

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

ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет»

Поступила в редакцию 01.09.2014 г.

Аннотация. Проведены исследования цитогенетических (митотической активности, уровня и спектра патологических митозов, ядрышковой активности) и морфологических показателей семян и проростков дуба черешчатого в районах г. Воронежа с разным уровнем антропогенного загрязнения. Установлены изменения под влиянием поллютантов показателей митотического аппарата и ядрышковых характеристик, снижение массы и поперечного размера желудей, уменьшение пределов варьирования массы желудей, низкие показатели высоты, диаметра побегов сеянцев, уменьшение листовой поверхности и высокая степень ее повреждения на территориях с высоким уровнем антропогенного загрязнения. Показана взаимосвязь морфологических и цитогенетических показателей проростков семян дуба черешчатого. Проростки с худшими ростовыми показателями появляются из желудей с меньшей массой и поперечным размером, они имеют более высокий уровень патологий митоза, большую площадь поверхности одиночных ядрышек и значительную долю в общем спектре слабоактивных вакуолизованных ядрышек.

Ключевые слова: антропогенное загрязнение, дуб черешчатый, сеянцы дуба, желуды, морфологические показатели, митотическая активность, патологии митоза, ядрышковые характеристики.

Abstract. It has been researched cytogenetic (mitotic activity, level and spectrum of pathological mitosis, nucleoli activity) and morphological parameters of seeds and seedlings of English oak in the areas of Voronezh with different levels of anthropogenic pollution. The changes of indicators of the mitotic apparatus and nucleoli characteristics, weight and peppered the size of acorns, reducing the limits of variation capes acorns, low height, the diameter of the shoots of seedlings, reducing leaf surface and a high degree of its damage under the influence of high levels of anthropogenic pollution has been identified. The relationship of morphological and cytogenetic seedlings of English oak has been showed. Seedlings with the worst growth capacity appeared from acorns with smaller mass and transverse dimensions, they have a higher level of mitosis pathology, a large surface area of single nucleoli and a significant portion of the total spectrum of the low-level vacuolated nucleoli.

Keywords: anthropogenic pollution, English oak, oak seedlings, acorns, morphological markers, mitotic activity, pathology of mitosis, nucleoli characteristics.

В настоящий момент активно проводятся исследования цитогенетических характеристик древесных растений, как лиственных – береза повислая [1, 2], дуб черешчатый [3], так и хвойных – сосна обыкновенная [4-6] и др.), пихта сибирская [7], лиственница сибирская [8], ель сибирская [9]. Было установлено, что в условиях антропогенного загрязнения или в результате стрессового

воздействия различной этиологии у семенного потомства возможно изменение митотической активности (стимуляция, депрессия, сдвиг суточных ритмов), возрастание числа патологий митоза (как за счет увеличения нарушений протекания делений клеток, так и за счет сдвига циркадных ритмов нарушений митоза), расширение спектра нарушений (появление нехарактерных для «нормальных» условий произрастания нарушений), изменение ядрышковых показателей (увеличение

числа ядрышек, изменение их размера и типа, сдвиг суточных ритмов ядрышковой активности, появление остаточных ядрышек на стадии мета-, ана-, телофазы митоза и появление ядрышек в цитоплазме интерфазных клеток) [3, 10, 11] и др.).

В настоящее время цитогенетические показатели предлагают использовать для оценки состояния насаждений и прогноза качества семенного потомства для целей лесовосстановления [12, 13]. Однако прямых доказательств связи цитогенетических показателей и морфологических признаков не было установлено. В связи с этим нами была предпринята попытка провести сравнительный анализ цитогенетических и морфологических характеристик семенного потомства дуба черешчатого в районах с разным уровнем антропогенного загрязнения. Выбор в качестве объекта исследований дуба черешчатого обусловлен тем, что данная древесная порода является высокоценной и широко распространена в Воронежской области. Цитогенетические исследования дуба черешчатого в Центральном Черноземье ранее проводились А.К. Буториной [14] и В.Н. Калаевым [3].

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Исследования проводились в районе 9 километра Задонского шоссе, расположенного в 40 квартале Правобережного пригородного участкового лесничества Воронежской области, на семенах, собранных в 2011 и 2007 гг. На данную территорию оказывается интенсивное антропогенное воздействие, обусловленное загрязнением выхлопными газами автотранспорта, рекреационной нагрузкой на лесонасаждения. В 2001 году сбор семян проводился с деревьев дуба черешчатого, произрастающих вблизи от 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 проводились на семенах, собран-

ных 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. Данную территорию мы считаем экологически чистой, так как Щетинкиным [15] и Семеновой [16] были выполнены исследования, которые показали, что нет превышения ПДК по тяжелым 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. Семена проращивали во влажном песке. Когда корешки проростков достигали 2-3 см длины, 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 [17]. Материал хранили при температуре +4°C в холодильнике. После чего корешки проростков окрашивали ацетогематоксилином, изготавливали давленные препараты по описанной ранее методике [18].

Просмотр приготовленных препаратов проводили на микроскопе Laboval-4 (Carl Zeiss, Jena) при увеличении 40×1.5×10, 100×1.5×10.

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 [19]. 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 [20]. По полученным данным были вычислены площади поверхности одиночных ядрышек (мкм²), частота встречаемости различных типов ядрышек (%).

Для анализа морфологических параметров отбирали желуди не имеющие видимых грибковых, биотических и механических повреждений,

а также погружали желуди в воду и всплывшие на поверхность семена не использовали для исследования. Производили взвешивание семян, предназначенных для посева, на электрических весах, измеряли с помощью штангенциркуля диаметр желудя (в самой широкой части) и длину (от основания до верхушки семени).

В семенной плантации, заложенной на территории Животиновского лесничества учебно-опытного лесхоза Воронежской государственной лесотехнической академии, определяли физиологические параметры и особенности роста сеянцев дуба черешчатого первого года: высота, диаметр, количество листьев. Измерения проводились дважды с интервалом в месяц (первое измерение на 273 день после посадки, второе измерение на 313 день после посадки) для определения интенсивности роста. Высоту сеянцев замеряли рулеткой от поверхности почвы до верхушечной почки, диаметр определялся штангенциркулем 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). Сеянцы с низкими значениями высоты и диаметра сеянца относили к медленнорастущей группе, сеянцы с высокими значениями – активнорастущей группе, также выделяли промежуточную группу.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета статистических программ «Stadia». Процедура группировки данных и их обработка изложены в работе Кулаичева [21]. Для сравнения выборок по митотической активности, ядрышковым характеристикам и морфологическим показателям использовали *t*-критерий Стьюдента. Сравнение выборок по патологиям митоза проводили с использованием *X*-критерия рангов Ван-дер-Вардена, так как данный признак не подчиняется нормальному распределению.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Цитогенетические характеристики семенного потомства дуба черешчатого (*Quercus robur L.*) в условиях антропогенного загрязнения

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 [3]. На антропогенной загрязненных территориях митотический индекс, подсчитанный без учета профазных клеток, выше, чем на экологически «чистой» территории (табл. 1), 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 [19].

На фоне неравномерного 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 2012 г. с результатами опыта 2007 г. показало общую тенденцию изменения 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 [19], а также активации системы checkpoint-проверки целостности генетического материала [3]. 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 возрастающем уровне воздействия автотранспорта.

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 автотрассы Москва - Воронеж, 2012 г. (точка в глубине лесного массива)	491 км автотрассы Москва - Воронеж, 2012 г. (точка у автомагистрали)	БУНЦ «Веневиново» (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 ($P < 0,001$).

Более ранние исследования цитогенетических показателей семенного потомства деревьев дуба черешчатого в 1996, 1998 гг. на территории 9 км Задонского шоссе [22] также показывали возрастание митотической активности по сравнению с контрольной территорией, которое обусловлено 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.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.

В изменении ядрышковых характеристик на опытных территориях за три года проведения исследований 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 «вакво-

лизированное», доля высокоактивных ядрышек «кора-сердцевина» снижается.

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

Семенное потомство деревьев дуба черешчатого на контрольной территории характеризуется более низким значением площади поверхности высокоактивных ядрышек кора-сердцевина ($87,0 \pm 1,8$ мкм²), что сочетается с меньшей их долей среди других типов ядрышек ($38,9 \pm 2,9\%$). Происходит восстановление ядрышковой активности 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» ($106,9 \pm 1,9$ мкм²) и «вакуолизированные» ($95,0 \pm 10,8$ мкм²) наряду с их большей долей среди других типов ядрышек (доля ядрышек типа «кора-сердцевина с вакуолью» - $59,9 \pm 2,9\%$).

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 автотрассы Москва - Воронеж, 2012 г. (точка в глубине лесного массива)	491 км автотрассы Москва - Воронеж, 2012 г. (точка у автомагистрали)	БУНЦ «Веневитиново» (экологически чистая территория) 2008 г.
Площадь поверхности ядрышек типа «кора-сердцевина», мкм ²	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 ²	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 ²	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 ²	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 ²	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).

В связи с тем, что ядрышковые характеристики наряду с митотической активностью и патологиями митоза могут служить мерой антропогенного воздействия и адаптивной реакции растений [23], нами была предпринята попытка сравнить данные, полученные 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 (различия с контролем достоверны (P<0,001)), площадь поверхности высокоактивных ядрышек типа кора-сердцевина (различия с контролем достоверны (P<0,001)), площадь поверхности уме-

ренно активных ядрышек типа кора-сердцевина с вакуолью (различия с контролем достоверны (P<0,01)).

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 долю клеток с вакуолизированным ядрышком.

Снижение площади поверхности ядрышек и преобладание клеток с ядрышками типа «кора-сердцевина вакуолизированное» и «вакуолизированные» характеризует семенное потомство дуба черешчатого, произрастающее в районе прохождения автомагистрали Москва – Воронеж, как угнетенное.

Таким образом, на опытных антропогенно загрязненных территориях происходят изменения цитогенетических характеристик семенного потомства деревьев дуба черешчатого: отмечается снижение митотической активности, возрастает доля патологических митозов, изменяется время прохождения клетками стадий митоза (возрастает доля метафаз, анафаз – телофаз). В 2007 г. расширяется спектр нарушений, появляются асимметрические митозы. В 2001 г. на опытной территории отмечались клетки с микроядрами. В условиях антропогенного загрязнения происходит изменение ядрышковых характеристик клеток апикальной меристемы корня проростков желудей дуба черешчатого. Возрастает площадь поверхности одиночных ядрышек, увеличивается доля малоактивных ядрышек типа «кора-сердцевина вакуолизованные» и «вакуолизованные». Увеличивается доля клеток с остаточным ядрышком на стадии мета-, ана-, телофазы митоза и число многоядрышковых клеток.

Морфологические показатели семян и проростков дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) в условиях антропогенного загрязнения

Среди собранного в районе трассы Москва-Воронеж материала дуба черешчатого степень повреждения поверхности желудя не превышала 15 %, поэтому данный материал был использован для морфологического анализа, а также для получения семян. Морфологические характеристики проростков и семян деревьев дуба черешчатого, произрастающих на опытных территориях, представлены в таблице 3 .

Таблица 3

Морфологические характеристики семян деревьев дуба черешчатого, произрастающие на опытных территориях

Показатель	Районы исследований		
	г. Воронеж	491 км автотрассы Москва - Воронеж, 2012 г.	
		точка у автомагистрали	точка в глубине лесного массива
Масса семян, г	4,9 ± 0,2	5,2 ± 0,1	6,6 ± 0,1
Длина желудя, см	3,1 ± 0,03	3,1 ± 0,01	3,1 ± 0,02
Поперечный размер желудей, см	1,6 ± 0,02	1,6 ± 0,01	1,8 ± 0,01

Сравнение морфологических характеристик семенного потомства с разных опытных терри-

торий показало, что деревья, произрастающие на территории г. Воронеж, генерирует семенное потомство с низким весом – 4,9 г. Масса семян, собранных в глубине лесного массива, значительно выше, чем в непосредственной близости к трассе и в г. Воронеж (различия достоверны (P<0,01)).

В тоже время установлены различия по длине желудя между семенным потомством с опытных территорий около автомагистрали и в глубине лесного массива (различия достоверны (P<0,01)), а также между семенным потомством с территории около автомагистрали и территории г. Воронеж (различия достоверны (P<0,05)).

Изучение поперечного размера желудей показало, что все опытные территории отличаются друг от друга (различия достоверны (P<0,01)).

Ранее на одуванчике рогаоносном Шашурина и Журавская [25] показали снижение средней массы семян и митотического индекса с повышением запыленности воздуха. 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, однако на всех опытных территориях митотическая активность ниже, чем на экологически чистой территории. Таким образом, опираясь на наши исследования и исследования других авторов, возможно предположить, что семенное потомство, имеющее более мелкие размеры, имеет более низкие значения митотического индекса.

Анализ кривых вариаций изучаемых параметров показывает, насколько устойчива популяция по отношению к действию факторов окружающей среды, 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 возле трассы Москва-Воронеж. Для этой группы желудей, масса которых варьирует от 3 до 10 г (рисунок), были характерны наибольшие пределы варьирования. Этот факт может свидетельствовать о стабильности семенного потомства деревьев, произрастающих на данной территории, по отношению к другим опытным территориям.

Для семенного потомства деревьев, произрастающих на территории вблизи трассы Москва

- Воронеж, построение графика распределения по Гауссу показало максимальную долю семян со значениями массы, близкими к медиане (рисунок), это может свидетельствовать о высоком давлении неблагоприятных факторов среды, элиминирующих образование крайних форм. Зона оптимума для семенного потомства данной популяции деревьев уже в сравнении с другими опытными популяциями. Это свидетельствует о низкой экологической пластичности популяции.

Семенное потомство деревьев, произрастающих на территории г. Воронеж, обладает меньшим размахом вариации по массе семени (от 2 до 6 г). Кривая распределения семенного потомства по массе (рисунок) показывает более широкую зону оптимума в сравнении с территорией около автомагистрали, что может свидетельствовать о большей стабильности популяции [24]. Однако отсутствие вариантов крайних значений может негативно сказаться на устойчивости популяции при резких колебаниях экологических факторов.

Таким образом, наибольшей вариативностью признаков среди потомства обладает семенное потомство деревьев дуба черешчатого, произрастающих в глубине лесного массива в районе трассы Москва - Воронеж. Популяция находится в наиболее оптимальных условиях и является устойчивой к действию экологических факторов, она генерирует семенное потомство с максимальными значениями веса и длины семени.

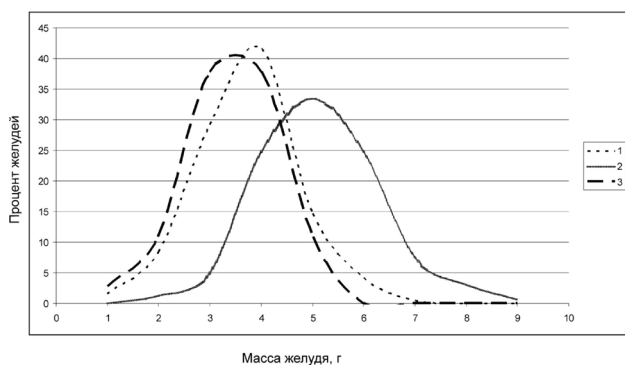


Рис. 1. Распределения желудей, собранных на опытных территориях, по весу (г). Обозначения: 1 - территория около автомагистрали Москва - Воронеж; 2 - территория в глубине лесного массива; 3 - г. Воронеж.

Наименьшей вариабельностью семенного потомства по массе обладает популяция деревьев с территории г. Воронеж. Низкой экологической пластичностью (по данным графика распределения по Гауссу) обладает популяция

деревьев, произрастающих вблизи трассы Москва-Воронеж.

Сеянцы, выращенные из желудей, собранных около автомагистрали, показали низкую ростовую динамику (табл. 4). Снижение параметра 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 снижались 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 неблагоприятные воздействия биотических и абиотических факторов среды.

Таким образом, популяция деревьев, находящаяся в глубине леса, находится в наиболее оптимальных условиях и является устойчивой к действию экологических факторов. Низкой экологической пластичностью (по данным графика распределения по Гауссу) обладают деревья, произрастающие вблизи трассы Москва-Воронеж.

В ходе исследования нами была предпринята попытка выявить связь между цитогенетическими и морфологическими параметрами сеянцев и семян (табл. 5). Было установлено, что проростки с худшими ростовыми показателями появляются из 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 вакуолизованных ядрышек.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вострикова Т.В. Нестабильность цитогенетических показателей и нестабильность генома

Таблица 4

Морфологические параметры роста сеянцев, выращенных из разного семенного материала

Группа проростков	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, выросших из желудей, собранных в глубине лесного массива, достоверны ($P < 0,05$); ** - различия между сеянцами, выросших из желудей, собранных в глубине лесного массива, достоверны ($P < 0,01$); *** - различия между сеянцами, выросших из желудей, собранных в глубине лесного массива, достоверны ($P < 0,001$).

Таблица 5

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

Уровень загрязнения	Цитогенетические показатели проростков	Морфологические показатели сеянцев	Морфологические показатели желудей
Территории, испытывающие значительное антропогенное загрязнение	Низкие значения митотической активности, 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.
Территории, испытывающие слабое антропогенное загрязнение	Митотическая активность незначительно отличается от нормы, 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 массе от 3 до 10 г.

у берёзы повислой / Т.В. Вострикова // Экология. — 2007. — № 2. — С. 88-92.

2. Карпова С.С. Влияние антропогенного загрязнения на цитогенетический полиморфизм семенного потомства берёзы повислой (*Betula pendula* Roth) в естественных и искусственных древостоях: Дис. ... канд. биол. наук / С.С. Карпова. — Воронеж, 2011. — 149 с.

3. Калаев В.Н. Цитогенетические реакции лиственных древесных растений на стрессовые условия и перспективы их использования для оценки генотоксичности окружающей среды: Дис. ... докт. биол. наук / В.Н. Калаев. — Воронеж, 2009. — 414 с.

4. Изменчивость цитологических показателей семян сосны обыкновенной уникального Хреновского бора / А.К. Буторина [и др.] // Генетика. — 2005. — Т. 41, № 6. — С. 778-783.

5. 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.

6. Черкашина О.Н. Цитогенетический мониторинг насаждений сосны обыкновенной в условиях Хреновского и Усманского боров: Автореф. дис. ... канд. биол. наук / Черкашина О.Н. — Во-

ронеж, 2007. — 23 с.

7. Квитко О.В. Цитогенетическая и кариологическая характеристика пихты сибирской (*Abies sibirica* Ledeb.): автореф. дис. ... канд. биол. наук / О.В. Квитко. — Красноярск, 2009. — 19 с.

8. Мазурова И.Э. Цитогенетика лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) в условиях интродукции и антропогенного стресса: автореф. дисс. ... канд. биол. наук / И.Э. Мазурова. — Воронеж, 2009. — 23 с.

9. 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.

10. Использование морфологических характеристик ядрышек клеток корней проростков берёзы повислой для определения степени загрязнения окружающей среды / С.С. Карпова [и др.] // Изв. АН. Сер. биол. — 2006. — № 1. — С. 86-94.

11. Седельникова Т.С. Дифференциация популяций видов семейства Pinaceae в экосистемах лесных болот и суходолов Западной Сибири / Т.С. Седельникова // Сибирский лесной журнал. — 2014. — № 1. — С. 93-103.

12. Перспективы использования цитогенетического анализа в лесоводстве на примере оценки состояния островных боров Воронежской области / А.К. Буторина О.В. [и др.] // Успехи современной биологии. — 2008. — Т. 128, № 4. — С. 400-408.

13. Вострикова Т.В. Область использования цитогенетического метода в лесной генетике и селекции на примере березы повислой / Т.В. Вострикова // Лесное хозяйство. — 2006. — № 1. — С. 30-31.

14. Буторина А.К. Цитогенетическая оценка деревьев дуба черешчатого разных селекционных категорий / А.К. Буторина // Генетика. — 1989б. — Т. 25, № 2. — С. 301-309.

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

16. 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 Виктория Александровна. — Воронеж, 2009. — 24 с.

17. Butorina A. K. Diversity of cytological characteristics in oak under normal conditions / A. K. Butorina, V.N. Kalaev // 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.

18. Буторина А.К. Анализ чувствительности различных критериев цитогенетического мониторинга / А.К. Буторина, В.Н. Калаев // Экология. — 2000. — № 3. — С. 206-210.

19. Алов И.А. Патология митоза (формы патологии, классификация, количественная характеристика) / И.А. Алов // Вестник АМН СССР. — 1965. — № 11. — С. 58-66.

20. Челидзе В.П. Морфофункциональная классификация ядрышек / В.П. Челидзе, О.В. Зацепина // Успехи современной биологии. — 1988. — Т. 105, вып. 2. — С. 252-267.

21. Кулаичев А.П. Методы и средства комплексного анализа данных / А.П. Кулаичев. — М.: ФОРУМ: ИНФА-М, 2006. — 512 с.

22. Калаев В.Н. Цитогенетические показатели семенного потомства деревьев дуба черешчатого (*Quercus robur* L.), подвергшихся воздействию радиоактивности в результате аварии на Чернобыльской АЭС и произрастающих на территориях с разным уровнем антропогенного загрязнения / В.Н. Калаев, В.Г. Артюхов // Радиационная биология. Радиоэкология. — 2005. — Т.45, № 5. — С. 619-628.

23. 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.

24. Бродский А.К. Общая экология: учебник для студентов вузов / А.К. Бродский. — М.: Академия, 2006. — 256 с.

25. Шашурин М.М. Изучение адаптивных возможностей растений в зоне техногенного воздействия / М.М. Шашурин, А.Н. Журавская // Экология. — 2007. — № 2. — С. 93 – 98.

Калаев Владислав Николаевич — докт. биол. наук, проф. кафедры генетики, цитологии и биоинженерии Воронежского государственного университета; e-mail: Dr_Huixs@mail.ru

Попова Анна Александровна — аспирант кафедры генетики, цитологии и биоинженерии Воронежского государственного университета; e-mail: Dr_Huixs@mail.ru

Kalaev Vladislav N. — Doctor of biology, professor of the Department of Genetics, Cytology and Bioengineering, Voronezh State University; e-mail: Dr_Huixs@mail.ru

Popova Anna A — Postgraduate student of the Department of genetics, cytology and Bioengineering, Voronezh State University; e-mail: Dr_Huixs@mail.ru