязнения.

Для проведения исследований с каждой опытной площадки собирали по 25 желудей, не имеющих видимых повреждений вредителями и грибковыми заболеваниями, от фенотипически нормальных деревьев. Семена брали от 4-х фенотипически нормальных деревьев на каждой опытной площадке. В качестве контроля использовали семена, собранные в Усманском бору (район биостанции Воронежского государственного университета “Веневитиново”). Загрязнение контрольной территории химическими веществами и радионуклидами не превышало ПДК. Сбор семенного материала в контроле не отличался от такового на опытных площадях. (В связи с неурожаем желудей в 1997, 1998 г.г. на контрольной территории для сравнения с опытными образцами использовали объединенные данные цитогенетических показателей семенного потомства дуба черешчатого за 1995 и 1996 г.г., статистически достоверных различий между годами по цитогенетическим показателям не было).

Материалом для исследования явились корешки проростков желудей дуба черешчатого. Семена дуба проращивали во влажном песке при комнатной температуре. По достижении корешками проростков 2–3 см их фиксировали в смеси 96%-го этилового спирта и ледяной уксусной кислоты (3:1). Корешки проростков дуба фиксировали в 22 часа (зимнее время), когда в контроле наблюдаются пики митотической активности и патологий митоза [17]. Материал хранили при температуре +4°C в холодильнике. Изго-

товление микропрепаратов осуществляли по описанной ранее методике [18]. Из корешков проростков семян дуба с каждой опытной и контрольной площади изготавливали по 7–10 микропрепаратов. Препараты изучали с помощью светового микроскопа Laboval-4 (Carl Zeiss, Jena) при увеличениях 40x1,5x10 и 100x1,5x10. На каждом препарате учитывали общее количество просмотренных клеток (не менее 700), количество делящихся клеток, находящихся в той или иной фазе митоза, количество патологических митозов, число мета-, ана-, телофаз с остаточными ядрышками. На основании полученных данных определяли митотический индекс (доля делящихся клеток, %), долю патологических митозов среди общего числа делящихся клеток и среди мета-, ана-, телофаз (стадий митоза, где используемым нами методом нарушения могли быть обнаружены); долю мета-, ана-, телофаз с остаточными ядрышками от общего числа делящихся клеток на указанных стадиях, распределение клеток по стадиям митоза (долю анафазных и телофазных клеток считали вместе, что связано с трудностью различения стадий друг от друга при окраске ацетогематоксилином). Классификацию патологических митозов производили по Алову [19]. Встречаемость того или иного типа нарушений выражали в % от их общего числа. Учитывали долю клеток с различным числом ядрышек в ядре (%).

Статистическую обработку данных проводили на IBM PC/AT с помощью пакета статистических программ “Stadia”. Процедура группировки данных и их обработка изложены в работе Кулаичева [20]. Цитогенетические характеристики дуба черешчатого сравнивали по следующим критериям: частоты встречаемости остаточных ядрышек и патологических митозов – по непараметрическому X-критерию рангов Ван-дер-Вардена, митотический индекс и число клеток с п ядрышками в ядре по параметрическому t-критерию Стьюдента, дисперсии – по F-критерию Фишера. Сравнение долей клеток с различными типами патологических митозов с использованием их угловой трансформации и введением поправки Йейтса проводили по Лакину [21]. Для определения корреляционной зависимости использовали параметрический коэффициент корреляции (r) и коэффициент корреляции рангов Спирмена (r_s).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований в районе населенного пункта Старый Курлак Воронежской области, подвергшегося в 1986 году радиоактивному загрязнению, было выявлено изменение цитогенетических показателей семенного потомства де-

ревьев дуба черешчатого на обследованных территориях в разные годы исследования (табл. 1). Показано, что митотическая активность у семенного потомства варьировала по годам. Несмотря на снижение митотической активности при сравнении данных 1996 и 1998 годов, которое можно связать с уменьшением содержания в почве Cs-137, нельзя говорить о существовании зависимости между указанными параметрами, т.к. в 1997 году на опытной территории Кушелево митотический индекс возрастал до $15,2 \pm 1,4\%$, хотя статистически недостоверно, по сравнению с контролем ($13,5 \pm 1,6\%$) и 1996 годом ($13,8 \pm 0,7\%$), и не наблюдалось корреляционной зависимости между митотическим индексом на опытных площадях и содержанием Cs-137 в почве. В 1998 году на всех опытных территориях происходило достоверное снижение митотического индекса по сравнению с контролем и предыдущими годами ($P < 0,05$). Однако этот процесс нельзя рассматривать как депрессию митотической активности, т.к. уменьшение митотического индекса находилось в пределах колебания данного признака в норме [17]. Скорее всего, в этот год происходил сдвиг суточного

пика митотической активности, возможное изменение ритмов деления при воздействии факторов различной этиологии было показано в ряде работ [22 – 24]. Как указывалось выше, анализ данных в разные годы показал их изменения, однако сравнение значений митотического индекса на разных площадях в 1996 и 1998 г.г. показало их высокое сходство. Это свидетельствует, на наш взгляд, об однонаправленности процессов, протекающих в отдаленные сроки после радиационного воздействия на опытных территориях, и значительном модулирующем влиянии других факторов (возможно, погодных).

Заслуживающими внимания являются колебания дисперсии показателя “митотическая активность”. На опытной территории Кашара в 1996 году наблюдалось возрастание дисперсии, а в 1998 году на этой площади, как и на другой опытной территории – Ясная поляна, дисперсия падала ниже контрольного значения. На территории Кушелево различий с контролем по данному показателю не наблюдалось. Эта территория является наиболее чистой по содержанию цезия в почве. Учитывая, что на территории Кашара максимальное содержание Cs-137 отмече-

Таблица 1

Цитогенетические характеристики семенного потомства деревьев дуба черешчатого, произрастающих на территориях, подвергнувшихся в 1986 году радиоактивному загрязнению в результате аварии на Чернобыльской АЭС

Цитогенетические показатели, %	Опытные территории						
	Кушелево			Кашара		Ясная поляна	Контроль 1995 г. + 1996 г.
	1996	1997	1998	1996	1998	1998	
Митотический индекс	$13,8 \pm 0,7$	$15,2 \pm 1,4$	$11,8 \pm 0,5^*$	$15,0 \pm 1,3$	$11,5 \pm 0,4^*$	$11,6 \pm 0,4^*$	$13,5 \pm 0,6$
Митотический индекс без учета профаз	$4,8 \pm 0,2^{**}$	$6,9 \pm 1,3^*$	$6,2 \pm 0,3^{***}$	$5,4 \pm 0,4^{**}$	$6,3 \pm 0,4^{***}$	$6,1 \pm 0,3^{***}$	$3,6 \pm 0,2$
Патологии митоза	$1,8 \pm 0,4$	$3,3 \pm 0,8^*$	$2,6 \pm 0,7^*$	$3,1 \pm 0,6^{**}$	$3,0 \pm 0,6^{**}$	$2,8 \pm 0,4^{**}$	$1,4 \pm 0,3$
Патологии митоза без учета профаз	$5,7 \pm 1,2$	$8,6 \pm 3,5$	$5,1 \pm 1,5$	$8,4 \pm 1,6^*$	$5,3 \pm 1,0$	$5,2 \pm 0,8$	$5,9 \pm 1,4$
Частота встречаемости клеток с двумя ядрышками в ядре	$1,6 \pm 1,6^*$	$3,1 \pm 0,9$	$6,5 \pm 1,3^*$	$2,5 \pm 0,5$	$4,3 \pm 0,5^*$	$3,4 \pm 0,5$	$3,1 \pm 0,3$
Доля профазных клеток	$62,5 \pm 2,1^*$	$56,2 \pm 5,6^*$	$47,2 \pm 1,7^{***}$	$63,1 \pm 3,1^*$	$45,8 \pm 2,4^{***}$	$47,1 \pm 2,5^{***}$	$72,3 \pm 2,1$
Доля метафазных клеток	$16,6 \pm 0,9^*$	$19,6 \pm 0,6^*$	$21,4 \pm 1,3^{**}$	$15,8 \pm 1,6$	$25,3 \pm 1,5^{***}$	$23,4 \pm 1,9^{***}$	$13,9 \pm 1,1$
Доля анафазно-телофазных клеток	$18,0 \pm 2,2^*$	$24,0 \pm 5,9^*$	$30,5 \pm 1,8^{***}$	$21,3 \pm 2,3^*$	$30,7 \pm 1,4^{***}$	$30,1 \pm 1,6^{***}$	$13,7 \pm 1,4$

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

но в 1996 году, а в 1998 году – на территории Ясная поляна, можно предположить существование связи между загрязненностью территории радиоактивными веществами и генетической гетерогенностью семенного потомства: чем больше была загрязнена территория, тем более значительными будут колебания гетерогенности в разные годы по показателю “митотический индекс”. Другими словами, в популяции возможно возникновение волн: то будет появляться большое число быстрорастущих форм (с высоким митотическим индексом) и слаборастущих (с низким митотическим индексом), то будет происходить снижение частоты их возникновения до границ нормальной вариабельности или даже в более узких пределах, чем в норме.

Представляют интерес данные по митотическому индексу, подсчитанному без учета профазных клеток. На всех опытных территориях этот показатель был выше контрольного. Это обусловлено снижением доли клеток на стадии профазы и возрастанием на стадии метафазы и/или анафазы-телофазы (табл. 1). Так как изменчивость митотического индекса, подсчитанного без учета профазных клеток, выходит за пределы нормальной изменчивости этого признака, то возрастание доли клеток на стадии метафазы и анафазы-телофазы можно рассматривать, опираясь на работы Алова [19, 25], Казанцевой [26] и Колтовой [27], как нарушение, связанное с процессами формирования веретена деления клетки и протекания цитотомии и запуском системы checkpoint-репарации генетического материала. Таким образом, отдаленные эффекты радиоактивного облучения семенного потомства дуба черешчатого проявлялись в изменении протекания метаболических процессов, которые выражались в нарушении формирования митотического аппарата.

Учитывая изменение прохождения клетками различных стадий митоза, заслуживающим внимания представляется вопрос о частоте патологических митозов в корневой меристеме проростков желудей в зависимости от способа их подсчета. Сравнение опытных и контрольных значений патологических митозов, подсчитанных с учетом профаз, показывало их достоверное увеличение в разные годы исследования на всех опытных площадях, за исключением опытной территории Кушелево в 1996 году. На первый взгляд, это свидетельствует о значительном превышении контрольного уровня нарушений митоза и позволяет рассматривать данное явление как отдаленный эффект действия радиации. Однако анализ патологических митозов, подсчитанных без учета профазных клеток, где нарушения не обнаруживаются, показал превышение контрольного уровня

только в одной опытной точке (Кашара) в 1996 году. Сравнение значений патологических митозов как с учетом, так и без учета профазных клеток по годам обнаруживало их рост в 1997 году на опытной территории Кушелево по сравнению с 1998 годом ($P < 0,05$) и спад значений нарушений в 1998 году на площади Кашара по сравнению с 1996 годом ($P < 0,05$). Сравнение же количества патологических митозов на различных опытных площадях в один и тот же год не показывало достоверных различий, поэтому вряд ли можно считать, что изменение процента патологических митозов обусловлено динамикой изменения Cs-137 в почве. На основании вышесказанного можно согласиться с мнением Дмитриевой с соавт. [9], что радиационное облучение в отдаленные сроки индуцирует нестабильность цитогенетических показателей семенного потомства растений. Они становятся более подверженными, по сравнению с необлученной выборкой, влиянию средовых факторов. Волновая кинетика, наблюдаемая спустя 10 – 12 после Чернобыльской катастрофы, обусловлена наличием и поведением радиочувствительной фракции в семенном потомстве. При оптимальных или близких к ним экологических условиях радиочувствительная фракция сохраняется и обуславливает повышенную частоту мутаций, определяемую в популяционных сборах семян. При неблагоприятных природных условиях она элиминируется, что проявляется в снижении частоты индуцированных цитогенетических нарушений до контрольных значений [10]. Интересным представляется факт использования цитогенетического показателя “патологии митоза”, подсчитанного с учетом профазных клеток и без них. Подсчет патологий митоза с учетом профаз, как нам представляется, является экспресс-методом интегральной оценки состояния митотического аппарата, так как позволяет диагностировать изменения в его функционировании (или возрастание патологий митоза и/или изменение времени прохождения клеткой стадий митоза, обусловленного нарушениями формирования веретена деления или цитототмии). Для более точного определения, в результате чего произошло нарушение митотического аппарата, необходимо проводить подсчет патологий митоза без учета профазных клеток и анализировалось распределение клеток по стадиям митоза.

Суммарный спектр нарушений митоза (данные по каждой точке за все годы исследования объединены) представлен на рисунке 1. Как видно из рисунка, на всех опытных площадях происходило возрастание по сравнению с контролем доли мостов и снижение доли отстаиваний хромосом в метакинезе. Подобный спектр нарушений отмечается в тканях с

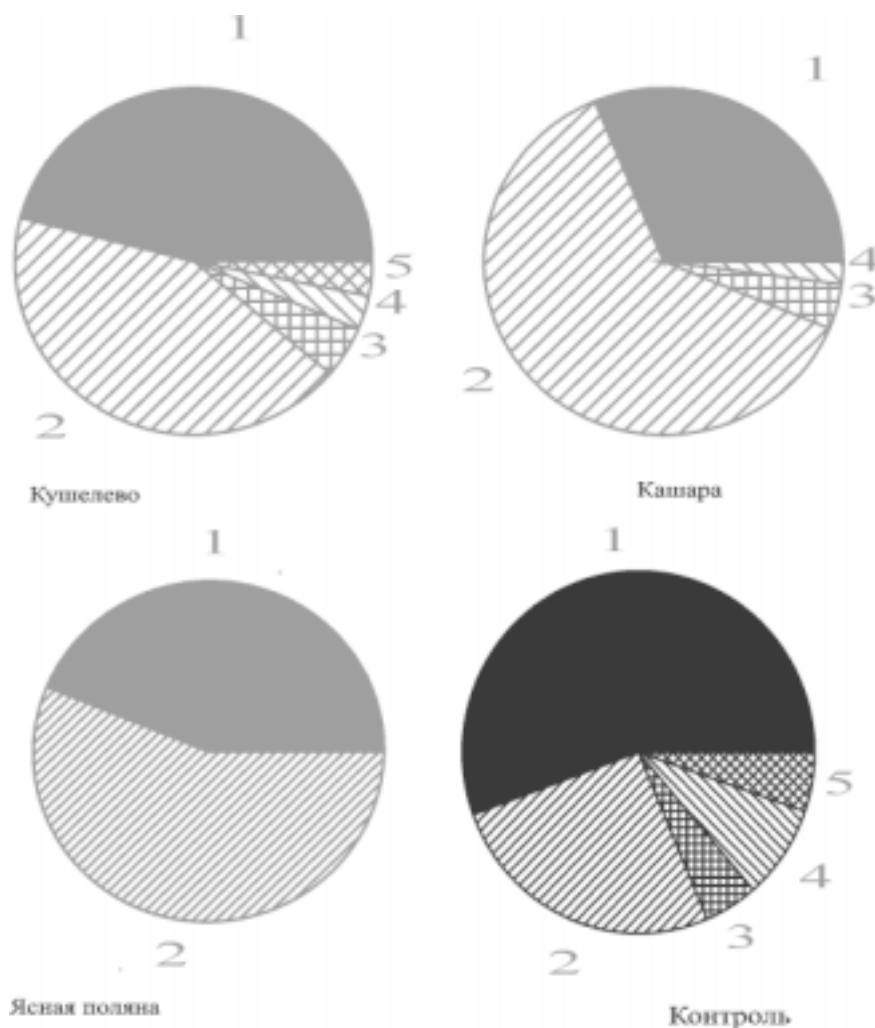


Рис. 1. Спектр патологических митозов в корневой меристеме проростков желудей дуба черешчатого, собранных на опытных территориях в районе населенного пункта Старый Курлак в 1996 – 1998 г.г.

Обозначения: 1 – отставание хромосом в метакинезе (Кушелево – 46,0 %; Кашара – 31,3 %; Ясная поляна 43,8 %; контроль – 55,6 %); 2 – мости (Кушелево – 42,9 %; Кашара – 62,5 %; Ясная поляна – 56,2 %; контроль – 25,5); 3 – отставание хромосом в анафазе (Кушелево – 4,8 %; Кашара – 4,2 %; Ясная поляна – 0 %; контроль – 4,9 %); 4 – “редкие” патологии (Кушелево – 3,2 %; Кашара – 2,1 %; Ясная поляна – 0 %; контроль 5,3 %); 5 – агглютинация (Кушелево – 3,2 %; Кашара – 0 %; Ясная поляна – 0 %; контроль – 8,4 %).

активно работающими системами восстановления повреждений генетического материала клетки [28, 29], что свидетельствует о возрастании репаративных способностей клеток корневой меристемы проростков желудей дуба черешчатого, полученных от материнских деревьев, подвергшихся радиоактивному облучению в отдаленные сроки. Сравнение спектра нарушений протекания митоза на разных площадях не показывало значительных различий. Это, по нашему мнению, еще раз подтверждает предположение об отсутствии прямых связей цитогенетических эффектов и загрязнения почвы цезием. Возможно, возрастание репаративных способностей и изменение цитогенетических показателей семенного потомства дуба обусловлено тем, что генетичес-

кая система организма вышла после стрессового воздействия на новый триггерный уровень.

На препаратах с опытных площадей отмечается значительное колебание долей клеток с двумя ядрышками в ядре. Изменение этого показателя может свидетельствовать об активации латентных ядрышкообразующих районов (в норме у дуба две пары хромосом с ядрышковыми организаторами [30]) и возрастании метаболической активности в клетках. Данный механизм рассматривается рядом авторов [31 – 36]. Встречаемость клеток с двумя ядрышками в ядре в пробах с опытных площадей представлена в таблице 1. У проростков желудей с опытной территории Кушелево в 1996 году была снижена доля клеток с двумя ядрышками в ядре по сравнению с контролем

(опыт – $1,6 \pm 0,5$ %; контроль – $3,1 \pm 0,3$ % ($P < 0,05$)), а в 1998 году их доля возрастала (опыт – $6,5 \pm 1,3$ % ($P < 0,05$)). В этом же году у 2 проростков желудей, собранных в этом районе, обнаружено 3 клетки с 5 ядрышками в ядре, что нехарактерно для дуба черешчатого в норме. В 1998 году на опытной площади Кашара возрастала доля клеток с двумя ядрышками (опыт – $4,5 \pm 0,5$ % ($P < 0,05$)). Хотя в контрольной выборке частота встречаемости клеток с двумя ядрышками не коррелировала с другими цитогенетическими характеристиками, в опыте появилась отрицательная связь этого показателя с митотическим индексом ($r = -0,325$; $P < 0,05$) и долей профазных клеток ($r = -0,369$; $P < 0,001$) и положительная – с показателем “патологические митозы”, подсчитанным с учетом ($r_s = 0,351$; $P < 0,01$), и без учета профазных клеток ($r_s = 0,185$; $P < 0,05$). По мнению Ростовской [37], в благоприятных условиях снижается сила связей между признаками и, наоборот, при стрессе корреляционная зависимость возрастает. Опираясь на приведенные корреляционные связи, можно предположить, что у дуба черешчатого существует два механизма адаптации к стрессовому воздействию: первый выражается в изменении доли профазных клеток (она связана положительной корреляцией с патологическими митозами ($r_s = 0,231$; $P < 0,05$)); а второй связан с активацией ядрышкообразующих районов (возможно, “спящих”, как у хвойных растений), т.к. число клеток с двумя ядрышками в ядре находится в отрицательной зависимости от доли профазных клеток и в положительной – от показателя “нарушения митоза без учета профаз”. Можно сделать предположение, что эти механизмы адаптации связаны между собой и взаимно компенсируют друг друга. Возможно, что в отдаленные сроки после облучения материнских деревьев дуба черешчатого, у их семенного потомства происходила активация ранее не работавших ядрышкообразующих районов.

Таблица 2

Дисперсии показателя митотический индекс семенного потомства дуба черешчатого, собранного на опытных площадях в районе населенного пункта Старый Курлак

Опытные территории	Годы исследований		
	1996	1997	1998
Кушелево	2,9	10,2	3,2
Кашара	13,8 *	–	1,7 *
Ясная поляна	–	–	2,3 *
Контроль	5,7		

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

У семенного потомства дуба в клетках на стадии метафазы, анафазы-телофазы наблюдалось остаточное ядрышко. Частота его встречаемости и число проанализированных проростков, у которых оно обнаружено, представлены в табл. 3. Впервые этот феномен был выявлен у сеянцев второго года из зоны повышенного радиационного фона, образовавшегося в результате аварии на Чернобыльской АЭС [38], в дальнейшем появление остаточных ядрышек в клетках корней проростков семян дуба черешчатого было обнаружено в нестрессовых условиях в пики митотической активности [13]. Данное явление обусловлено пуфингом рибосомальных генов, обеспечивающих нормальное протекание транскрипции в условиях подавления функции ряда уникальных генов [38].

Как видно из таблицы 3, в 1996, 1997 г.г. частота встречаемости остаточного ядрышка на стадии метафазы митоза была ниже контрольной, или оно совсем не встречалось, а в 1998 году различия с контролем не обнаружены. Это можно объяснить снижением пуфинга рибосомальных генов и рассматривать как отдаленный эффект последствий радиации.

Таким образом, на основании проведенных исследований установлено, что у семенного потомства материнских деревьев дуба черешчатого, подвергшихся радиоактивному облучению, в отдаленные сроки после воздействия радиации наблюдалось изменение цитогенетических показателей: митотической активности (вариабельность семенного потомства по этому показателю подвержена сильным колебаниям в зависимости от погоды), времени прохождения клетками стадий митоза, что обусловлено нарушениями процессов цитотомии и образования веретена деления. Несмотря на нормализацию радиационного фона, у семенного потомства наблюдалась повышенная репаративная активность в клетках меристемы. Возможно, активировались “спящие” ядрышкообразующие районы. В отдельные годы повышался уровень патологических митозов. Данные изменения согласуются с концепцией о волновой кинетике мутационного процесса у растений в отдаленные сроки после радиоактивного облучения. Все это, на наш взгляд, свидетельствует о нецелесообразности применения семенного потомства дуба черешчатого из районов, подвергшихся радиоактивному загрязнению, для целей лесовосстановления или же использование его должно проводится с большой осторожностью (после проверки цитогенетических показателей), т.к. такой семенной материал может ухудшить качество лесонасаждений.

Опираясь на созданную нами шкалу чувствительности к стрессовым факторам цитогенетических показателей [24], можно оценить цитогенетические

Частота встречаемости остаточного ядрышка (ОЯ) на стадии метафазы митоза в корнях проростков желудей дуба черешчатого (где оно обнаружено), собранных в районе населенного пункта Старый Курлак

Опытная территория	Число препаратов с ОЯ / число просмотренных препаратов			Встречаемость ОЯ, %		
	Год исследований			Год исследований		
	1996	1997	1998	1996	1997	1998
Кушелево	0/7	2/7	15/15	0	6,2±4,2*	10,0±2,0
Кашара	2/8	–	11/11	3,0±2,0 *	–	13,8±3,1
Ясная поляна	–	–	13/14	–	–	12,8±2,0

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

эффекты у семенного потомства, обусловленные отдаленными последствиями радиоактивного облучения материнских деревьев, в 1996, 1998 г.г. на опытной территории Кашара как средней степени повреждения генетического аппарата (т.к. происходило возрастание патологических митозов и изменение митотической активности), на других опытных площадях эффекты были менее выражены.

В связи с тем, что на всех опытных точках происходило изменение времени прохождения клетками стадий митоза, можно предложить его как наиболее чувствительный критерий стрессового воздействия для видов с небольшим числом ядрышкообразующих хромосом.

Работа выполнена при поддержке НИОКР Министерства природных ресурсов РФ “Биогеосферные исследования состояния и динамики природной среды в условиях интенсивного воздействия антропогенных факторов на территории Центрально-Черноземного региона”, государственный контракт № ВК-02-47/301 и гранта Президента РФ для поддержки молодых российских ученых и ведущих научных школ РФ “Цитогенетические реакции древесных растений (на примере лиственных) на стрессовые условия, обусловленные антропогенным загрязнением и оценка генотоксичности окружающей среды для человека по цитогенетическим показателям древесных растений” (грант МК-2587.2004.4).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ипатьев В.А., Тарасенко В.П., Холодилова Л.В.* // Дуб – порода третьего тысячелетия: сб. науч. тр. Ин – та леса НАН Беларуси. Минск, 1998. Вып. 48. С. 9 – 22.
2. *Косиченко Н.Е.* Влияние генотипа-среды на формирование микроструктуры стебля и диагностика технических свойств, роста и устойчивости дре-

весных растений: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Воронеж, 1999. 40 с.

3. *Возилова А.В., Аклеева А.В., Бочков Н.П.* и др. // Радиационная биология. Радиоэкология. 1998. Т. 38, вып. 4. С. 586 – 590.

4. *Ильинских Н.Н., Ильинских Е.Н., Иванчук И.И.* и др. // Радиационная биология. Радиоэкология. 1998. Т. 38, вып. 2. С. 164 – 170.

5. *Сенцова А.Л., Петухов В.Л.* // 2 съезд ВОГиС. СПб, 2000. Т. 1. С. 252 – 253.

6. *Шевченко В.А., Акаева Э.А., Елисова Т.В.* и др. // 2 съезд ВОГиС. СПб, 2000. Т. 1. С. 257 – 258.

7. *Позолотина В.Н.* Отдаленные последствия действия радиации на растения. Екатеринбург: Академкнига, 2003. 243 с.

8. *Шевченко В.В., Гриних Л.И., Абрамов В.И.* // Радиационная биология. Радиоэкология. 1998. Т. 38, вып. 3. С. 330 – 336.

9. *Дмитриева С.А., Парфенов В.И., Давидчик Т.О.* // Цитология. 1999. Т. 41, № 12. С. 1062 – 1063.

10. *Дмитриева С.А.* Кариология флоры Беларуси: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Минск, 2000. 42 с.

11. *Миронов А.Н.* Цитогенетические эффекты от воздействия ионизирующей радиации и импульсных магнитных полей на древесные растения: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2002. 24 с.

12. *Гриф В.Г., Мачс Э.М.* // Цитология. 1994. Т. 36, № 11. С. 1069 – 1084.

13. *Butorina A. K., Kalaev V.N.* // Diversity and Adaptation in Oak Species. Proceedings of a conference of IUFRO Working Party 2.08.05 held Oct. 12-17, 1997, College of Agricultural Sciences, The Pennsylvania State University, University Park, Pennsylvania, U.S.A. Pennsylvania, 1998. P. 46-48.

14. *Шлапакова С.А.* Рост, репродуктивная способность и перспективы воспроизводства дуба черешчатого в радиоактивно загрязненных насаждениях Брян-

- ского округа зоны широколиственных лесов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Брянск, 1999. 20 с.
15. Экологический информационный бюллетень о состоянии, проблемах и прогнозе охраны окружающей среды области. Воронеж: Изд – во Воронеж. гос. ун – та, 1993. 129 с.
 16. Заповедники и заказники Воронежской области. Воронеж: Центрально-Черноземное кн. изд – во, 1983. 175 с.
 17. *Калаев В.Н.* Цитогенетический мониторинг загрязнения окружающей среды с использованием растительных тест-объектов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Воронеж, 2000. 25 с.
 18. *Буторина А.К.*, *Калаев В.Н.*, *Вострикова Т.В.*, *Мяжкова О.Е.* // Цитология. 2000. Т. 42, № 2. С. 196–201.
 19. *Алов И.А.* // Вестник АМН СССР. 1965. № 11. С. 58 – 66.
 20. *Кулаичев А.П.* Методы и средства анализа данных в операционной среде Windows. Stadia 6.0. М.: Информатика и компьютеры, 1996. 257 с.
 21. *Лакин Г.Ф.* Биометрия. М.: Высш. шк., 1990. 352 с.
 22. *Генералова М.В.* // Генетика. 1969. Т. 5, № 6. С. 48 – 51.
 23. *Мачс Э.М.*, *Гриф В.Г.* // Цитология. 1996. Т. 38, № 8. С. 842 – 853.
 24. *Буторина А.К.*, *Калаев В.Н.* // Экология. 2000. № 3. С. 206 – 210.
 25. *Алов И.А.* // Цитология. М., 1976. Т. 3. С. 40 – 66.
 26. *Казанцева И.А.* Патология митоза в опухолях человека. Новосибирск: Наука, 1981. 114 с.
 27. *Колтовая Н.А.* Механизм checkpoint-контроля у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*: Препринт Объединенного института ядерных исследований. Дубна, 2001. 38 с.
 28. *Акопян Э.М.* // Генетика. 1967. Т. 3, № 5. С. 45 – 51.
 29. *Симаков Е.А.* // Радиобиология. 1983. Т. 23, вып. 5. С. 703 – 706.
 30. *Буторина А.К.* Цитогенетика лесных древесных растений (в связи с вопросами их эволюции и селекции): Дис.... докт. биол. наук. Воронеж, 1990. 368 с.
 31. *Дуброва А. Н.* // Журнал общей биологии. 1989. Т. 50, № 2. С. 213–217.
 32. *Шафикова Л.М.* Цитогенетические особенности сосны обыкновенной в условиях промышленного загрязнения: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Красноярск, 1999. 20 с.
 33. *Муратова Е.Н.*, *Седелникова Т.С.* // Методы оценки состояния и устойчивости лесных экосистем: тез. докл. международ. совещания, 8 – 13 августа, 1999, Красноярск. Красноярск, 1999. С. 116 – 117.
 34. *Калашиник Н.А.*, *Хайдарова Т.Г.* // Методы оценки состояния и устойчивости лесных экосистем: тез. докл. международ. совещания, 8 – 13 августа, 1999, Красноярск. Красноярск, 1999. С. 79 – 80.
 35. *Хайдарова Т.Г.*, *Калашиник Н.А.* // Цитология. 1999. Т. 41 № 12. С. 1086.
 36. *Kalaev V.N.*, *Karпова S.S.* // Forest Genetics. 2003. V.10, №1. P. 11 – 18.
 37. *Ростова Н.С.* // Ботан. журнал. 1999. Т. 84, № 11. С. 50 – 66.
 38. *Буторина А.К.*, *Исаков Ю.Н.* // Докл. АН СССР. 1989. Т. 308, № 4. С. 987 – 988.