



УДК 582.475.2/575.2(470.324)

Цитогенетический полиморфизм семенного потомства деревьев ели белой (*Picea glauca* (Moench) Voss) при интродукции в Воронежской области

В. Н. Калаев*, И. В. Игнатова, Е. А. Калаева

Воронежский государственный университет, Университетская пл., 1, г. Воронеж, 394018, Россия.

E-mails: Dr_Huixs@mail.ru, irina777.84@list.ru, kalaevae@gmail.com*

** Автор для переписки*

Ключевые слова: ель белая, микроядро, митотическая активность, остаточное ядрышко, патологии митоза, цитогенетический полиморфизм, ядрышковые характеристики.

Аннотация. Установлен полиморфизм семенного потомства деревьев ели белой (*Picea glauca* (Moench) Voss) по цитогенетическим показателям при интродукции в Воронежской области. На основании полученных результатов выявлены разнонаправленные цитогенетические реакции (изменение митотической активности, времени прохождения клетками стадий митоза, уровня и спектра нарушений митоза) семенного потомства деревьев ели белой при интродукции и определены пределы варьирования характеристик митотического и ядрышкового аппарата. Анализ цитогенетических характеристик у семенного потомства ели выявил высокую гетерогенность семенного потомства. Среди семенного потомства выявлено шесть различных по стабильности генетического материала групп проростков: «мутабельная», «слабомутабельная» и четыре промежуточных. В «мутабельной» группе отмечается высокий уровень патологий митоза и присутствие aberrаций, связанных как с повреждением хромосом, так и с повреждением митотического аппарата и нарушением цитотомии. В данной группе установлена задержка клеток на стадии профазы митоза и обнаружены клетки с микроядрами (0–0,03 %). «Слабомутабельная» группа характеризуется отсутствием патологий митоза, клеток с микроядрами и остаточными ядрышками, низким значением митотического индекса (1,9–2,9 %). Промежуточные группы имеют высокое значение митотического индекса (3,8–4,6 %), промежуточную между «мутабельной» и «слабомутабельной» группами величину уровня патологий митоза (0,9–1,9 %), задержку клеток на стадии метафазы митоза. Нарушения митоза в этих группах обусловлены повреждением хромосом и митотического аппарата. В данных группах наблюдаются клетки с остаточными ядрышками в интерфазе (0–0,02 %) и митозе (0,1–0,7 %) и с микроядрами (0–0,04 %). Количественное преобладание проростков определенной группы у каждого исследуемого дерева свидетельствует о продуцировании семенного потомства, которое можно по совокупности цитогенетических показателей отнести к группе чувствительной или устойчивой к факторам окружающей среды. Полученные данные по цитогенетическому полиморфизму семенного потомства ели белой можно использовать в генетико-селекционных работах для отбора материнских деревьев, продуцирующих семенное потомство с разной стабильностью генетического материала. Также следует учитывать их при проведении цитогенетического мониторинга загрязнения окружающей среды с использованием древесных растений, т. к. наличие мутабельных и слабомутабельных форм среди семенного потомства, а также деревьев, продуцирующих разное количество проростков с высокой и низкой стабильностью генетического материала, может отразиться на получаемых результатах при малых объемах выборок.

Cytogenetic polymorphism of seed progeny of white spruce trees (*Picea glauca* (Moench) Voss) during the introduction in the Voronezh Region

V. N. Kalaev, I. V. Ignatova, E. A. Kalaeva

Voronezh State University, Universitetskaya Pl., 1, Voronezh, 394018, Russian Federation

Keywords: white spruce, micronucleus, mitosis pathologies, mitotic activity, nucleolar characteristics, cytogenetic polymorphism, residual nucleolus.

Summary. The polymorphism of cytogenetic parameters of seed progeny in *Picea glauca* (Moench) Voss introduced in the Voronezh Region was established. Multidirectional cytogenetic reactions (changes in mitotic activity, cell passing times of mitosis stages, level and spectrum of mitosis disorders) of *Picea glauca* seed progeny were identified, and limits of mitotic and nucleolar apparatus characteristics variation were determined. Analysis of cytogenetic characteristics of *Picea glauca* seed progeny revealed their high heterogeneity. Among the seed progeny, six groups of the seedlings, differing in their stability, were identified: “mutable”, “weakly mutable”, and four intermediate groups. In the “mutable” group, there were high level of mitosis pathologies and the presence of pathologies associated with chromosomal damage, mitotic apparatus damage and cytotomy disorders. In this group mitosis delay was established at the prophase stage and cells with micronuclei (0–0.03 %) were detected. The “weakly mutable” group was characterized with the absence of mitosis pathologies, cells with micronuclei and residual nucleoli presence and low value of the mitotic index (1.9–2.9 %). Intermediate groups had high mitotic index (3.8–4.6 %) and the level of mitosis pathologies of (0.9–1.9 %) intermediate between “mutable” and “weakly mutable” groups, cell retention at the stage of metaphase. Disorders of mitosis in these groups were caused by the damages of chromosomes and mitotic apparatus. In these groups, cells with residual nucleoli in the interphase (0–0.02 %) and mitosis (0.1–0.7 %) and with micronuclei (0–0.04 %) were observed. The quantitative predominance of the certain group seedlings in each tree indicates the production of seed progeny, which can be divided on groups according to their cytogenetic indicators as sensitive or resistant to the environmental factors. The data obtained on the cytogenetic polymorphism of the seed progeny of the white spruce can be used in genetic selection works for the selection of maternal trees producing seed progeny with different stability of the genetic material. They should also be taken into account when carrying out cytogenetic monitoring of environmental pollution using woody plants, because the presence of mutable and weakly mutable forms among seed progeny, as well as trees producing different numbers of seedlings with high and low stability of the genetic material, may affect the results obtained with small sample sizes.

Введение

Одной из важнейших задач интродукции является разработка принципов и приемов создания высокопродуктивных насаждений, устойчивых к различным стрессовым факторам. Она может успешно решаться на основе эффективной методологии воспроизводства генетического разнообразия природных популяций вида в его интродукционных насаждениях. Сохранение генетического разнообразия вида при интродукции является непременным условием его выживания, эволюции и последующей эффективной селекции.

Интродукционное семенное потомство имеет самостоятельную ценность для дальнейшей репродукции. Первичный отбор особей может проводиться уже на стадии семян с применением цитогенетических методов (Butorina et al., 2008). Анализ цитогенетического полиморфизма семенного потомства каждого дерева позволяет выяснить генетические особенности материнских деревьев и потомства (Altuhov et al., 1986).

Представляет особый интерес изучение цитогенетических особенностей ели белой (*Picea glauca* (Moench) Voss) при интродукции для разработки рекомендаций по отбору материнских деревьев, продуцирующих устойчивое семенное потомство, для целей ландшафтного дизайна.

Ель белая является интродуцентом в Воронежской области и широко используется в озеленительных мероприятиях. Ранее проводились цитогенетические исследования видов-интродуцентов (*Larix sibirica* Ledeb., *Picea pungens* Engelm.) в условиях антропогенного стресса (Bogdanova, 2009; Mazurova, 2009). У деревьев ели колючей (*Picea pungens*), произрастающих в г. Воронеже, были обнаружены добавочные В-хромосомы, которые обеспечивали адаптивный успех в стрессовых условиях произрастания (интродукция и антропогенное загрязнение). Представители рода ель – *Picea* L. – были широко изучены в условиях Сибири (Muratova et al., 2004; Карпук, Muratova, 2005; Vladimirova et al., 2008; etc.). Т. В. Карпук и Е. Н. Муратова (Карпук, Muratova, 2005) изучили кариотип, число ядрышек и добавочных хромосом у семенного потомства ели Мейера (*Picea meyeri* Rehd. et Wils.) из провинции Шаньси Китая. О. С. Владимирова с соавторами при исследовании пыльцы ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.) в различных экологических условиях установили, что условия произрастания неблагоприятны для деревьев на южной границе ареала (Vladimirova et al., 2008). Р. А. Воробьев и Д. Н. Тебенкова (Vorobyev, Tebenkova, 2013) провели исследование особенностей развития генеративных и вегетативных органов растений-интродуцентов рода ель, произрастающих в ботаниче-

ском саду НИУ «Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского» и дендрологическом комплексе «Явлейка», и выявили наиболее успешно интродуцированные виды (*P. ajanensis* Fisch. ex Carr., *P. koraiensis* Nakai, *P. glehnii* (F. Schmidt) Mast., *P. obovata*), наименее устойчивые в условиях интродукции виды и сорта (*P. mariana* (Mill.) Britton, Sterns et Poggenb., *P. omorica*, *P. asperata* Masters, *P. engelmannii* Parry ex Engelm., *P. canadensis* 'Conica') и виды, относительно устойчивые к неблагоприятным условиям среды, но с неустойчивым циклом сезонного развития (*P. pungens* Engelm., *P. pungens* f. *glauca*, *P. canadensis* (Mill.) Britton, Sterns et Poggenb.). С. А. Ламоткин с соавторами провели изучение содержания эфирного масла у ели канадской (белой) (*Picea glauca*), произрастающей на территориях с разным уровнем загрязнения, и показали, что высокое содержание масла в ассимиляционном аппарате деревьев способствует насыщению атмосферы биологически активными веществами (Lamotkin et al., 2012).

Однако исследований цитогенетического полиморфизма семенного потомства деревьев ели белой в условиях интродукции не проводилось, хотя подобные работы ранее были выполнены на аборигенных видах: березе повислой (*Betula pendula* Roth) (Artyukhov et al., 2009), дубе черешчатом (*Quercus robur* L.) (Kalaev, Popova, 2014b), сосне обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) (Kalaev et al., 2010), и лиственных интродуцентах – рододендроне Ледебура (*Rhododendron ledebourii* Pojark.) (Baranova et al., 2018; Burmenko et al., 2018). Для березы повислой, дуба черешчатого, сосны обыкновенной было доказано наличие «мутабильной», «слабомутабильной» и нескольких промежуточных групп семенного потомства. В условиях высокой антропогенной нагрузки у перечисленных видов снижалось количество промежуточных групп и увеличивалась доля «слабомутабильных» проростков в потомстве. Также было выявлено, что потомство из «мутабильных» групп изученных аборигенных и интродуцированных видов характеризуется более низкими ростовыми показателями по сравнению с проростками из промежуточных и «слабомутабильной» групп.

В связи с вышеизложенным целью нашей работы было выявление индивидуального цитогенетического полиморфизма семенного потомства деревьев ели белой при интродукции.

Материалы и методы

Для изучения цитогенетических характеристик семенного потомства деревьев ели белой, произрастающих в ботаническом саду им. проф. Б. М. Козо-Полянского Воронежского госуниверситета, использовали семена, полученные от 4 деревьев в возрасте 8–10 лет. Три дерева изучали для выявления цитогенетических групп с разной стабильностью генетического материала среди проростков семян. На основании результатов исследования цитогенетических показателей семян одного дерева была сделана попытка апробировать методику оценки продуцируемого семенного потомства по показателю стабильности генетического материала и выявить, какая группа будет преобладать среди проростков. В наших предыдущих исследованиях, проведенных в 2012 г., добавочных В-хромосом в клетках апикальной меристемы проростков этих деревьев ели белой не было обнаружено (Kalaev et al., 2012).

Собранные семена помещали в чашки Петри на влажную фильтровальную бумагу; проращивание производили при комнатной температуре (21–22 °С). Проростки с длиной корешка 0,5–1 см фиксировали в ацетоалкоголе (3 части 96%-го этилового спирта : 1 часть ледяной уксусной кислоты) в 9 ч. утра в декабре.

Для цитологического изучения проростков семенного потомства ели белой готовили постоянные давленные препараты по модифицированной методике У. Уитмена (Wittmann, 1962). Для изучения полиморфизма цитогенетических показателей из корешков проростков семян каждого из деревьев ели изготавливали по 40 препаратов (1 проросток – 1 препарат).

Анализ препаратов проводили на микроскопе Laboval-4 (Carl Zeiss, Jena) при увеличении $40 \times 1,5 \times 10$. Фотографии цитологических феноменов делали с использованием видеоокуляра DCM500 (Shangrao Television Optical Instruments Co., Ltd.). При цитологическом изучении семенного потомства ели белой на каждом препарате учитывали общее количество просмотренных клеток (не менее 1000) с учетом стадий митоза, подсчитывали количество патологических митозов и остаточных ядрышек на стадиях митоза и в интерфазе, число клеток с микроядрами, долю клеток с разным количеством ядрышек в ядре. На основании полученных данных высчитывали

митотическую активность, показателем которой является митотический индекс – отношение числа делящихся клеток к общему количеству проанализированных клеток, вычисляли долю патологических митозов, долю каждого типа нарушений клеточного деления, долю клеток с остаточными ядрышками на стадиях митоза и в интерфазе, частоту встречаемости клеток с микроядрами и среднее количество ядрышек на клетку. Классификацию патологических митозов производили по И. А. Алову (Alov, 1965).

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета статистических программ «Stadia 7.0 Professional» (НПО «Информатика и компьютеры»). Процедура группировки данных и их обработка изложены в работе Е. А. Калаевой с соавт. (Kalaeva et al., 2016). Цитогенетические характеристики ели белой сравнивали по следующим критериям: частоты встречаемости остаточных ядрышек, микроядер и патологических митозов – по непараметрическому X-критерию рангов Ван-дер-Вардена; митотический индекс, доли клеток по стадиям митоза и ядрышковые характеристики – по параметрическому t-критерию Стьюдента. Сравнение долей различных типов патологий митоза проводили с использованием Z-аппроксимации для критерия равенства частот. Для определения корреляционных зависимостей использовали коэффициент корреляции рангов Спирмена (r_s). Влияние фактора материнского дерева или фактора группы определяли с использованием однофакторного параметрического дисперсионного анализа и однофакторного непараметрического анализа Крускала-Уоллеса. Силу влияния вычисляли по Снедекору (%). Кластерный анализ проводили с использованием метрики нормированный Эвклид, стратегия классификации – Уорда. В матрицу данных вносили значения следующих цитогенетических показателей 40 проростков от каждого дерева: митотический индекс (%), доли клеток на стадиях профазы, метафазы, анафазы–телофазы митоза (%), уровень нарушений митоза (%), частота встречаемости клеток с остаточными ядрышками в интерфазе и в митозе (%), частота встречаемости клеток с микроядрами (%), доля клеток с разным числом ядрышек в ядре (%), среднее число ядрышек на клетку. Достоверность разбиения на классы определяли с помощью дискриминантного анализа на основании критерия Махаланобиса. Коэффициент вариации (C_v) определяли по Г. Ф. Лакину (Lakin, 1990): при C_v от 0 до 10 % считали варьирование

признака слабым, при C_v от 11 до 25 % – средним и при C_v более 25 % – значительным.

Результаты и их обсуждение

Цитогенетические характеристики изученных деревьев представлены в таблице 1. Однофакторный дисперсионный анализ показал влияние фактора материнского дерева на митотический индекс (сила влияния 2,5 %; $P < 0,01$), долю клеток на стадии профазы (сила влияния 2,5 %; $P < 0,05$) и метафазы (сила влияния 2,4 %; $P < 0,001$) митоза.

Показатель митотического индекса у семенного потомства деревьев ели белой варьировал от 0,8 % до 8,4 %. Анализ распределения клеток по стадиям митоза выявил задержку клеток в профазе у первого и третьего дерева и в метафазе – у второго дерева. Ранее подобное явление было отмечено для семенного потомства дуба черешчатого (Kalaev et al., 2000).

Уровень нарушений митоза колебался от 0 % до 17,4 %. В клетках апикальной меристемы корня проростков семян деревьев ели белой встречались следующие нарушения митотического цикла: отставание хромосом в метакинезе и анафазе, одиночные и множественные мосты, агглютинация хромосом в метафазе и анафазе, многополюсные митозы, рассеивание хромосом, фрагментация хромосом, преждевременная цитотомия (рис. 1). Такие же нарушения отмечаются многими исследователями у сосны обыкновенной, березы повислой и дуба черешчатого, лиственницы сибирской, произрастающих на различных по степени загрязненности территориях Воронежской области (Artyukhov et al., 2004, 2009; Butorina, Mozgalina, 2004; Butorina et al., 2007; Vostrikova, 2007; Mazurova, 2009; Belousov et al., 2013; Kalaev, Popova, 2014b). В спектре нарушений митоза семенного потомства первого дерева преобладают отставания хромосом в анафазе, у второго и третьего – мосты. Наиболее широким спектром нарушений митоза характеризуется первое дерево. Однако у второго дерева кроме нарушений митоза, связанных с повреждением хромосом и митотического аппарата, было отмечено нарушение цитотомии.

В клетках апикальной меристемы корня проростков семян интродуцированных деревьев ели белой встречались клетки с микроядрами. Они появляются вследствие отставаний хромосом в митозе и протекания многополюсных митозов, а, следовательно, отражают нарушения генети-

ческого аппарата клетки. Присутствие в клетках микроядер свидетельствует о недостаточной работе систем репарации клеток.

В клетках апикальной меристемы корня проростков семян деревьев ели белой обнаруживалось до 10 ядрышек в ядре. Выявлено влияние фактора материнского дерева на долю клеток с 1, 2, 5–8 ядрышками в ядре и на среднее число ядрышек на клетку. Преобладающим числом ядрышек в ядре клеток апикальной меристемы корня проростков семян деревьев ели белой у первого дерева было 3, у второго – 4, у третьего – 5, что соответствует 1–3 парам хромосом с функционирующими ядрышковыми организаторами. Среднее число ядрышек на клетку изменялось от $3,8 \pm 0,1$ до $4,3 \pm 0,1$.

У первого дерева наблюдалось увеличение доли клеток с 1–3 ядрышками в ядре и снижение доли клеток с 4–9 ядрышками, у двух других исследуемых деревьев – обратная тенденция. Низкое количество ядрышек в интерфазных клетках проростков семян первого дерева ели белой свидетельствует об угнетении процессов биосинтеза белков в клетке. По мнению Е. Н. Муратовой и Т. С. Седельниковой (Muratova, Sedelnikova, 1999), активация ядрышковых организаторов является ответом древесных растений на стрессовые условия произрастания, к которым относит-

ся интродукция. Увеличение числа клеток с 5–8 ядрышками у проростков говорит о повышении активности рибосомальных цистронов, что является реакцией на стресс.

В клетках апикальной меристемы корня проростков семян деревьев ели белой при интродукции отмечались остаточные ядрышки в интерфазных клетках, а также на отдельных стадиях митоза.

У первого дерева наблюдались остаточные ядрышки в интерфазе, метафазе и ана-телофазе, у второго дерева – только в метафазе митоза, у третьего – в интерфазе и ана-телофазе. Присутствие остаточных ядрышек свидетельствует об увеличении активности рибосомальных цистронов, которое чаще всего связано с повышенной стрессовой нагрузкой (Butorina, 1989). Остаточные ядрышки на стадии метафазы, анафазы, телофазы и на стадии интерфазы митоза ранее были зафиксированы у сосны обыкновенной, произрастающей в районе Нововоронежской АЭС (Artyukhov et al., 2004).

Высокие значения коэффициентов вариации митотической активности, уровня патологических митозов говорят о генетической неоднородности по стабильности генетического материала и о присутствии форм, продуцирующих устойчивое и неустойчивое семенное потомство.

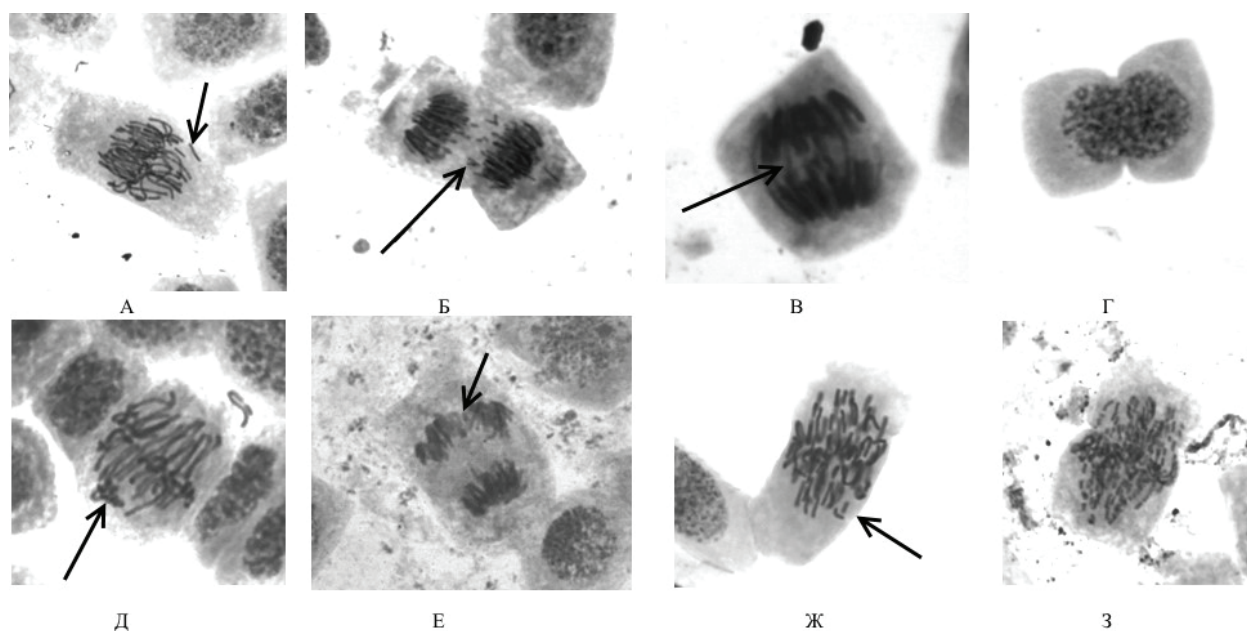


Рис. 1. Нарушения митоза, обнаруженные в клетках апикальной меристемы корня проростков семян деревьев *Picea glauca*, произрастающих в ботаническом саду им. проф. Б. М. Козо-Полянского Воронежского государственного университета: А – отставание хромосом в метакинезе, Б – отставание хромосом в анафазе, В – мосты в анафазе, Г – преждевременная цитотомия; Д – агглютинация в метафазе, Е – многополюсный митоз, Ж – рассеивание хромосом в метафазе, З – фрагментация хромосом.

Таблица 1
Цитогенетические показатели семенного потомства деревьев *Picea glauca*, произрастающих в ботаническом саду им. проф. Б. М. Козо-Полянского Воронежского государственного университета

Цитогенетические показатели	Дерево № 1		Дерево № 2		Дерево № 3	
	Среднее значение	Коэффициент вариации	Среднее значение	Коэффициент вариации	Среднее значение	Коэффициент вариации
Митотический индекс, %	4,2 ± 0,3	49,5	3,9 ± 0,3	44,8	3,02 ± 0,2**a	36,8
Уровень патологий митоза, %	1,3 ± 0,4	184,0	2,3 ± 0,7	180,6	2,3 ± 0,6	167,9
Доля клеток на стадии профазы митоза, %	44,0 ± 3,1	43,8	33,2 ± 2,6**	49,2	39,93 ± 2,0 ^a	32,1
Доля клеток на стадии метафазы митоза, %	31,1 ± 1,8	37,1	41,5 ± 1,9***	29,2	38,0 ± 1,7**	28,2
Доля клеток на стадии анафазы–телофазы митоза, %	24,7 ± 1,9	49,3	25,32 ± 1,7	41,5	22,3 ± 1,4	40,0
Доля клеток с п ядрышками в ядре, %						
n = 1	6,2 ± 0,9	90,2	3,9 ± 1,0	168,5	1,8 ± 0,4***	144,3
n = 2	18,1 ± 1,4	47,4	13,4 ± 1,8*	84,9	11,3 ± 1,1***	62,4
n = 3	22,8 ± 1,2	33,2	20,2 ± 1,3	39,4	19,2 ± 1,3*	42,1
n = 4	21,4 ± 1,0	29,2	23,45 ± 1,3	33,6	22,3 ± 1,1	31,7
n = 5	16,7 ± 1,0	38,2	19,5 ± 1,4	44,1	22,6 ± 1,1***	32,0
n = 6	9,1 ± 0,9	59,0	13,07 ± 1,2**	59,3	14,4 ± 1,1***	50,3
n = 7	3,7 ± 0,5	89,5	5,3 ± 0,8	93,4	5,8 ± 0,7*	72,9
n = 8	1,6 ± 0,3	129,6	1,0 ± 0,2	148,1	2,4 ± 0,6 ^a	153,8
n = 9	0,3 ± 0,1	240,6	0,2 ± 0,1	266,7	0,2 ± 0,1	295,7
n = 10	0,17 ± 0,1	366,7	0	0	0	0
Среднее число ядрышек на клетку	3,8 ± 0,1	14,9	4,2 ± 0,2*	23,8	4,3 ± 0,08***	11,4
Частота встречаемости остаточных ядрышек в интерфазе, %	0,005 ± 0,005	600,0	0	361,3	0,002 ± 0,01	300,0
Частота встречаемости остаточных ядрышек в митозе, %	0,3 ± 0,2	376,7	0,3 ± 0,2	0	0,1 ± 0,1	646,2
Частота встречаемости клеток с микроядрами, %	0,01 ± 0,004	400,0	0,02 ± 0,01	250,0	0,03 ± 0,02	333,3

Примеч.: * – различие с показателем дерева № 1 достоверно ($P < 0,05$), ** – различие с показателем дерева № 1 достоверно ($P < 0,01$), *** – различие с показателем дерева № 1 достоверно ($P < 0,001$), ^a – различие с показателем дерева № 2 достоверно ($P < 0,05$), ^b – различие с показателем дерева № 2 достоверно ($P < 0,01$).

В 2001 г. А. К. Буториной и Е. В. Богдановой (Butorina, Bogdanova, 2001) в центре г. Воронежа, испытывающего значительное антропогенное загрязнение, были обнаружены деревья *Picea pungens* с добавочными хромосомами и была показана связь В-хромосомы с адаптацией к неблагоприятным условиям, обусловленным загрязнением территории выхлопными газами автотранспорта. Настоящее исследование проводили на территории ботанического сада им. проф. Б. М. Козо-Полянского Воронежского госуниверситета, а это – относительно чистая территория: рас-

стояние между центром города и ботаническим садом составляет порядка 10 км, промышленные предприятия расположены в других районах Воронежа. Возможно, что добавочные хромосомы появляются в клетках растений как реакция на неблагоприятные воздействия среды, но для решения данного вопроса требуется провести отдельное исследование.

Кластерный анализ позволил выделить у каждого материнского дерева 6 групп проростков (рис. 2–4). В таблицах 2 и 3 представлены их цитогенетические характеристики.

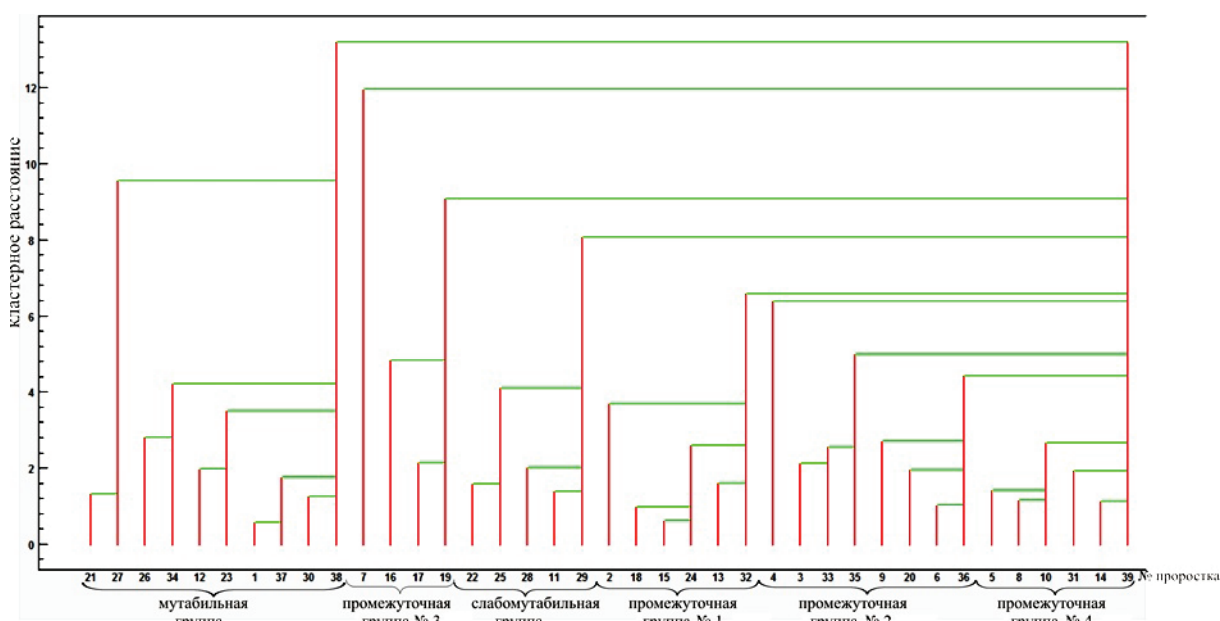


Рис. 2. Дендрограмма кластерных расстояний между проростками дерева № 1 *Picea glauca*, произрастающего в ботаническом саду им. проф. Б. М. Козо-Полянского Воронежского госуниверситета, построенная по их цитогенетическим показателям.

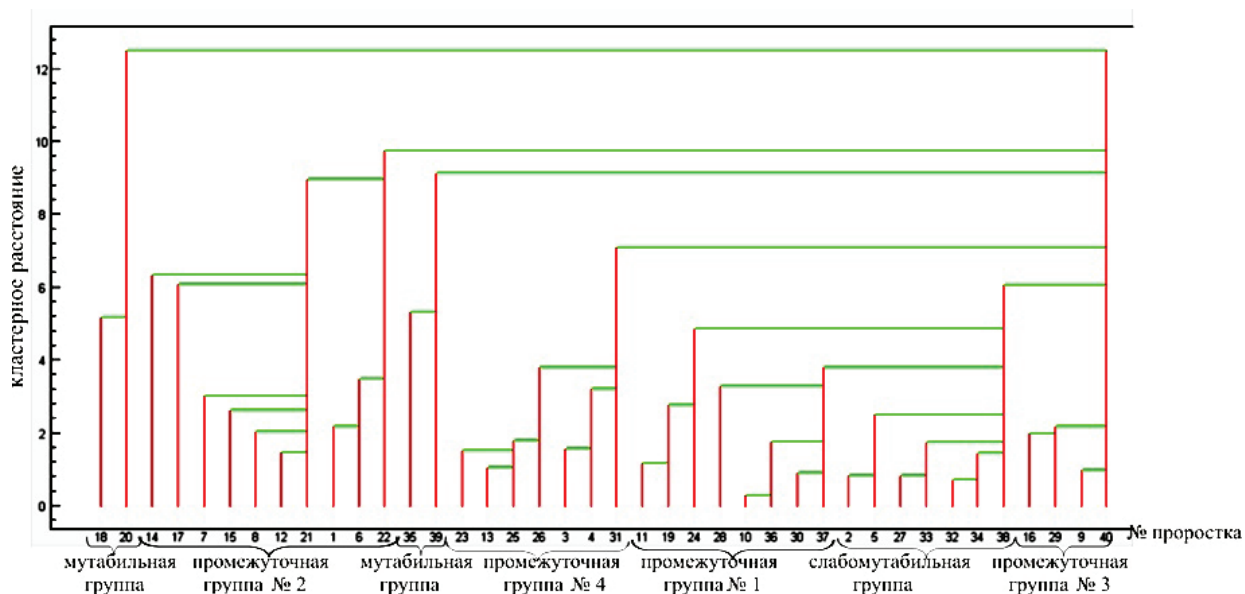


Рис. 3. Дендрограмма кластерных расстояний между проростками дерева № 2 *Picea glauca*, произрастающего в ботаническом саду им. проф. Б. М. Козо-Полянского Воронежского госуниверситета, построенная по их цитогенетическим показателям.

Характеристика цитогенетических показателей «мутабильной» и «слабомутабильной» групп *Picea glauca*
Таблица 2

Цитогенетические показатели	«Мутабильная» группа			«Слабомутабильная» группа		
	Дерево № 1	Дерево № 2	Дерево № 3	Дерево № 1	Дерево № 2	Дерево № 3
Митотический индекс, %	2,9 ± 0,3	1,9 ± 0,8	2,9 ± 0,2	1,9 ± 0,4	3,5 ± 0,1**	2,1 ± 0,3 ^б
Уровень патологий митоза, %	2,6 ± 1,2	9,3 ± 4,3	8,5 ± 1,7*	0	0	0
Доля клеток на стадии профазы митоза, %	68,2 ± 3,1	49,2 ± 17,1	50,0 ± 3,0***	23,7 ± 5,6	36,3 ± 2,1*	54,1 ± 3,6** ^б
Доля клеток на стадии метафазы митоза, %	23,2 ± 1,5	22,9 ± 7,9	31,0 ± 3,6	38,5 ± 4,6	37,4 ± 2,0	30,2 ± 3,5
Доля клеток на стадии анафазы–телофазы митоза, %	8,6 ± 2,4	27,9 ± 13,0	19,1 ± 2,0**	37,8 ± 2,5	26,2 ± 2,2**	15,7 ± 3,5*** ^а
Частота встречаемости клеток с микроядрами, %	0	0,1 ± 0,1	0 ^а	0	0	0
Число клеток с п ядрышками в ядре						
n = 1	6,3 ± 2,1	2,1 ± 0,9*	0,8 ± 0,5*	3,6 ± 1,2	3,0 ± 0,9	1,4 ± 0,9
n = 2	12,7 ± 1,7	21,5 ± 5,5	6,9 ± 1,1* ^а	11,7 ± 3,8	16,3 ± 4,8	8,5 ± 3,0
n = 3	21,0 ± 3,0	23,9 ± 6,1	12,6 ± 2,4*	15,8 ± 2,6	25,7 ± 3,1*	25,3 ± 3,1*
n = 4	22,0 ± 1,9	23,9 ± 4,6	23,0 ± 1,5	22,2 ± 2,5	24,8 ± 3,4	22,8 ± 3,2
n = 5	18,8 ± 2,2	11,9 ± 2,8*	24,5 ± 2,3* ^б	21,6 ± 2,1	13,3 ± 2,9*	21,8 ± 4,0
n = 6	12,4 ± 1,6	10,1 ± 3,6	19,7 ± 3,0* ^а	13,4 ± 2,9	12,9 ± 3,7	12,0 ± 3,6
n = 7	4,0 ± 0,7	4,5 ± 2,9	7,4 ± 0,6**	7,7 ± 2,5	3,6 ± 1,5	5,5 ± 1,5
n = 8	2,1 ± 0,8	1,9 ± 1,3	4,7 ± 1,8	3,4 ± 1,7	0,3 ± 0,3	2,8 ± 1,7
n = 9	0,5 ± 0,3	0	0,4 ± 0,3	0,6 ± 0,4	0	0
n = 10	0,2 ± 0,2	0	0	4,34 ± 0,30	3,83 ± 0,25	4,24 ± 0,1
Среднее число ядрышек на клетку	4,03 ± 0,14	3,80 ± 0,39	4,80 ± 0,16*** ^а	0	0	0
Частота встречаемости остаточных ядрышек в интерфазе, %	0	0	0	0	0	0
Частота встречаемости остаточных ядрышек в митозе, %	0	0	0	0	0	0

Примеч.: * – различия с показателем для первого дерева достоверны ($P < 0,05$), ** – различия с показателем для первого дерева достоверны ($P < 0,01$), *** – различия с показателем для первого дерева достоверны ($P < 0,001$); ^а – различия с показателем для второго дерева достоверны ($P < 0,05$), ^б – различия с показателем для второго дерева достоверны ($P < 0,01$).

Таблица 3

Характеристика цитогенетических показателей промежуточных групп *Picea glauca*

Цитогенетические показатели	Промежуточная группа № 1			Промежуточная группа № 2			Промежуточная группа № 3			Промежуточная группа № 4		
	Дерево № 1	Дерево № 2	Дерево № 3	Дерево № 1	Дерево № 2	Дерево № 3	Дерево № 1	Дерево № 2	Дерево № 3	Дерево № 1	Дерево № 2	Дерево № 3
Митотический индекс, %	7,2 ± 0,4	4,4 ± 0,2***	1,7 ± 0,3***b	4,4 ± 0,4	6,1 ± 0,4**	4,3 ± 0,2 ^b	5,1 ± 1,5	2,6 ± 0,5	2,8 ± 0,3	4,2 ± 0,5	2,4 ± 0,2**	2,9 ± 0,2*
Митотический индекс, %	3,7 ± 0,3	3,1 ± 0,2	1,3 ± 0,2***b	2,7 ± 0,3	4,2 ± 0,3**	2,6 ± 0,2 ^b	3,6 ± 1,1	1,1 ± 0,2*	1,9 ± 0,2 ^a	2,5 ± 0,2	2,0 ± 0,2	2,0 ± 0,1
Уровень патологий митоза, подсчитанный с учетом клеток на стадии профазы митоза, %	2,3 ± 0,6	2,8 ± 1,4	2,3 ± 2,3	0,9 ± 0,6	2,4 ± 0,8	1,2 ± 0,6	0,5 ± 0,5	0,6 ± 0,6	1,0 ± 1,0	0,2 ± 0,2	0,9 ± 0,9	1,1 ± 0,7
Уровень патологий митоза, подсчитанный без учета клеток на стадии профазы митоза, %	4,6 ± 1,1	3,9 ± 2,0	2,9 ± 2,9	1,6 ± 1,2	3,8 ± 1,2	2,1 ± 1,2	0,6 ± 0,6	1,5 ± 1,5	1,7 ± 1,7	0,5 ± 0,5	1,1 ± 1,1	1,5 ± 1,0
Доля клеток на стадии профазы митоза, %	48,0 ± 4,0	30,5 ± 2,4**	23,1 ± 1,5***a	36,8 ± 4,8	30,8 ± 2,7	39,4 ± 2,7	26,5 ± 6,9	54,8 ± 2,1**	34,3 ± 3,9 ^b	37,8 ± 3,7	15,1 ± 2,5***	29,5 ± 2,6* ^b
Доля клеток на стадии метафазы митоза, %	23,0 ± 0,8	45,7 ± 1,1***	41,8 ± 3,3***	36,5 ± 4,5	42,9 ± 2,9	34,8 ± 2,0	44,3 ± 9,1	31,3 ± 3,5	46,3 ± 1,3	30,4 ± 1,4	55,2 ± 3,1***	50,9 ± 3,2***
Доля клеток на стадии анафазы–телофазы митоза, %	29,0 ± 3,9	23,8 ± 1,8	35,2 ± 2,3 ^b	26,8 ± 2,1	26,3 ± 2,5	25,8 ± 2,2	29,3 ± 2,2	13,9 ± 2,7**	21,4 ± 5,3	30,2 ± 3,5	29,8 ± 3,5	19,6 ± 2,5* ^a
Частота встречаемости клеток с микроядрами, %	0	0,02 ± 0,02	0	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,02	0,1 ± 0,05	0,02 ± 0,02	0	0	0	0	0,01 ± 0,01
Число клеток с п ядрышками в ядре												
n = 1	4,6 ± 1,2	1,2 ± 0,5*	2,5 ± 1,6	11,3 ± 2,4	6,0 ± 3,2	2,0 ± 2,5**	3,6 ± 1,7	8,9 ± 5,8	1,8 ± 1,5	4,8 ± 1,3	3,0 ± 1,6	2,2 ± 1,6
n = 2	19,1 ± 2,5	9,7 ± 1,3**	11,3 ± 3,2*	27,2 ± 3,5	16,3 ± 4,4*	14,4 ± 1,8**	22,3 ± 1,8	11,9 ± 8,2	13,5 ± 3,4	16,8 ± 1,6	6,7 ± 2,4**	12,5 ± 3,6
n = 3	22,2 ± 2,2	18,3 ± 2,7	16,7 ± 4,4	26,5 ± 2,7	18,2 ± 2,0*	20,5 ± 1,9*	26,1 ± 3,4	18,8 ± 2,9	15,8 ± 3,4*	25,3 ± 1,5	18,1 ± 3,1	20,9 ± 3,3
n = 4	23,3 ± 2,7	25,5 ± 1,8	26,1 ± 3,4	17,5 ± 2,2	20,0 ± 3,0	22,4 ± 2,5	20,8 ± 1,9	21,1 ± 2,3	20,6 ± 2,7	23,2 ± 3,1	25,5 ± 3,1	19,8 ± 2,9
n = 5	15,7 ± 2,3	21,9 ± 2,9	19,5 ± 4,7	10,4 ± 2,0	27,9 ± 3,0**	22,4 ± 1,6***	18,5 ± 2,2	19,7 ± 4,7	25,6 ± 3,9	17,0 ± 1,2	23,2 ± 2,0*	22,1 ± 2,8

Таблица 3 (окончание)

Цитогенетические показатели	Промежуточная группа № 1			Промежуточная группа № 2			Промежуточная группа № 3			Промежуточная группа № 4		
	Дерево № 1	Дерево № 2	Дерево № 3	Дерево № 1	Дерево № 2	Дерево № 3	Дерево № 1	Дерево № 2	Дерево № 3	Дерево № 1	Дерево № 2	Дерево № 3
$n = 6$	9,6 ± 1,3	15,4 ± 2,1	15,6 ± 3,6	4,6 ± 1,3	12,0 ± 1,7**	12,5 ± 1,6***	4,8 ± 2,3	13,0 ± 3,8	15,4 ± 4,2*	8,4 ± 1,4	13,6 ± 4,4	13,0 ± 1,9
$n = 7$	3,1 ± 1,0	7,1 ± 2,0	4,4 ± 2,6	1,5 ± 1,0	4,1 ± 1,1	4,7 ± 1,3	3,2 ± 1,7	6,1 ± 2,1	6,4 ± 2,2	4,0 ± 0,7	6,8 ± 2,7	6,7 ± 2,3
$n = 8$	1,4 ± 0,4	0,7 ± 0,3	3,1 ± 2,4	0,6 ± 0,5	1,1 ± 0,4	0,6 ± 0,3	0,7 ± 0,7	0,2 ± 0,2	0,9 ± 0,6	1,4 ± 0,3	2,0 ± 0,9	2,8 ± 1,5
$n = 9$	0,5 ± 0,5	0	0,8 ± 0,8	0,2 ± 0,2	0,2 ± 0,2	0,3 ± 0,2	0	0,2 ± 0,2	0	0	0,9 ± 0,4	0
$n = 10$	0,5 ± 0,5	0	0	0,2 ± 0,2	0	0	3,45 ± 0,10	4,22 ± 0,28*	4,30 ± 0,19**	3,78 ± 0,09	5,80 ± 4,46	4,27 ± 0,23
Среднее число ядрышек на клетку	3,82 ± 0,14	4,35 ± 0,14*	4,30 ± 0,27	3,11 ± 0,16	4,30 ± 0,54*	4,05 ± 0,13***	0,05 ± 0,05	0	0,1 ± 0,1 ^a	0	0	0
Частота встречаемости остаточных ядрышек в интерфазе, %	0	0	0,02 ± 0,02	0	0	0	2,9 ± 1,2	0	1,3 ± 1,3	0	0	0
Частота встречаемости остаточных ядрышек в митозе, %	0	0	0	0	1,2 ± 0,6	0 ^a	0	0	0	0	0	0

Примеч.: * – различия с показателем для первого дерева достоверны ($P < 0,05$), ** – различия с показателем для первого дерева достоверны ($P < 0,01$), *** – различия с показателем для первого дерева достоверны ($P < 0,001$), ^a – различия с показателем для второго дерева достоверны ($P < 0,05$), ^b – различия с показателем для второго дерева достоверны ($P < 0,01$).

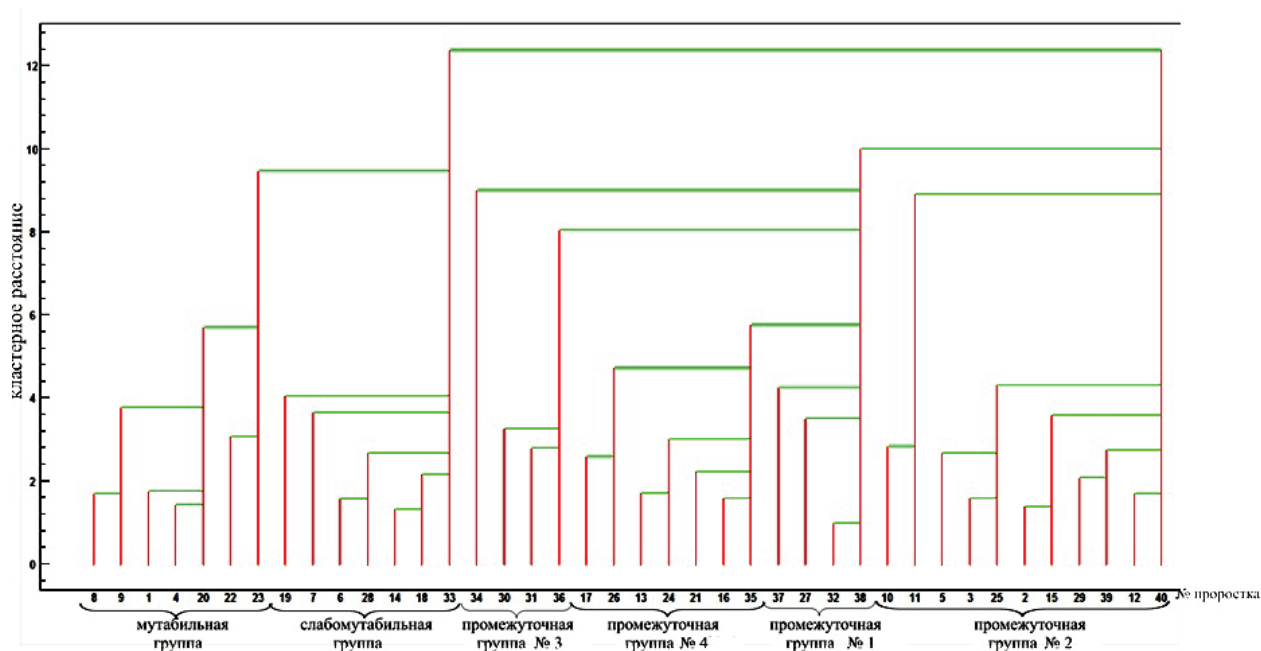


Рис. 4. Дендрограмма кластерных расстояний между проростками дерева № 3 *Picea glauca*, произрастающего в ботаническом саду им. проф. Б. М. Козо-Полянского Воронежского госуниверситета, построенная по их цитогенетическим показателям.

Для каждого дерева были выделены две группы проростков, характеризующиеся повышенной и пониженной по сравнению с другими группами частотой встречаемости патологических митозов. Различия между двумя крайними группами по данному показателю для каждого дерева достоверны ($P < 0,05$). Группу с наибольшим количеством нарушений можно рассматривать как «мутабельную», тогда как группу с низкими значениями аномальных митозов можно считать «слабомутабельной». Остальные группы проростков характеризуются промежуточными значениями уровня патологических митозов, поэтому их назвали: промежуточная группа № 1, промежуточная группа № 2, промежуточная группа № 3, промежуточная группа № 4. Распределение промежуточных групп проводили по уменьшению частоты нарушений митоза. Различия по показателю частоты встречаемости патологических митозов между указанными промежуточными группами, а также с «мутабельной» и «слабомутабельной» группами отмечались не всегда. Каждая из выделенных групп характеризовалась специфическими корреляционными связями между изученными цитогенетическими показателями. Наибольшее их число установлено в «слабомутабельной» группе, а в промежуточной группе № 3 они отсутствовали (рис. 5).

В «мутабельной» группе с использованием дисперсионного анализа было выявлено влияние

фактора материнского дерева на митотический индекс, уровень патологических митозов, долю клеток на стадии профазы и анафазы–телофазы митоза, частоту встречаемости клеток с микроядрами, долю клеток с 1–3, 5–7 ядрышек в ядре и среднее число ядрышек в ядре у его семенного потомства (табл. 4).

Для проростков данной группы характерно высокое значение уровня патологий митоза и широкий спектр нарушений по сравнению с остальными группами.

В спектре патологий митоза у всех исследуемых деревьев отмечается отставание хромосом в метакинезе. «Мутабельная» группа первого и третьего дерева характеризуется широким спектром нарушений митоза по сравнению с остальными группами. В данной группе отмечаются нарушения, которые отсутствуют в других группах. Например, у первого дерева в «мутабельной» группе отмечаются следующие нарушения: рассеивание хромосом в метафазе (20,0 %), многополюсный митоз (20,0 %); у второго дерева – преждевременная цитотомия (11,2 %), агглютинация хромосом в метафазе (11,2 %); у третьего дерева – многополюсный митоз (8,3 %) и фрагментация хромосом (8,3 %).

В промежуточной группе № 1 с использованием дисперсионного анализа установлено влияние фактора материнского дерева на митотический индекс, долю клеток на разных стадиях

митоза, долю клеток с 1, 2 ядрышками в ядре и среднее число ядрышек в ядре (табл. 4). В спектре патологий митоза промежуточной группы № 1 у всех деревьев присутствует отставание хромосом в метакинезе и анафазе. Кроме того, у первого дерева отмечен многополюсный митоз, а у второго – мосты и агглютинация хромосом.

Однофакторный дисперсионный анализ в промежуточной группе № 2 показал влияние фактора материнского дерева на митотический индекс, частоту встречаемости клеток с остаточными ядрышками на стадиях метафазы, анафазы–телофазы митоза, долю клеток с 1–3 и 5, 6 ядрышками в ядре и среднее число ядрышек на клетку (табл. 4).

В спектре нарушений в промежуточной группе № 2 преобладали мосты. Кроме того, у первого дерева встречалось отставание хромосом в анафазе, а у второго дерева – отставание хромосом в метакинезе и многополюсный митоз.

В промежуточной группе № 3 установлено влияние фактора материнского дерева на митотический индекс, долю клеток на стадиях профазы и анафазы–телофазы митоза, долю клеток с 3 и 6 ядрышками в ядре, среднее число ядрышек в

ядре и долю клеток с остаточными ядрышками в интерфазе (табл. 4). В данной группе проростков для каждого дерева отмечались специфические нарушения митоза: для первого дерева – мосты; для второго – отставание хромосом в анафазе и многополюсный митоз; для третьего – отставание хромосом в метакинезе.

У проростков семян в промежуточной группе № 4 с помощью однофакторного дисперсионного анализа было установлено влияние материнского дерева на митотический индекс, долю клеток на всех стадиях митоза, долю клеток с 2, 5 и 9 ядрышками в ядре (табл. 4). Спектры нарушений митоза у разных деревьев в данной группе проростков отличались: у первого дерева преобладала агглютинация хромосом, у второго – отставание хромосом в метакинезе, у третьего – отставание хромосом в метакинезе и мосты.

В «слабомутабельной» группе с использованием дисперсионного анализа установлено влияние фактора материнского дерева на митотический индекс, долю клеток на стадиях профазы и ана-телофазы митоза, долю клеток с 3, 5 и 9 ядрышками в ядре (табл. 4).

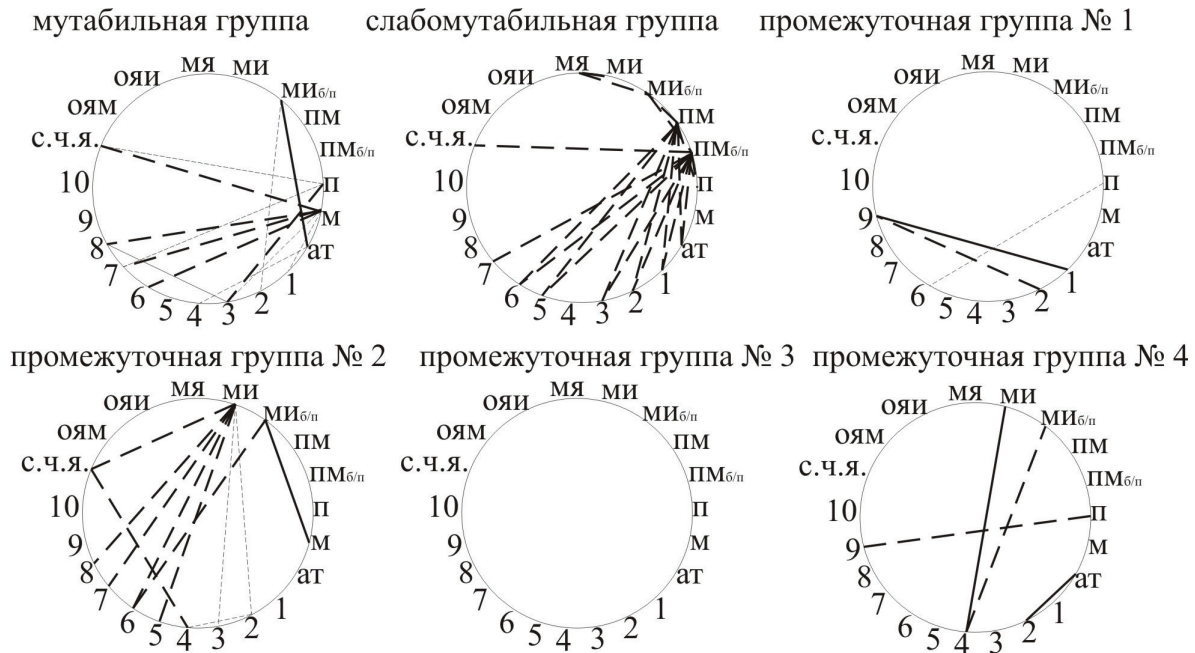


Рис. 5. Корреляционные связи между цитогенетическими показателями у семенного потомства деревьев *Picea glauca*, произрастающих в ботаническом саду им. проф. Б. М. Козо-Полянского Воронежского госуниверситета, в группах, отличающихся по стабильности генетического материала. Обозначения: МИ – уровень митотической активности, подсчитанный с учетом профазных клеток; МИб/п – уровень митотической активности, подсчитанный без учета профазных клеток; ПМ – уровень патологий митоза, подсчитанный с учетом профазных клеток; ПМб/п – уровень патологий митоза, подсчитанный без учета профазных клеток; П – доля клеток на стадии профазы митоза; М – доля клеток на стадии метафазы митоза; А–Т – доля клеток на стадии анафазы–телофазы митоза; С. Ч. Я. – среднее число ядрышек на клетку; 1–10 – количество клеток с 1–10 ядрышками в ядре, ОЯИ – частота встречаемости клеток с остаточными ядрышками в интерфазе, ОЯМ – частота встречаемости остаточных ядрышек в митозе, МЯ – частота встречаемости клеток с микроядрами.

Таблица 4
Сила влияния фактора материнского дерева на цитогенетические показатели в выделенных группах семенного потомства деревьев *Picea glauca*, произрастающих в богатическом саду им. проф. Б. М. Козо-Полянского Воронежского государственного университета

Цитогенетические показатели	Мутабильная группа	Промежуточная группа № 1	Промежуточная группа № 2	Промежуточная группа № 3	Промежуточная группа № 4	Слабомутабильная группа
Митотический индекс, %	0	16,2**в	3,3**б	0	0,9**а	1,9**б
Уровень патологий митоза, %	9,9*а	0	0	0	0	0
Доля клеток на стадии профазы митоза, %	10,7*а	10,5**б	0	15,9**б	7,9***б	9,7***б
Доля клеток на стадии метафазы митоза, %	0	16,2**б	0	0	10,7***б	0
Доля клеток на стадии анафазы–телофазы митоза, %	9,8*а	10,0*а	0	0,6*а	10,3*а	7,4***б
Частота встречаемости клеток с микроядрами, %	5,6*а	0	0	0	0	0
Число клеток с п ядрышками в ядре						
n = 1	11,5*а	10,9*	8,5*б	0	0	0
n = 2	3,3***а	4*а	8,6*а	0	11,1*а	0
n = 3	12,2*а	0	8,9*а	11,8*а	0	11,9*а
n = 4	0	0	0	0	0	0
n = 5	7,9*а	0	4,9**б	0	13,2*а	13,4*а
n = 6	10,1*а	0	6,1**б	13,6*а	0	0
n = 7	11,5*а	0	0	0	0	0
n = 8	0	0	0	0	0	0
n = 9	0	0	0	0	10,3*а	11,3*а
n = 10	0	11,8*а	9,3*а	4,5*а	0	0
Среднее число ядрышек на клетку	4**а	0	0	4,3*а	0	0
Частота встречаемости остаточных ядрышек в интерфазе, %	0	0	9,0*а	0	0	0
Частота встречаемости остаточных ядрышек в митозе, %	0	0	0	0	0	0

Примеч.: * – влияние фактора материнского дерева достоверно ($P < 0,05$); ** – влияние фактора материнского дерева достоверно ($P < 0,01$); а – влияние фактора материнского дерева по результатам непараметрического дисперсионного анализа Крускала-Уоллеса достоверно ($P < 0,05$).

Наибольшее количество проростков у первого дерева было отнесено к «мутабильной» группе, у второго и третьего – к промежуточной группе № 2 (рис. 6).

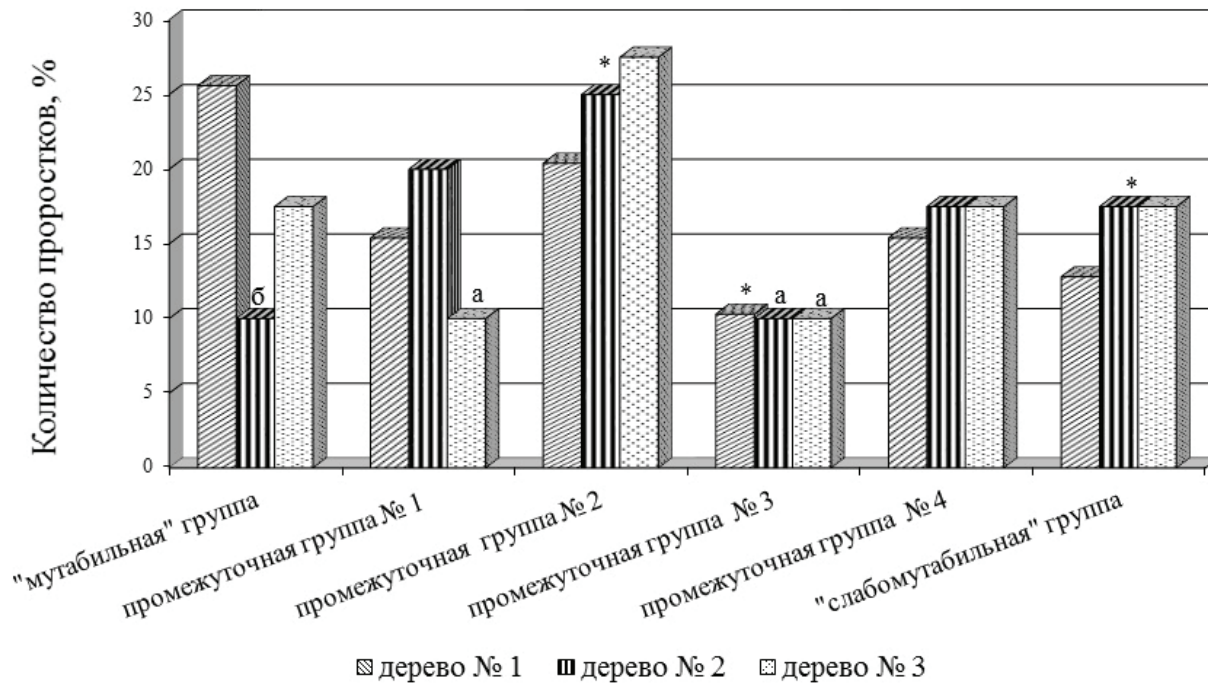


Рис. 6. Распределение проростков *Picea glauca* по группам. Обозначения: * – различие с «мутабильной» группой достоверно ($P < 0,05$); а – различие с промежуточной № 2 группой достоверно ($P < 0,05$); б – различие с «мутабильной» группой первого дерева достоверно ($P < 0,05$).

Наименьшее количество проростков у первого дерева было отнесено к промежуточной группе № 3, у второго – к «мутабильной» и промежуточной группе № 3, у третьего – к промежуточным группам № № 1 и 3.

Результаты проведенного исследования показали, что первое дерево продуцирует в основном мутабильное потомство, которое можно использовать для отбора мутантных генотипов.

На основании полученных результатов можно установить основные критерии выделения групп проростков при изучении полиморфизма цитогенетических показателей семенного потомства ели белой, которые представлены в таблице 5.

В целом, несмотря на качественное сходство в варьировании цитогенетических показателей у семенного потомства каждого дерева, которое заключается в формировании «мутабильной», «слабомутабильной» и «промежуточных» групп, наблюдаются количественные различия между материнскими деревьями по продуцированию семян указанных групп.

Полученные данные о качественном и количественном полиморфизме цитогенетических характеристик могут быть использованы для разработки рекомендаций по отбору «мутабиль-

ного» и «слабомутабильного» семенного потомства для лесной селекции.

Результаты наших исследований согласуются с данными, которые были получены при изучении цитогенетического полиморфизма березы повислой, дуба черешчатого и сосны обыкновенной (Artyukhov et al., 2009; Kalaev et al., 2010; Kalaev, 2014). Было установлено, что «мутабильная» группа отличается высокими значениями и широким спектром патологий митоза. Промежуточные группы характеризуются средними значениями цитогенетических характеристик. У березы повислой и сосны обыкновенной было выделено 4 группы проростков (по 1 «слабомутабильной» и «мутабильной» и 2 промежуточные) (Artyukhov et al., 2009; Kalaev et al., 2010). В. Н. Калаевым и А. А. Поповой (Kalaev, Ророва, 2014b) у дуба черешчатого обнаружено 4 группы на загрязненной территории (1 «слабомутабильная», 1 «мутабильная» и 2 промежуточные) и 3 группы («мутабильная», «слабомутабильная» и промежуточная) – на экологически чистой. На чистой территории отмечали преобладание группы «мутабильных» проростков у березы (25–40 % от общего числа проростков), «слабомутабильных» – у сосны (26,7 % от общего числа

проростков) и промежуточных – у дуба (до 65 % от общего числа проростков). На загрязненных территориях в популяциях сосны обыкновенной и дуба черешчатого преобладала группа «мутабельных» проростков (до 33 % и 50 % от общего числа проростков соответственно), у березы повислой – «слабомутабельных» (27–30 % от общего числа проростков). Е. В. Сенькевич (Sen'kevich, 2007) было высказано предположение, что на территории, подвергшейся незначительному загрязнению, выживает большее количество чувствительных (мутабельных) к не-

благоприятным факторам среды проростков по сравнению с сильнозагрязненной территорией. На сильнозагрязненной территории преимущественно обладают особи из «слабомутабельной» группы. На слабозагрязненных участках незначительный стресс не вызывает гибели организма на стадии зиготы, но происходит нарушение генетического гомеостаза в соматических клетках у большего количества потенциально чувствительных проростков, поэтому доля истинно резистентных проростков снижается.

Таблица 5

Сравнительная характеристика выделенных групп проростков при изучении полиморфизма цитогенетических показателей семенного потомства *Picea glauca*

Группа проростков Показатели	Пределы изменчивости, %		
	«Мутабельная» группа	Промежуточная группа	«Слабомутабельная» группа
Митотический индекс, %	2,1–3,1	3,8–4,6	1,9–2,9
Уровень патологических митозов, подсчитанный, %	8,4–22,2	1,5–3,1	0
Спектр патологических митозов	Присутствуют патологии, связанные с повреждением хромосом, митотического аппарата и нарушения цитотомии	Присутствие нарушений, связанных с повреждением хромосом и митотического аппарата	Отсутствуют
Доля клеток на стадии профазы митоза, %	46,4–65,2	30,4–36,2	36,8–38,4
Доля клеток на стадии метафазы митоза, %	19,9–29,3	37,1–42,5	27,9–38,7
Доля клеток на стадии анафазы–телофазы митоза, %	9,0–21,2	23,7–27,5	20,0–30,8
Частота встречаемости клеток с микроядрами, %	0–0,03	0–0,04	0
Среднее число ядрышек на клетку	3,55–4,55	3,79–4,19	3,41–4,41
Частота встречаемости остаточных ядрышек в интерфазе, %	0	0–0,02	0
Частота встречаемости остаточных ядрышек в митозе, %	0	0,1–0,7	0

Большее количество выделенных групп в нашем исследовании может свидетельствовать о высоком уровне цитогенетической изменчивости продуцируемого семенного потомства ели белой при интродукции. Как известно, популяции с низким уровнем изменчивости более подвержены заболеваниям, влиянию антропогенного загрязнения, воздействию негативных факторов (Ayala, Kiger, 1987; Kholina et al., 2009;

Fedorenko et al., 2014; Selyutina et al., 2017; Magomedova, 2019; Tikhonova et al., 2019).

Для апробации возможности практического применения полученных данных мы провели изучение цитогенетических показателей модельного дерева ели белой и спрогнозировали качество потомства. Цитогенетические показатели изученного дерева ели белой представлены в таблице 6.

Таблица 6

Характеристика цитогенетических показателей модельного дерева *Picea glauca*

Цитогенетические показатели	$X \pm m$
Митотический индекс, %	$2,2 \pm 0,3$
Уровень патологий митоза, %	$2,2 \pm 1,1$
Доля клеток на стадии профазы митоза, %	$42,7 \pm 3,1$
Доля клеток на стадии метафазы митоза, %	$31,9 \pm 4,0$
Доля клеток на стадии анафазы–телофазы митоза, %	$25,4 \pm 2,6$
Частота встречаемости клеток с микроядрами, %	$0,01 \pm 0,01$
Число клеток с n ядрышками в ядре	
$n = 1$	$2,8 \pm 1,1$
$n = 2$	$18,4 \pm 2,7$
$n = 3$	$21,5 \pm 2,9$
$n = 4$	$20,0 \pm 1,6$
$n = 5$	$20,3 \pm 3,2$
$n = 6$	$9,1 \pm 1,3$
$n = 7$	$5,4 \pm 1,5$
$n = 8$	$1,9 \pm 0,7$
$n = 9$	$0,3 \pm 0,2$
$n = 10$	$0,1 \pm 0,1$
Среднее число ядрышек на клетку	$3,98 \pm 0,1$
Частота встречаемости остаточных ядрышек в интерфазе, %	$0,01 \pm 0,01$
Частота встречаемости остаточных ядрышек в митозе, %	$0,7 \pm 0,5$

У данного дерева встречалось только два типа нарушений митоза: мост и отставание хромосом в анафазе митоза (50,0 %). У экспериментального дерева отмечались остаточные ядрышки в интерфазе и метафазе митоза (у 3 исследуемых проростков), а также микроядра (у 1 исследуемого проростка).

Опираясь на предложенные интервалы варьирования патологий митоза в «слабомутабель-

ной», «мутабельной» и промежуточной группах, мы распределили семенное потомство по указанным группам. Большинство проростков (69,2 %) по уровню патологических митозов можно было отнести к «слабомутабельной» группе, доля проростков в промежуточной группе составила 7,7 %, к «мутабельной» группе можно было отнести 23,1 % проростков (рис. 7).

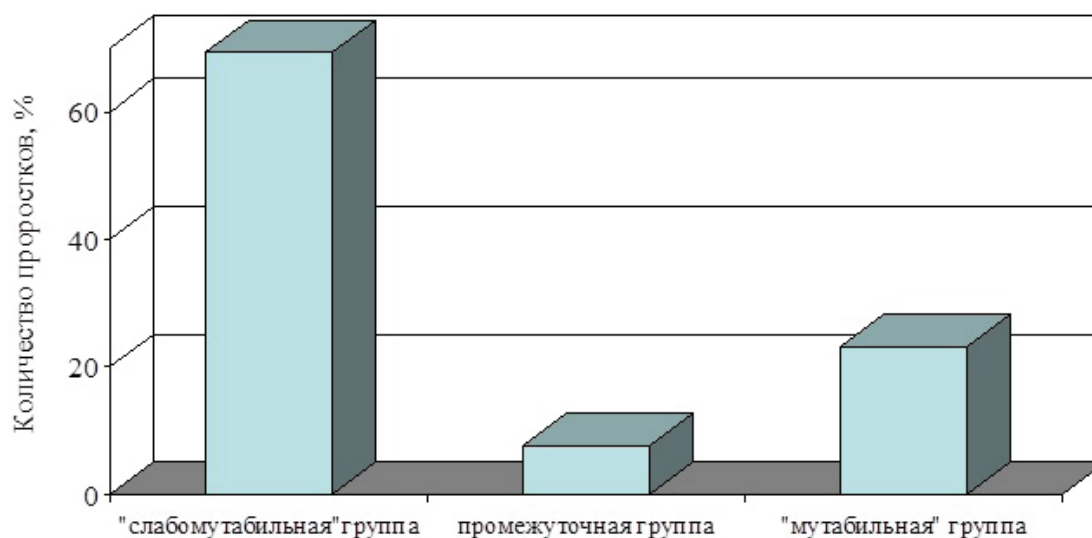


Рис. 7. Гистограмма распределения проростков семян модельного дерева *Picea glauca* по группам («слабомутабельная», промежуточная, «мутабельная») по показателю «уровень патологий митоза».

Таким образом, можно предположить, что данное дерево будет продуцировать больше всего семян, относящихся по своим цитогенетическим характеристикам к «слабомутабельной» группе. Однако отдельные проростки из «слабомутабельной» группы по другим цитогенетическим показателям могли быть отнесены к промежуточной группе (на это указывало наличие у 3 проростков остаточных ядрышек на стадии метафазы, ана-телофазы митоза и в цитоплазме интерфазных клеток). По нашему мнению, у этих проростков не были обнаружены патологии митоза из-за редкости данного события. Тем не менее, даже исключение данных проростков из «слабомутабельной» группы позволяет отнести модельное дерево к продуцентам генетически стабильного потомства (число устойчивых проростков составляет после пересчета 46,0 %).

Заключение

Анализ цитогенетических характеристик у семенного потомства *Picea glauca* выявил его высокую гетерогенность (полиморфизм). Среди семенного потомства выявлено шесть различных по стабильности генетического материала групп проростков: «мутабельная», «слабомутабельная» и четыре промежуточных. В «мутабельной» группе отмечалось высокое значение уровня нарушений митоза (3,0–8,2 %) и присутствие аберраций, связанных как с повреждением хромосом, так и с повреждением митотического аппарата и нарушением цитотомии. В данной группе среднее значение величины митотического индекса составило 2,1–3,1 %, выявлена задержка клеток на стадии профазы митоза. В выделенной группе проростков не встречалось клеток с остаточными ядрышками, но наблюдалось незначительное число клеток с микроядрами (0–0,03 %). «Слабомутабельная» группа характеризовалась отсутствием патологий митоза, клеток с микроядрами и остаточными ядрышками, низким значением митотического индекса (1,9–2,9 %). Промежуточные

группы имели высокий митотический индекс (3,8–4,6 %), промежуточную между «мутабельной» и «слабомутабельной» группой величину уровня патологий митоза (0,9–1,9 %), задержку клеток на стадии метафазы митоза. Нарушения митоза в данных группах были обусловлены повреждением хромосом и митотического аппарата. Наблюдались клетки с остаточными ядрышками в интерфазе (0–0,02 %) и митозе (0,1–0,7 %) и с микроядрами (0–0,04 %). Количественное преобладание проростков определенной группы у каждого исследуемого дерева свидетельствует о продуцировании семенного потомства, которое можно по совокупности цитогенетических показателей отнести к чувствительной или устойчивой к факторам окружающей среды группе. Анализ цитогенетических характеристик семенного потомства модельного дерева позволил установить, что большинство проростков по совокупности цитогенетических показателей можно отнести к «слабомутабельной» группе. Таким образом, модельное дерево может продуцировать генетически стабильное потомство. Учитывая опубликованные работы (Kalaev, Popova, 2014a; Varanova et al., 2018), в которых показана связь морфометрических и цитогенетических показателей семенного потомства древесных растений, возможно использовать описанные выше результаты в генетико-селекционных целях для разработки рекомендаций по отбору материнских деревьев, продуцирующих семенное потомство с разной стабильностью генетического материала. Также необходимо учитывать существующий цитогенетический полиморфизм семенного потомства по стабильности генетического материала при проведении цитогенетического мониторинга загрязнения окружающей среды с использованием древесных растений, т. к. наличие мутабельных и слабомутабельных форм среди семенного потомства, а также деревьев, продуцирующих разное количество проростков с высокой и низкой стабильностью генетического материала, может отразиться на получаемых результатах при малых объемах выборок.

REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА

- Alov I. A.* 1965. Pathology of mitosis (forms of pathology, classification, quantitative characterization). *Vestnik Akademii medicinskikh nauk SSSR [Bulletin of the Academy of Medical Sciences of the USSR]* 11: 58–66. [In Russian] (*Алов И. А.* Патология митоза (формы патологии, классификация, количественная характеристика) // Вестник АМН СССР, 1965. № 11. С. 58–66).
- Altuhov Yu. P., Gafarov N. I., Krutovskij K. V., Duharev V. A.* 1986. Allozyme variability in natural populations of norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) post 3. Correlation between levels of individual heterozygosity and relative number of inviable seeds. *Genetika* 22(12): 2825–2830. [In Russian] (*Алтухов Ю. П., Гафаров Н. И., Крутовский К. В., Ду-*

харев В. А. Аллозимный полиморфизм в природной популяции ели европейской (*Picea abies* (L.) Karst.). Сообщ. 3. Корреляция между уровнем индивидуальной гетерозиготности и относительным количеством нежизнеспособных семян // Генетика, 1986. Т. 22, № 12. С. 2825–2830).

Artyukhov V. G., Kalaev V. N., Karpova S. S. 2009. Cytogenetic variability of seed progeny from trees of weeping birch (*Betula pendula* Roth), growing in different ecological conditions. *Ecological genetics* 7, 1: 30–40. [In Russian] (**Артюхов В. Г., Калаев В. Н., Карпова С. С.** Цитогенетический полиморфизм семенного потомства деревьев березы повислой (*Betula pendula* Roth), произрастающих в различных экологических условиях // Экологическая генетика, 2009. Т. 7, № 1. С. 30–40).

Artyukhov V. G., Kalaev V. N., Sen'kevich E. V., Vahel V. M., Savko A. D. 2004. Cytogenetic characteristics of seed offspring of leafy tree plants from one-kilometer zone of Novovoronezh nuclear power station. *Radiation biology. Radioecology* 44(4): 445–457. [In Russian] (**Артюхов В. Г., Калаев В. Н., Сенькевич Е. В., Вахтель В. М., Савко А. Д.** Цитогенетические показатели семенного потомства лиственных древесных растений в 1-километровой зоне Нововоронежской АЭС // Радиационная биология. Радиоэкология, 2004. Т. 44, № 4. С. 445–457).

Ayala F., Kiger J. 1987. *Modern genetics*. Vol. 1. Moscow: Mir. 295 pp. [In Russian] (**Айала Ф., Кайгер Дж.** Современная генетика: В 3-х т. Т. 1. М.: Мир, 1987. 295 с.).

Baranova T. V., Kalaev V. N., Burmenko Yu. V. 2018. Pat. 2654605 Russian Federation, IPC A01H 1/04 (2006.01); A01H 5/00 (2006.01). A method for evaluating *Rhododendron ledebourii* Pojark seed quality by cytogenetic indicators: applicant and patent holder, Voronezh State University. No. 2016140096; declared 10/11/2016, publ. 05/21/2018, Bull. № 15. 16 pp. [In Russian] (**Баранова Т. В., Калаев В. Н., Бурменко Ю. В.: заявитель и патентообладатель Воронежский государственный университет.** Пат. 2654605 Российская Федерация, МПК A01H 1/04 (2006.01); A01H 5/00 (2006.01). Способ оценки по цитогенетическим показателям качества семян *Rhododendron ledebourii* Pojark. № 2016140096; заявл. 11.10.2016, опублик. 21.05.2018, Бюл. № 15. 16 с.).

Belousov M. V., Mashkina O. S., Pardaeva E. Yu., Zelenina E. A., Popov V. N. 2013. Lead and vehicle emissions effect on scots pine (*Pinus sylvestris* L.) according to cytogenetic analysis. *Scientific notes of the Russian state hydrometeorological university* 28: 13–19. [In Russian] (**Белосов М. В., Машикина О. С., Пардаева Е. Ю., Зеленина Е. А., Попов В. Н.** Влияние свинца и выбросов автотранспорта на сосну обыкновенную (*Pinus sylvestris* L.) по данным цитогенетического анализа // Ученые записки Российского государственного гидрометеорологического университета, 2013. № 28. С. 13–19).

Bogdanova E. V. 2009. Kariological study of *Picea pungens* Engelm. in the conditions of introduction. *Byulleten botanicheskogo sada Saratovskogo gosudarstvennogo universiteta* [Bulletin of the botanical garden of Saratov state university] 8: 219–223. [In Russian] (**Богданова Е. В.** Кариологическое изучение *Picea pungens* Engelm. в условиях интродукции // Бюллетень ботанического сада Саратовского государственного университета, 2009. № 8. С. 219–223).

Burmenko Yu. V., Baranova T. V., Kalaev V. N., Sorokopudov V. N. 2018. Cytogenetic polymorphism of seed progeny of introduced plants on the example of *Rhododendron ledebourii* Pojark. *Turczaninowia* 21, 1: 164–173. [In Russian] (**Бурменко Ю. В., Баранова Т. В., Калаев В. Н., Сорокопудов В. Н.** Цитогенетический полиморфизм семенного потомства интродуцентов на примере *Rhododendron ledebourii* Pojark // Turczaninowia, 2018. Т. 21, № 1. С. 164–173). DOI: 10.14258/turczaninowia.21.1.16

Butorina A. K. 1989. Cytogenetic evaluation of pedunculate oak trees of different breeding categories. *Genetika* 25(2): 301–309. [In Russian] (**Буторина А. К.** Цитогенетическая оценка деревьев дуба черешчатого разных селекционных категорий // Генетика, 1989. Т. 25, № 2. С. 301–309).

Butorina A. K., Bogdanova E. V. 2001. Adaptive value and possible origin of B-chromosomes in prickly spruce. *Tsytologiya* 43(8): 809–814. [In Russian] (**Буторина А. К., Богданова Е. В.** Адаптивное значение и возможное происхождение В-хромосом у ели колючей // Цитология, 2001. Т. 43. № 8. С. 809–814).

Butorina A. K., Cherkashina O. N., Ermolaeva O. V., Chernodubov A. I., Avdeeva I. A. 2007. Cytogenetic monitoring of the Usmansky and Khrenovskoy autochthonic pine stands. *Biology Bulletin* 34(4): 423–426.

Butorina A. K., Ermolaeva O. V., Cherkashina O. N., Mazurova I. Je., Belousov M. V., Chernodubov A. I. 2008. Perspectives of using the cytogenetic analysis in forestry from the example of assessment of state of island pine forests (Voronezh region). *Biology Bulletin Reviews* 128, 4: 400–408. [In Russian] (**Буторина А. К., Ермолаева О. В., Черкашина О. Н., Мазурова И. Э., Белосов М. В., Чернодубов А. И.** Перспективы использования цитогенетического анализа в лесоводстве на примере оценки состояния островных боров Воронежской области // Успехи современной биологии, 2008. Т. 128, № 4. С. 400–408).

Butorina A. K., Kalaev V. N., Vostrikova T. V., Mjagkova O. E. 2000. Cytogenetic characteristics of seed offspring of some species of woody plants under conditions of anthropogenic pollution in Voronezh. *Tsytologiya* 42(2): 196–201. [In Russian] (**Буторина А. К., Калаев В. Н., Вострикова Т. В., Мягкова О. Е.** Цитогенетическая характеристика семенного потомства некоторых видов древесных растений в условиях антропогенного загрязнения г. Воронежа // Цитология, 2000. Т. 42, № 2. С. 196–201).

Butorina A. K., Mozgalina I. G. 2004. Specific cytogenetic characteristics of *Pinus cretacea* and *Pinus sylvestris*. *Russian Journal of Ecology* 35(3): 156–160.

- Fedorenko O. M., Zaretskaya M. V., Lebedeva O. N., Titov A. F.** 2014. Genetic diversity of *Arabidopsis thaliana* (L.) natural populations in the northern part of the species range. *Trudy Karelskogo nauchnogo tsentra RAN [Proceedings of the Karelian Scientific Center of the Russian Academy of Sciences]* 2: 36–42. [In Russian] (**Федоренко О. М., Зарецкая М. В., Лебедева О. Н., Титов А. Ф.** Генетическое разнообразие природных популяций *Arabidopsis thaliana* (L.), расположенных на северной периферии ареала вида // Труды КарНЦ РАН, 2014. Т. 2. С. 36–42).
- Kalaev V. N., Artyukhov V. G., Popov V. N., Ignatova I. V.** 2010. Cytogenetic polymorphism of pine seeds in eastern Voronezh Region. *Russian Journal of Forest Science* 4: 56–65. [In Russian] (**Калаев В. Н., Артюхов В. Г., Попов В. Н., Игнатова И. В.** Цитогенетический полиморфизм семенного потомства сосны обыкновенной на востоке Воронежской области // Лесоведение, 2010. № 4. С. 56–65).
- Kalaev V. N., Istomova I. U., Moiseeva E. V.** 2012. Chromosomal numbers of representatives of some species of conifers growing in the collections of the Botanical Garden. prof. B. M. Kozo-Polyansky Voronezh State University. *Sovremennyye problemy introduktsii i sokhraneniya bioraznoobraziya rasteniy [Current problems of the introduction and conservation of plant biodiversity: materials 2nd international scientific conference dedicated to the 75th anniversary of the Botanical Garden named after professors B. M. Kozo-Polyansky and the 100th anniversary of the birth of Professor S. I. Mashkin]*. Voronezh. Pp. 309–319. [In Russian] (**Калаев В. Н., Истомова И. Ю., Моисеева Е. В.** Хромосомные числа представителей некоторых видов хвойных, произрастающих в коллекциях ботанического сада им. проф. Б. М. Козо-Полянского Воронежского государственного университета // Современные проблемы интродукции и сохранения биоразнообразия растений: матер. 2-й международ. науч. конф., посвященной 75-летию Ботанического сада им. профессора Б. М. Козо-Полянского и 100-летию со дня рождения профессора С. И. Машкина. Воронеж, 2012. С. 309–319).
- Kalaev V. N., Popova A. A.** 2014a. Cytogenetic characteristics and morphological parameters of seed progeny of pedunculate oak trees (*Quercus robur* L.) growing in territories with different levels of anthropogenic pollution. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy* 4: 63–72. [In Russian] (**Калаев В. Н., Попова А. А.** Цитогенетические характеристики и морфологические показатели семенного потомства деревьев дуба черешчатого (*Quercus robur* L.), произрастающих на территориях с разным уровнем антропогенного загрязнения // Вестник Воронежского государственного университета. Серия химия, биология, фармация, 2014. Т. 4. С. 63–72).
- Kalaev V. N., Popova A. A.** 2014b. Cytogenetic polymorphism of English oak (*Quercus robur* L.) seedlings from areas with different levels of anthropogenic pollution. *Silvae Genetica* 63, 6: 245–252. DOI: 10.1515/sg-2014-0032
- Kalaeva E. A., Artyukhov V. G., Kalaev V. N.** 2016. *Teoreticheskiye osnovy i prakticheskoye primeneniye matematicheskoy statistiki v biologicheskikh issledovaniyakh i obrazovanii [Theoretical foundations and practical application of mathematical statistics in biological research and education]*. Voronezh: Izdatelskiy dom VGU. 282 pp. [In Russian] (**Калаева Е. А., Артюхов В. Г., Калаев В. Н.** Теоретические основы и практическое применение математической статистики в биологических исследованиях и образовании. Воронеж: Издательский дом ВГУ, 2016. 282 с.).
- Karpyuk T. V., Muratova E. N.** 2005. Karyological analysis of *Picea Meyer* Rehd. Et Wils. *Turczaninowia* 8, 3: 67–77. [In Russian] (**Карпюк Т. В., Муратова Е. Н.** Кариологический анализ ели Мейера (*Picea Meyer* Rehd. Et Wils) // Turczaninowia, 2005. Т. 8, № 3. С. 67–77).
- Kholina A. B., Koren' O. G., Zhuravlev Yu. N.** 2009. Genetic Structure and Differentiation of Populations of the Tetraploid Species *Oxytropis chankaensis* (Fabaceae). *Russian Journal of Genetic* 45, 1: 81–91. [In Russian] (**Холина А. Б., Корень О. Г., Журавлев Ю. Н.** Генетическая структура и дифференциация популяций тетраплоида *Oxytropis chankaensis* (Fabaceae) // Генетика, 2009. Т. 45, № 1. С. 81–91).
- Lakin G. F.** 1990. *Biometriya [Biometrics]*. Moscow: Higher school. 352 pp. [In Russian] (**Лакин Г. Ф.** Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.).
- Lamotkin S. A., Vladykina D. S., Skakovskij E. D.** 2012. Dependence of composition of essential oil of a white spruce *Picea glauca* (Moench) Voss. from an ecological situation of region of growth. *Khimija Rastitel'nogo Syr'ya [Chemistry of plant raw material]* 2: 111–117. [In Russian] (**Ламоткин С. А., Владыкина Д. С., Скаковский Е. Д.** Зависимость состава эфирного масла ели канадской *Picea glauca* (Moench) Voss. от экологической обстановки региона произрастания // Химия растительного сырья, 2012. № 2. С. 111–117).
- Magomedova B. M.** 2019. Variability of Traits of Fruits and One-Year Old Seedlings of the Rare Species *Celtis caucasica* (Ulmaceae). *Russian Journal of Forest Science* 3: 188–197. [In Russian] (**Магомедова Б. М.** Изменчивость показателей плодов и однолетних сеянцев редкого вида Каркас кавказский // Лесоведение, 2019. Т. 3. С. 188–197). DOI: 10.1134/S0024114819020050
- Mazurova I. E.** 2009. Cytogenetic features of Siberian larch (*Larix sibirica* Ledeb.) in the conditions of the Central Black Soil region. In: *V syezd VOGiS [5th Congress of VOGiS]*. Part. 2. Moscow: Izdatelstvo RGAU–MSKHA. P. 248. [In Russian] (**Мазурова И. Э.** Цитогенетические особенности лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) в условиях Центрального Черноземья // V съезд ВОГиС: матер. конф. Ч. 2. М.: Изд-во РГАУ–МСХА, 2009. С. 248).
- Muratova E. N., Sedelnikova T. S.** 1999. Structural rearrangements of chromosomes and polymorphism of nucleolar loci as factors of conifer stability in extreme forest growing conditions. In: *Metody otsenki sostoyaniya i ustoychivosti le-*

snykh ekosistem [Methods for assessing the state and sustainability of forest ecosystems: abstracts International meeting]. Krasnoyarsk. Pp. 116–117. [In Russian] (Муратова Е. Н., Седельникова Т. С. Структурные перестройки хромосом и полиморфизм нуклеолярных локусов как факторы устойчивости хвойных в экстремальных лесорастительных условиях // Методы оценки состояния и устойчивости лесных экосистем: тез. докл. Международ. совещания. Красноярск, 1999. С. 116–117).

Selyutina I. Yu., Konichenko E. S., Dorogina O. V. 2017. Variability and interpopulation differentiation of the rare species *Gueldenstaedtia monophylla* Fisch. (Fabaceae). *Vavilov Journal of Genetics and Breeding* 21, 3: 354–359. [In Russian] (Селютина И. Ю., Кониченко Е. С., Дорогина О. В. Изменчивость и межпопуляционная дифференциация редкого вида *Gueldenstaedtia monophylla* Fisch. (Fabaceae) // Вавиловский журнал генетики и селекции, 2017. Т. 21, вып. 3. С. 354–359).

Sen'kevich E. V. 2007. *Tsitogenetika sosny obyknovennoy i berezy povisloy v rayone Novovoronezhskoy AES v svyazi s voprosami otsenki zagryazneniya okruzhayushchey sredy: Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk [Cytogenetics of Scots pine and Silver birch in the area of Novovoronezh NPP in connection with the assessment of environmental pollution]. Voronezh. 23 pp. (Сенькевич Е. В. Цитогенетика сосны обыкновенной и березы повислой в районе Нововоронежской АЭС в связи с вопросами оценки загрязнения окружающей среды: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Воронеж, 2007. 23 с.).*

Tikhonova I. V., Ekart A. K., Zatepina K. G., Kravchenko A. N. 2019. Variability of allozyme locus and inbreeding level in the age groups of southern-taiga and forest-steppe pine populations of the Central Siberia. *Sibirskiy Lesnoy Zhurnal [Siberian Journal of Forest Science]* 5: 70–80. [In Russian] (Тихонова И. В., Экарт А. К., Зацепина К. Г., Кравченко А. Н. Изменчивость аллозимов и уровень инбридинга в возрастных группах южно-таежных и лесостепных популяций сосны обыкновенной в Средней Сибири // Сибирский лесной журнал, 2019. Т. 5. С. 70–80).

Vladimirova O. S., Muratova E. N., Sedaeva M. I. 2008. Pollen of Siberian spruce growing in various environmental conditions. *Conifers of the boreal area* 25(1–2): 98–102. [In Russian] (Владимирова О. С., Муратова Е. Н., Седяева М. И. Пыльца ели сибирской, произрастающей в различных экологических условиях // Хвойные бореальной зоны, 2008. Т. 25, № 1–2. С. 98–102).

Vorobyev R. A., Tebenkova D. N. 2013. Development of vegetative and generative organs of representatives of the genus Spruce (*Picea* L.), introduced in the Nizhny Novgorod region. *Lesnoy vestnik [Forestry Bulletin]* 99, 7: 97–105. [In Russian] (Воробьев Р. А., Тебенкова Д. Н. Развитие вегетативных и генеративных органов представителей рода ель (*Picea* L.), интродуцированных в Нижегородской области // Лесной вестник, 2013. Т. 99, № 7. С. 97–105).

Vostrikova T. V. 2007. Instability of cytogenetic parameters and genome instability in *Betula pendula* Roth. *Russian Journal of Ecology* 38(2): 80–84.

Wittmann W. 1962. Aceto-iron-haematoxylin for staining chromosomes in squashes of plant material. *Stain Technology* 37(1): 27–30.