

УДК 502.75: 582.632.1(571.150)

*Л.П. Хлебова, О.В. Ерещенко*

**Ритмы суточной митотической активности  
у березы повислой (*Betula pendula* Roth.)  
в условиях Алтайского края**

*L.P. Khlebova, O.V. Ereschenko*

**The Rhythms of Daily Mitotic Activity  
in Birch (*Betula pendula* Roth.) in Altai Krai**

Приведены результаты изучения суточных ритмов цитогенетических показателей клеток корневой меристемы проростков березы повислой (*Betula pendula* Roth.) в условиях Алтайского края (Барнаул). Семена собирали на территории двух районов города. Проростки с длиной корешков 0,5–1,0 см фиксировали темпорально с интервалом в 3 ч (с 6 до 24 ч) в ацетоалкоголе. Для цитогенетического исследования использовали давленные препараты (1 проросток — 1 препарат). Учитывали общее количество просмотренных клеток, делящихся клеток и клеток, находящихся в той или иной фазе митоза.

В экологически «чистом» районе Барнаула обнаружено два пика митотической активности клеток корневой меристемы проростков березы повислой: утренний — в 9 ч, и вечерний — в 21 ч по летнему времени. Максимальное значение митотического индекса (МИ) составило 7,5 и 8,3% соответственно. В утренний пик увеличение интенсивности клеточных делений происходило за счет увеличения числа клеток в стадиях метафазы, анафазы и телофазы, а вечерний — профазы. Обнаружено повышение митотического индекса материала, собранного в центре города (район пл. Октября), что свидетельствует о наличии стимулирующих агентов в окружающей среде, каковыми, вероятно, являются поллютанты. Максимальное значение показателя составило 9,8% и было зафиксировано в 9 ч. Вечерний пик на исследуемой территории практически отсутствовал. Следовательно, оптимальным сроком фиксации материала березы повислой для цитологического анализа митоза меристематических тканей следует считать утреннее время в районе 9 часов.

**Ключевые слова:** береза повислая, семена, проростки, корневая меристема, суточный ритм, митоз, митотический индекс (МИ).

**DOI 10.14258/izvasu(2014)3.1-18**

Суточные (циркадные) ритмы, эволюционно обуславливающие механизмы адаптации регуляторных систем живых организмов к 24-часовому циклу, являются одними из основных природных факторов,

The investigation results of the cytogenetic parameters circadian rhythms in root meristem cells of birch seedlings (*Betula pendula* Roth.) under conditions of Altai Krai (Barnaul) are presented in the article. Seeds were collected in two city districts. Plantlets with roots of 0.5–1.0 cm length were fixed in acetoalcohol temporally with the intervals of 3 hours (from 6 am to 12 pm). Squash specimens (1 seedling — 1 sample) were used for cytogenetic studies. The overall number of viewed cells, the number of dividing cells and the cells in one or another stage of mitosis was considered. Two peaks of mitotic activity of root meristem cells in birch seedlings have been found in an ecologically «clean» area of Barnaul city: 9 am and 9 pm. Maximum values of mitotic index (MI) run up to 7.5 and 8.3%, respectively. In the morning peak the increasing of cell divisions was caused by proliferation the number of cells in metaphase, anaphase and telophase, and in the evening peak — in prophase. The increase in the mitotic index of the material collected in the city center (October Square) has been discovered. That is the evidence of the presence of stimulating agents in the environment, what are likely to be pollutants. The maximum value of MI was 9.8% at 9 am. The evening peak on this territory has not been almost revealed. Consequently, the optimal term of birch material fixation for cytological analysis of mitosis in meristem root tissue should be considered in the morning around 9 am.

**Key words:** birch *Betula pendula* Roth., seeds, seedlings, root meristem, the circadian rhythm, mitosis, mitotic index (MI).

имеющих периодический характер. Частным проявлением периодической деятельности организмов является суточная периодичность митозов. Проблема изучения ритмичности клеточных делений у растений

представляет повышенный интерес, поскольку до сих пор не решен вопрос о видоспецифичности данного признака и механизмах, его определяющих [1; 2].

Начальным этапом для изучения митоза является определение суточной митотической активности (МА) как важнейшей цитологической характеристики вида, которая проявляется в виде периодических подъемов и спадов клеточных делений. С практической точки зрения это важно для установления пиков МА как оптимальных сроков фиксации материала при изучении цитологии митоза [3].

Ритмы митотической активности в меристеме высших растений зависят от ряда факторов, важнейшими из которых являются климатические условия. Кроме того, известно, что на процесс митотического деления оказывают влияние стрессоры техногенного характера [4]. Суточная динамика митоза березы повислой изучена слабо, а в условиях Алтайского края и в частности Барнаула вообще не изучалась.

Целью данной работы являлось изучение суточных ритмов цитогенетических показателей клеток корневой меристемы проростков березы повислой (*Betula pendula* Roth.) в условиях Барнаула.

Материалом исследования служили корешки проростков семян березы повислой. Сбор семян проводили в районе пл. Октября, являющейся местом пересечения крупных городских автомагистралей, и в экологически благоприятных (нормальных) условиях — в районе Южно-Сибирского ботанического сада (ЮСБС). Эту территорию можно считать экологически безопасной, так как содержание контролируемых химических элементов в растительном материале и уровень загрязненности радиоактивными веществами не превышали соответствующих предельно допустимых концентраций (ПДК).

Сбор семян осуществляли с 29 августа по 20 сентября с деревьев без видимых повреждений вредителями и грибковыми заболеваниями, диаметром

25–30 см, произрастающих группами по 5–10 экземпляров. Серезки собирали с высоты от 1,5 до 2–2,5 м. Собранные семена (в равных количествах от каждого дерева — по 300 штук) смешивали и помещали в чашки Петри на влажную фильтровальную бумагу; проращивание их производили в термостате при температуре +25 °С. Проростки с длиной корешков 0,5–1,0 см фиксировали темпорально с интервалом в 3 ч (с 6 до 24 ч) в ацетоалкоголе в течение суток, после чего хранили в холодильнике при температуре +4 °С. Для цитогенетического исследования использовали давленные препараты (1 проросток — 1 препарат) по методике, описанной Т.В. Востриковой и др. [5]. Препараты изучали с помощью микроскопа МИКМЕД-6 при увеличении 40×15×10. При исследовании учитывали общее количество просмотренных клеток меристемы, количество делящихся клеток и клеток, находящихся в той или иной фазе митоза. Изучено по 4 тыс. клеток на вариант (4 повторения). Количественным показателем общей митотической активности служил митотический индекс (МИ), который отражает долю делящихся клеток от общего числа клеток на препарате и выражается в процентах [6]. Достоверность различий оценивали путем расчета t-критерия Стьюдента с помощью пакета прикладных программ «Microsoft Excel 2007».

Для эффективного использования в генетическом мониторинге показателей митотической активности клеток прежде всего необходимо знать закономерности протекания клеточных делений на условно «чистых» территориях определенной местности. В данном случае такой «чистой» территорией мы обозначили район ЮСБС, который планируется в дальнейших исследованиях использовать в качестве контроля. В таблице 1 представлены данные динамики в течение суток митотической активности клеток апекса корешков проростков березы повислой, произрастающей на обозначенной территории.

Таблица 1

Динамика митотической активности корневой меристемы проростков березы повислой (*B. pendula* Roth.), % (контроль)

Показатель	Время фиксации проростков, ч						
	6	9	12	15	18	21	24
Общее количество делящихся клеток	3,6±0,27	7,5±0,07	4,2±0,31	4,7±0,13	4,8±0,24	8,3±0,09	4,5±0,17
Количество клеток в стадии профазы	1,9±0,28	2,3±0,08	2,0±0,16	2,4±0,23	2,1±0,11	6,1±0,06	2,6±0,18
Количество клеток в остальные фазы (мета-, ана-, телофаза)	1,7±0,15	5,2±0,05	2,2±0,19	2,3±0,25	2,7±0,22	2,2±0,05	1,9±0,34

Представленные данные отражают часы фиксации материала, когда клеточные деления наиболее интенсивные, т.е. наблюдались пики митотической

активности, а также когда митоз проходит в ослабленном режиме. При этом пики митотической активности могут достигаться за счет клеток, нахо-

дящихся на разных стадиях деления (про-, мета-, ана- либо телофазы). Митотический индекс, т.е. показатель делящихся клеток, в течение суток варьировал от 3,6 до 8,3%.

Максимальные значения были зафиксированы в 9 и 21 ч — они составили 7,5 и 8,3% соответственно. Эти часы явились пиками общей митотической активности. В остальное время варьирование результатов было незначительное — от 3,6 до 4,8%, т.е. интенсивность клеточных делений оставалась примерно на одном уровне. В 6 и 24 ч показатели митотической активности были минимальны и составили 3,6 и 4,5% соответственно. Это связано, вероятно, с тем, что в утренние часы организм готовится к делению, в вечерние — уже замедляет его. Следует отметить, что в утренние часы высокие значения достигаются, как

правило, за счет стадий метафазы, анафазы и телофазы, а в вечерние — за счет профазы.

Большое значение, как указывалось выше, имеет процентное соотношение клеток, находящихся в различных фазах клеточного деления. Кроме того, известно, что цитологические нарушения митоза выявляются, как правило, начиная со стадии формирования веретена деления, т.е. поздней профазы и метафазы, что важно при использовании МИ в цитогенетическом мониторинге какой-либо территории [4]. Поэтому для более точной характеристики показателя МА мы посчитали целесообразным исключить из митотического индекса стадию профазы.

На рисунке 1 представлена сравнительная характеристика динамики митотического индекса в течение суток с учетом и без учета стадии профазы.

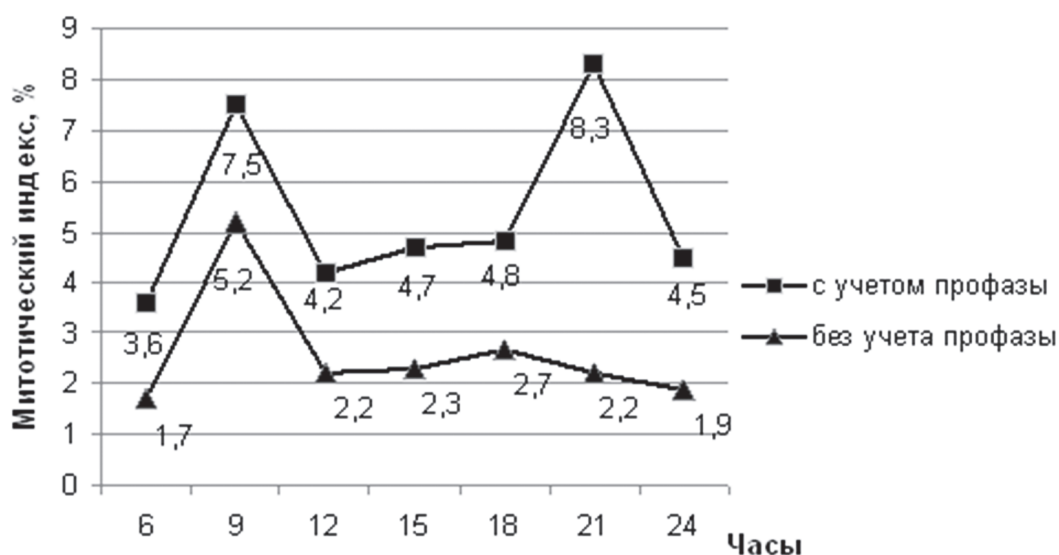


Рис. 1. Суточная митотическая активность корневой меристемы проростков семян березы повислой (*B. pendula* Roth.) (район ЮСБС, Барнаул)

В утренний пик, т.е. в 9 ч, увеличение митотической активности происходило за счет увеличения числа клеток в стадиях метафазы, анафазы и телофазы (см. табл. 1). Их суммарное количество было максимальным и составило 5,2% от общего числа клеток. В остальные часы фиксации МИ без учета профазы оставался приблизительно на одном уровне, варьируя от 1,7 до 2,7%. Вечерний же пик — в 21 ч — был обусловлен увеличением доли профаз, число которых достигло 6,1%. При этом доля клеток на других стадиях митоза по-прежнему оставалась на относительно низком уровне — 2,2%. Следовательно, для дальнейших исследований наибольшее значение имеет именно утренний пик суточной митотической активности — 9 ч.

Как отмечалось ранее, при различных стрессах растений, как естественных, так и техноген-

ных, возможны отклонения митотического режима от нормы. Данные отклонения могут касаться как митотической активности, так и ее ритмичности. При воздействии экстремальных факторов возможны стимуляция либо депрессия МИ в зависимости от вида и силы их воздействия. Стимуляция обычно проявляется при более слабом стрессоре, а депрессия — напротив, при сильном. Кроме того, возможно проявление эффекта стимуляции МА и при синергическом воздействии компонентов, когда значения каждого из них, взятого в отдельности, не превышают ПДК [6].

В таблице 2 представлены данные суточной митотической активности корневой меристемы проростков березы повислой на экологически неблагоприятной территории Барнаула (район пл. Октября).

Таблица 2

Динамика митотической активности корневой меристемы проростков березы повислой (*B. pendula* Roth.), % (район пл. Октября, Барнаул)

Показатель	Время фиксации проростков, ч						
	6	9	12	15	18	21	24
Общее количество делящихся клеток	4,3±0,22	9,8±0,05	5,1±0,34	4,6±0,17	5,1±0,23	5,2±0,07	3,9±0,14
Количество клеток в стадии профазы	1,4±0,24	5,3±0,09	2,3±0,13	2,1±0,22	2,7±0,12	2,8±0,08	1,7±0,17
Количество клеток в остальные фазы (мета-, ана-, телофаза)	2,9±0,16	4,5±0,04	2,8±0,16	2,5±0,24	2,4±0,25	2,3±0,06	2,2±0,38

В течение суток мы наблюдали одно максимальное значение показателя, являющееся пиком митотической активности, которое составило 9,8% и было зафиксировано в 9 ч. Следует отметить, что данный показатель совпадал с утренним пиком митотической активности корневой меристемы проростков березы повислой, выращенных из семян, собранных в районе ЮСБС. Вечерний пик на исследуемой территории практически отсутствовал. Обращают также на себя внимание значения в остальные часы фиксации материала (см. табл. 2). Их варьирование было незначительным — от 3,9 до 5,1%. Количество клеток на стадии профазы менялось от 1,4 до 5,3%, достигая максимума в 9 ч.

На рисунке 2 представлен график митотической активности меристематических клеток березы повислой, произрастающей в центре города (район пл. Октября) с учетом и без учета стадии профазы. Данный показатель совпадал по времени с пиком митотической активности в контроле (район ЮСБС) и превысил его на 2,3%, что указывает на наличие стимулирующих агентов в окружающей среде, которые могут быть и загрязняющими веществами. Это, вероятно, является адаптивной реакцией на возросшую гибель клеток в результате нарушений митоза, т.е. происходит компенсация их потерь за счет большего числа делений [8; 9].

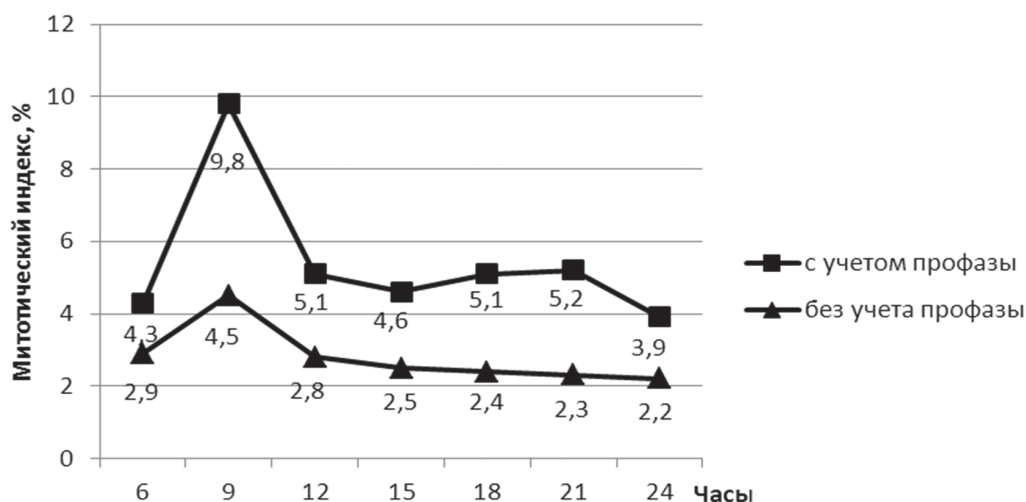


Рис. 2. Суточная митотическая активность корневой меристемы проростков березы повислой (*B. pendula* Roth.) (район пл. Октября, Барнаул)

Снижение суточной митотической активности без учета профаз до 4,5% подтверждает данный вывод, поскольку происходит задержка деления клеток на стадии профазы. Значения, полученные в остальные часы фиксации материала, варьировали незначительно от 2,2 до 2,9%, постепенно снижаясь с 12 до 24 часов.

Таким образом, в экологически «чистом» районе Барнаула обнаружено два пика митотической активности клеток корневой меристемы проростков березы повислой: утренний — в 9 ч, и вечерний — в 21 ч по летнему времени. В утренний пик увеличение интенсивности клеточных делений происходило за счет увеличения числа клеток в стадиях метафазы, анафа-

зы и телофазы, а в вечерний — профазы. Обнаружено повышение митотического индекса материала, собранного в районе пл. Октября, что свидетельствует о наличии стимулирующих агентов в окружающей среде, каковыми, вероятно, являются поллютанты. Максимальное значение показателя составило 9,8%

и было зафиксировано в 9 ч. Вечерний пик на исследуемой территории практически отсутствовал. Следовательно, оптимальным сроком фиксации материала березы повислой для цитологического анализа митоза меристематических тканей следует считать утреннее время в районе 9 часов.

### Библиографический список

1. Гриф В.Г. Ритмы митотической активности и клеточные циклы в меристемах растений // Цитология. — 1994. — Т. 36, № 11.
2. Grif V.G., Ivanov V.B., Machs E.M. Cell Cycle and its Parameters in Flowering Plants // Цитология. — 2002. — Т. 44, № 10.
3. Буторина А.К., До Ныи Тиен. Ритмы суточной митотической активности у золотистой фасоли // Цитология. — 2008. — Т. 50, № 2.
4. Вострикова Т.В., Девятова Т.А. Суточная ритмика некоторых цитогенетических показателей у березы повислой // Кариология и молекулярная систематика. — 2009. — № 6.
5. Вострикова Т.В., Буторина А.К. Изучение митотической активности у березы повислой // Цитология. — 2004. — Т. 46, № 6.
6. Ашихмина Т.Я. Биоиндикация и биотестирование природных сред и объектов в организации экологического мониторинга на территории зоны защитных мероприятий объектов уничтожения химического оружия // Химическое оружие. — Киров, 2005.
7. Калаев В.Н. Цитогенетика лиственных древесных растений в стрессовых условиях // Кариология и молекулярная систематика. — 2009. — № 6.
8. Калаев В.Н., Карпова С.С., Артюхов В.Г. и др. Цитогенетические характеристики семенного потомства деревьев березы повислой в Хреновском бору // Лесоведение. — 2009. — № 3.
9. Калаев В.Н., Буторина А.К., Шелухина О.Ю. Оценка антропогенного загрязнения районов г. Старый Оскол по цитогенетическим показателям семенного потомства березы повислой // Экологическая генетика. — 2006. — Т. 4, № 2.