

ВЛИЯНИЕ НИКЕЛЯ И КАДМИЯ НА ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ *PINUS SYLVESTRIS* L.

© М. В. Белоусов,^{1,*} О. С. Машкина²

¹ С.-Петербургский государственный университет, 199034,

и ² Воронежский государственный университет, 394006;

* электронный адрес: belousovmix@gmail.com

В условиях лаборатории изучен цитогенетический полиморфизм проростков семян *Pinus sylvestris* L. в ответ на действие тяжелых металлов. Сравнивали результаты, полученные на проростках разных лет — 2012 и 2013 гг. Установлено, что с увеличением концентрации Ni²⁺ и Cd²⁺ снижается митотическая активность и одновременно возрастает доля клеток на стадии профазы, что свидетельствует о действии этих металлов, с одной стороны, подобно фиксаторам, а с другой — подобно веществам, блокирующим образование веретена деления. По уровню патологических митозов и частоте встречаемости клеток с микроядрами Cd²⁺ проявляет большую мутагенность, чем Ni²⁺. Помимо этого, в экспериментальных выборках обнаружены нарушения, нехарактерные для контроля, такие как фрагментации и аглютинации хромосом и особенно появление К-митозов.

Ключевые слова: кадмий, К-митоз, микроядра, митотическая активность, никель, патологии митоза, сосна обыкновенная, тяжелые металлы.

Принятые сокращения: МА — митотическая активность, МИ — митотический индекс, МЯ — микроядра, ПМ — патологии митоза.

Изучение влияния тяжелых металлов на физиологические процессы растений началось еще в 70-е годы прошлого столетия (Титов и др., 2007; Sluchyk et al., 2014). За годы исследований было выяснено, что они не только тормозят рост и развитие растений, но и оказывают множественное негативное влияние на фотосинтез, дыхание, водный обмен и минеральное питание (Meharg, 2005; Clements, 2006). Последние исследования показали, что существует много молекулярных и клеточных механизмов токсического и мутагенного действия тяжелых металлов. В их основе лежит способность металлов связываться непосредственно с аминокислотами, белками, замещать близкие по физико-химическим свойствам ионы металлов в ферментах, генерировать реакционно-активные свободные формы кислорода (Евсеева и др., 2005; Prus-Głowacki et al., 2006; Калугина и др., 2013). Тем не менее до сих пор многие аспекты их действия на растительный организм изучены недостаточно полно.

Никель — тяжелый металл, довольно распространенный в природе. Он относится к числу микроэлементов, необходимых для нормального развития живых организмов (Сухарева, 2012). Биологическая роль никеля заключается в участии в структурной организации и функционировании основных клеточных компонентов — ДНК, РНК и белка. Но при концентрациях, превышающих физиологические потребности растений, Ni²⁺ проявляет токсические свойства, поэтому его рассматривают как стрессовый фактор (Малева и др., 2004). Его высокие дозы угнетают рост и продуктивность, подавляют интенсивность фотосинтеза, вызывают хлорозы и некрозы на листьях

(Серегин и др., 2003). Ni²⁺ подавляет деление клеток в большей степени, чем их растяжение, что наряду с увеличением длительности митотического цикла приводит к значительному торможению роста корня, которое усиливается со временем (Кожевникова и др., 2009).

Кадмий является одним из наиболее токсичных тяжелых металлов для всех живых организмов, включая растения (Батова и др., 2012). В отличие от ряда других металлов этой группы он не относится к числу необходимых для жизнедеятельности растений элементов, но они достаточно активно поглощают и аккумулируют его в различных органах (Сибиркина, 2013). Cd²⁺ поступает в живые организмы с помощью переносчиков металлов (цинка и железа) и через кальциевые каналы (Кузнецова и др., 2008). Довольно низкие концентрации ингибируют основные физиологические процессы растений, такие как рост, развитие, фотосинтез, дыхание, водный обмен, минеральное питание и продуктивность (Титов и др., 2007). Показано, что большое сродство Cd²⁺ к тиольным группам белков (Серегин, Иванов, 2001), замена ионом кадмия иона цинка и других ионов в связывающих сайтах белков может вызывать ингибирование или изменение активности различных белков, вовлеченных в процессы метаболизма, а также ингибировать репарацию ДНК (Кулаева, Цыганов, 2010).

Таким образом, основной целью работы явилось изучение влияния Ni²⁺ и Cd²⁺ на изменчивость цитогенетических показателей сосны обыкновенной *Pinus sylvestris* L. В задачи исследования входило: выявить степень мутагенности этих металлов, сравнить полученные данные за

2 года исследования по таким показателям, как митотический индекс (МИ), патологии митоза (ПМ) и частота встречаемости клеток с микроядрами (МЯ), а также обсудить возможные механизмы выявленных патологий, вызванных действием Ni^{2+} и Cd^{2+} .

Материал и методика

Объектом исследований служили семена сосны обыкновенной *Pinus sylvestris* L., взятые из Усманского бора (территория Воронежского государственного биосферного заповедника), 22-й квартал, Красное лесничество. Собранные семена (в равных количествах) проращивали в чашках Петри на растворах нитрата кадмия (II) $Cd(NO_3)_2$ и гексагидрат нитрата никеля (II) $Ni(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ разной концентрации (от 0.5 до 50 мкМ, что соответствует значениям ПДК 11.241—1124.1 и 2.95—295 для Cd^{2+} и Ni^{2+} соответственно). Соли нитратов были выбраны не случайно, так как они легко растворимы в воде (как и все нитраты), и, ставя опыт, мы можем сравнивать влияние ионов металла (Cd^{2+} и Ni^{2+}), а не кислотного остатка. Контрольные семена проращивали на дистиллированной воде. Проростки с корешками, достигшими 0.5—1 см, фиксировали в 9 и 20 ч по московскому времени (пики митотической активности — МА — для сосны обыкновенной) в спиртово-уксусной смеси (3 части 96%-ного этилового спирта и 1 часть ледяной уксусной кислоты). В 2012 г. было приготовлено и проанализировано 120 микропрепаратов, в 2013 — 140. На каждом препарате анализировали около 1000 клеток.

Микропрепараты для изучения цитогенетических характеристик семенного потомства древесных растений готовили по модифицированной методике Буториной (Буторина и др., 2000). Для нескольких контрольных препаратов проводили обработку 1%-ным раствором колхицина в течение 5—6 ч при освещении и температуре 25—26 °С на пике пролиферативной активности. Препараты анализировали с помощью микроскопов Микмед-6 (ЛМО, Россия) и Primo Star (Carl Zeiss, Германия), используя объективы 40×. Микрофото съемку проводили с использованием видеокамеры DCM500 (Shangrao Tele-View Optical Instruments Co., Ltd., Китай) и AxioCam (Carl Zeiss, Германия).

Определяли следующие цитогенетические характеристики (Butorina et al., 2001): 1) МА меристематической ткани по МИ, который рассчитывали как отношение числа делящихся клеток к числу просмотренных (в %); 2) соотношение чисел клеток по стадиям митоза (в %); 3) общее число и спектр ПМ, которые рассчитывали как отношение числа клеток с нарушениями митоза к общему числу делящихся клеток (в %); 4) частота встречаемости интерфазных клеток с МЯ (отношение числа клеток с МЯ к общему числу интерфазных клеток в %).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы Stadia. Применяли *t*-критерий Стьюдента для выборок с нормальным распределением, а также *X*-критерий Ван-дер-Вардена при сравнении друг с другом независимых выборок.

Результаты и обсуждение

Митотическая активность (МА) в виде МИ определяет интенсивность роста. Помимо генетической

обусловленности этого показателя на его проявление могут оказывать значительное влияние и факторы внешней среды. Например, малые дозы радиации и химические мутагены в некоторых случаях стимулируют МА, а в некоторых — ингибируют. При этом ингибирование МА происходит при высоких уровнях стрессовых воздействий. Поскольку величина МИ в определенное время суток у конкретного вида достаточно устойчива, его изменение может отражать мутагенное действие на исследуемые объекты факторов среды (Машкина и др., 2009).

Результаты варьирования МИ в зависимости от концентрации Ni^{2+} и Cd^{2+} приведены в таблице. Как видно, с их увеличением уменьшается МИ для всех выборок. При сравнении МИ проростков семян сосны обыкновенной в разные годы (выборки 2012 и 2013 гг.) различия обнаружены в случае выборки для концентрации Ni^{2+} 0.5 мкМ ($P < 0.05$) и в случае выборок для концентраций Cd^{2+} 0.5 и 50 мкМ ($P < 0.05$).

Сравнение прохождения отдельных стадий митоза в 2012 и в 2013 гг. показывает, что в контрольном и опытных вариантах преобладает профазы (кроме контроля 2012 г., где незначительно преобладают телофаза и анафаза). Подобные изменения в течение деления клетки обычно наблюдаются при воздействиях, нарушающих синтез ДНК. В экспериментах 2012 г. доля профаз, метафаз и мета-анафаз (см. рисунок, а) возрастает, а доля анафаз и телофаз убывает (см. таблицу). В 2013 г. мы наблюдали аналогичные изменения (кроме метафаз, которые снижались по сравнению с контролем). Можно сделать предположение, что возрастание доли клеток, находящихся на стадиях профазы и мета-анафазы, является механизмом адаптации к стрессовым факторам и поддержания гомеостаза клеточной популяции проростков семян сосны обыкновенной.

В экспериментах 2013 г. число клеток на стадиях профазы и мета-анафазы также возрастает, тогда как количество телофаз с увеличением концентрации Ni^{2+} и Cd^{2+} уменьшается. Значительную долю клеток на стадии профазы можно объяснить как процесс повреждения хромосом, которые в дальнейшем не могут переходить на другую стадию, что может в свою очередь привести к возникновению различных патологий. Следует также отметить присутствие профазных клеток не только с различного рода нарушениями, но и с отчетливо различимыми хроматидами (см. рисунок, б), чего не наблюдается в контроле и что может привести к преждевременному их разделению. Это свидетельствует о явной задержке деления.

Патологии митоза (ПМ) ведут к возникновению хромосомных мутаций и неравномерному распределению хромосомного материала между дочерними ядрами. Это один из механизмов возникновения анеуплоидии и нарастания генетической гетерогенности клеточных популяций (Калашник, 2008). ПМ в контрольном варианте представлены отставаниями хромосом в метакинезе и анафаза (см. рисунок, в), мостами в анафаза (см. рисунок, г), фрагментациями хромосом (см. рисунок, д) и сложными (комплексными) нарушениями (их различными сочетаниями). Частота встречаемости ПМ в 2012 г. составила 2.2 ± 0.4 , а в 2013 — 1.3 ± 0.3 % (см. таблицу). Такие нарушения могли быть следствием спонтанного мутационного процесса в результате влияния погодных факторов или действия вторичных продуктов обмена веществ, образующихся в ходе нормальных метаболиче-

Влияние Ni²⁺ и Cd²⁺ в различных концентрациях на цитогенетические показатели *Pinus sylvestris* L.

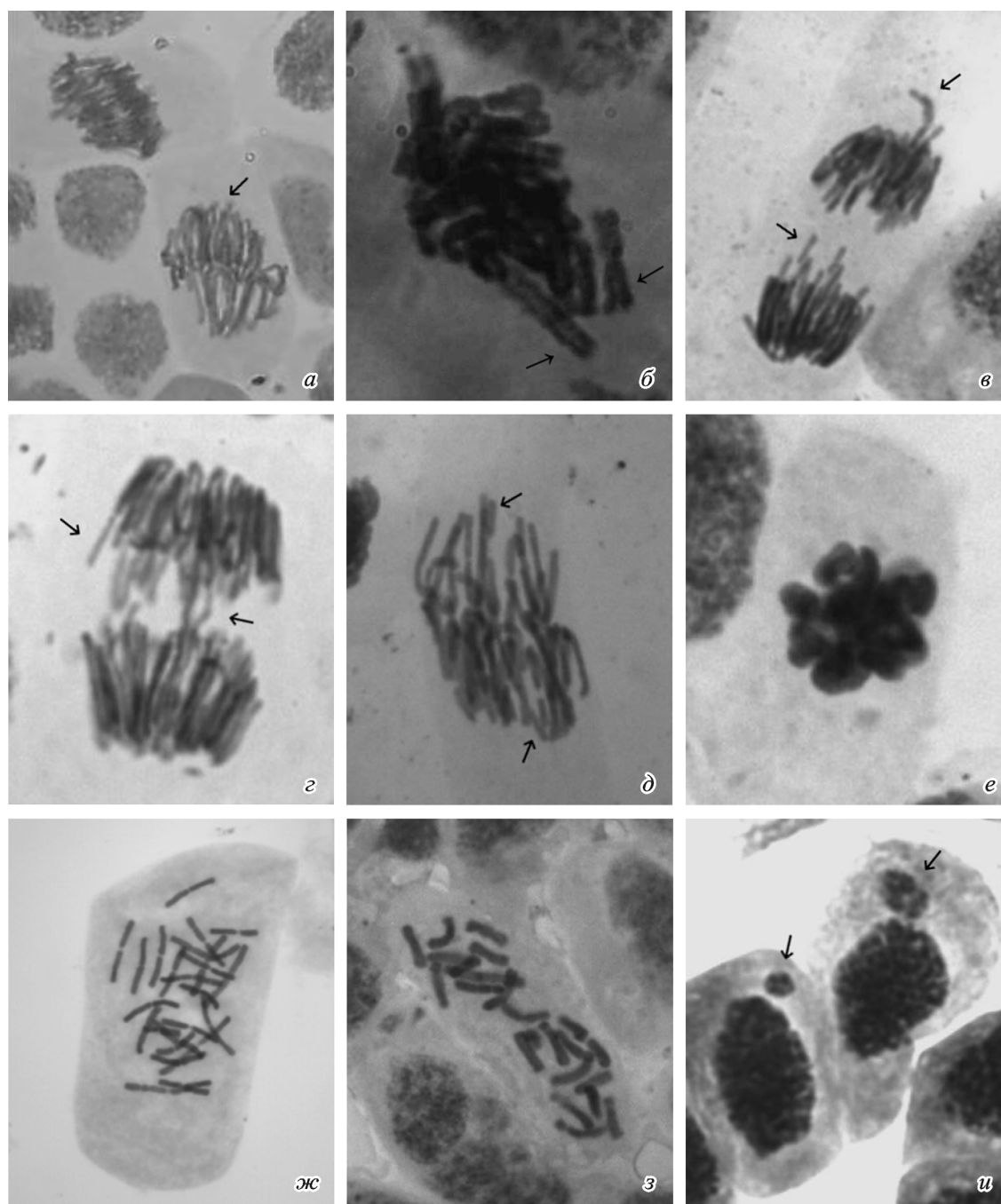
Показатель	Величина показателя, %						
	контроль	[Ni ²⁺]			[Cd ²⁺]		
		0.5 мкМ	5 мкМ	50 мкМ	0.5 мкМ	5 мкМ	50 мкМ
2012 г.							
МИ	10.7 ± 1.5	7.6 ± 0.8 ^a	7.7 ± 0.8 ^a	5.6 ± 0.6 ^b	7.5 ± 0.4 ^a	7.6 ± 1.8 ^a	5.7 ± 0.1 ^b
П	25.6 ± 2.1	50.4 ± 2.4 ^b	54.6 ± 4.5 ^b	46.0 ± 2.5 ^a	49.1 ± 2.6 ^b	54.2 ± 1.0 ^b	54.6 ± 1.8 ^b
М	16.1 ± 1.4	25.6 ± 2.1 ^a	23.2 ± 3.4 ^b	25.9 ± 1.4 ^a	25.8 ± 1.7 ^a	23.8 ± 0.9 ^b	21.4 ± 2.5 ^b
М-А	1.2 ± 0.1	1.9 ± 0.2	1.6 ± 0.5	2.4 ± 0.7 ^a	1.5 ± 0.5	1.8 ± 0.5	4.1 ± 0.4 ^b
А	27.3 ± 1.2	11.9 ± 1.3 ^a	13.3 ± 1.0 ^a	19.2 ± 0.1 ^a	12.8 ± 0.5 ^a	10.5 ± 0.6 ^b	12.8 ± 1.5 ^a
Т	29.8 ± 0.7	10.2 ± 1.3 ^b	7.3 ± 0.6 ^b	6.5 ± 0.2 ^b	10.8 ± 1.7 ^b	9.7 ± 1.5 ^b	7.1 ± 1.1 ^b
МЯ	0.12 ± 0.01	0.11 ± 0.03	0.23 ± 0.02 ^a	0.31 ± 0.05 ^a	0.16 ± 0.02	0.27 ± 0.03 ^a	0.39 ± 0.04 ^b
ПМ	2.2 ± 0.4	6.0 ± 0.6 ^b	6.7 ± 0.7 ^b	9.1 ± 0.9 ^b	4.5 ± 0.1 ^b	5.2 ± 0.4 ^b	6.1 ± 0.5 ^b
Типы ПМ							
ОХМ	61.9 ± 2.6	34.6 ± 1.9	35.7 ± 3.4	29.9 ± 1.6	36.4 ± 2.1	13.3 ± 0.9	15.1 ± 1.4
ОХА	12.5 ± 1.9	11.2 ± 1.4	9.5 ± 1.3	9.6 ± 1.4	18.2 ± 1.7	26.7 ± 1.7	5.9 ± 1.2
ХМ	13.8 ± 1.7	27.8 ± 1.4	21.4 ± 2.1	16.5 ± 1.5	27.3 ± 1.8	25.3 ± 1.8	41.2 ± 2.4
СН	11.2 ± 1.2	16.2 ± 1.2	19.1 ± 1.6	23.7 ± 2.1	6.8 ± 1.4	6.7 ± 0.5	7.9 ± 0.4
ФХ	0.6 ± 0.3	10.2 ± 1.0	14.3 ± 1.4	19.2 ± 1.9	11.3 ± 1.0	28.0 ± 1.8	25.7 ± 1.1
К-митоз	0	0	0	1.1 ± 0.5	0	0	4.2 ± 0.4
2013 г.							
МИ	10.9 ± 0.5	9.7 ± 0.4 ^b	8.2 ± 0.5 ^a	4.8 ± 0.2 ^b	9.3 ± 0.6 ^a	7.6 ± 0.5 ^a	4.7 ± 0.3 ^b
П	41.6 ± 2.0	57.2 ± 3.1 ^b	52.2 ± 2.5	70.1 ± 3.9 ^b	51.4 ± 3.8	50.4 ± 2.5	87.9 ± 2.4 ^b
М	25.7 ± 1.6	18.5 ± 1.7 ^b	24.7 ± 1.6	11.6 ± 1.8 ^a	20.3 ± 2.6	29.3 ± 2.7	2.7 ± 0.6 ^b
М-А	0.3 ± 0.4	2.0 ± 0.4 ^b	3.1 ± 0.5 ^b	1.5 ± 0.2	2.1 ± 0.4 ^b	2.2 ± 0.5 ^b	1.8 ± 0.8 ^a
А	18.9 ± 2.1	13.0 ± 1.4	10.6 ± 2.5 ^a	9.3 ± 2.6 ^a	12.6 ± 1.1 ^b	6.0 ± 1.0 ^b	4.3 ± 1.2 ^b
Т	13.5 ± 1.8	9.3 ± 2.3	9.4 ± 1.6	7.5 ± 1.4 ^a	13.6 ± 2.6	12.1 ± 1.9	3.3 ± 0.7 ^b
МЯ	0	0	0.01 ± 0.01	0.18 ± 0.05	0.12 ± 0.07	0.16 ± 0.02	0.22 ± 0.05
ПМ	1.3 ± 0.3	2.2 ± 0.5	2.9 ± 0.3 ^a	8.8 ± 1.8 ^b	3.5 ± 0.7 ^a	5.4 ± 1.7 ^a	13.4 ± 2.4 ^b
Типы ПМ							
ОХМ	44.1 ± 3.1	39.4 ± 1.8	29.0 ± 1.5	4.9 ± 0.4	29.2 ± 1.7	16.3 ± 1.4	2.8 ± 0.5
ОХА	5.6 ± 0.6	12.5 ± 1.2	5.1 ± 0.7	1.0 ± 0.3	8.1 ± 0.9	3.1 ± 0.8	3.0 ± 0.4
ХМ	41.8 ± 2.3	36.0 ± 1.6	53.6 ± 2.6	1.3 ± 0.3	31.7 ± 1.9	51.3 ± 2.0	4.5 ± 1.1
СН	4.6 ± 0.3	3.4 ± 0.8	3.7 ± 0.3	2.5 ± 0.4	10.6 ± 1.0	2.9 ± 0.4	0.7 ± 0.2
ФХ	3.9 ± 0.3	8.8 ± 0.9	8.7 ± 0.7	85.6 ± 1.8	15.0 ± 1.2	26.4 ± 1.1	80.1 ± 2.4
К-митоз	0	0	0	4.7 ± 0.4	0	0	8.9 ± 0.9

Примечание. П — профазы, М — метафазы, М-А — мета-анафазы, А — анафазы, Т — телофазы, ОХМ — отставание хромосом в метакинезе, ОХА — отставание хромосом в анафазе, ХМ — хромосомные и хроматидные мосты, СН — сложные нарушения, ФХ — фрагментация хромосом. Приведены средние результаты подсчета 120 (2012 г.) и 140 (2013 г.) препаратов, на каждом из которых считали по 1000 клеток. Различия с контролем достоверны при $P < 0.01$ (^a), $P < 0.001$ (^b) и $P < 0.05$ (^б).

ских процессов в организме. Эти изменения в большинстве случаев исправляются репарационными системами клетки. Также следует отметить, что значение ПМ не превышает уровня спонтанного мутирования для средней полосы России — 5 % (Butorina et al., 2001).

В экспериментах по действию Ni²⁺ и Cd²⁺ частота встречаемости ПМ увеличивалась (см. таблицу). Преобладающими нарушениями в спектре ПМ в 2012 и 2013 гг. являются отставания хромосом в метакинезе, мосты и сложные нарушения. Аномалии, связанные с расхождением одиночных хромосом — отставания хромосом в метакинезе и анафазе, а также выбросы, вероятно, обуслов-

лены повреждением центромерного участка хромосомы. Образование мостов может быть связано с наличием в кариотипе дицентрической хромосомы или со слипанием теломерных участков хромосом, однако точно установить причину аномалии не всегда представляется возможным (Горячкина, Сизых, 2012). При увеличении концентрации Ni²⁺ и Cd²⁺ (особенно Cd²⁺ в 2013 г.) мы преимущественно наблюдаем такие нарушения, как фрагментации и агглютинации хромосом (см. рисунок, е) и появление К-митозов (см. рисунок, з). Фрагментация хромосом является признаком разрушения их структуры, связанного с лизированием ферментами молекул ДНК, и



Митоз у *Pinus sylvestris* L. в контроле (а, ж) и с нарушениями в результате действия тяжелых металлов (б–е, з, и).

а — мета-анафаза в сравнении с метафазой (стрелка); б — отчетливо видны пары хроматид у конденсированных хромосом в профазе (стрелки); в — отставание хромосом в метакинезе и анафазе (стрелки); г — мосты и фрагменты хромосом (стрелки); д — фрагментация хромосом в метафазе (стрелки); е — агглютинация хромосом в профазе; ж — К-митоз в контрольной клетке, искусственно вызванный колхицином ($2n = 24$); з — К-митоз в клетке при действии Cd^{2+} , 50 мкМ ($2n = 24$); и — микродра (стрелки). Об. 40×.

служит показателем нестабильности генома (Stevens et al., 2007). Агглютинация хромосом (в зависимости от характера агглютинаций мы их относили либо к сложным нарушениям, либо к К-митозам) — нарушение, при котором хромосомы утрачивают правильные очертания и, склеиваясь поверхностями, образуют неправильные комковатые массы. Расхождения хромосом не происходит, и клетки часто гибнут (Муратова, Седельникова, 2004). К-митоз характеризуется дезорганизацией микротрубочек митотического аппарата и задержкой разделе-

ния кинетохоров. Следует отметить, что мы не проводили какой-либо предобработки проростков, например колхицином, и не обнаружили нарушений нормального уровня плоидности у сосны обыкновенной ($2n = 24$). Однако сравнение К-митозов, вызванных тяжелыми металлами, с К-митозами, вызванными колхицином (см. рисунок, ж) в нескольких контрольных препаратах, отчетливо показывает разницу в структуре хромосом, а именно сильную спирализацию и конденсацию под действием металлов.

Сравнение индекса ПМ проростков семян сосны обыкновенной в разные годы (2012 и 2013 гг.) показывает, что различия достоверны между выборками в случае действия Ni^{2+} в концентрациях 0.5 и 5 мкМ ($P < 0.001$) и в случае Cd^{2+} в концентрациях 0.5 и 50 мкМ ($P < 0.05$ и $P < 0.01$ соответственно). Все без исключения выборки различаются по показателю ПМ от контроля для 2 лет исследования. Кроме того, из полученных данных (см. таблицу) отчетливо видно, что чувствительность клеток к различного рода металлам оказалась неодинаковой. Так, в 2012 г. большую мутагенность проявил Ni^{2+} , а в 2013 г. — Cd^{2+} . Это можно объяснить различиями погодных условий в исследуемые годы.

Частота встречаемости клеток с МЯ. Микроядерный тест является косвенным методом оценки наличия хромосомных повреждений. В контрольном варианте частота клеток с МЯ (см. рисунок, и) составила $0.12 \pm 0.01\%$ в 2012 г., тогда как в 2013 г. МЯ не обнаружили вообще. Доля МЯ возрастает с увеличением концентрации Ni^{2+} и Cd^{2+} , что свидетельствует о наличии значительного числа нерепарированных повреждений хромосомного материала и ведет к цитогенетической нестабильности клеточных популяций (Машкина и др., 2009).

В целом по результатам полиморфизма цитогенетических показателей (доля клеток на стадиях профазы и мета-анафазы, индекс ПМ, частота встречаемости клеток с МЯ) отмечено негативное влияние погодных условий в исследуемые годы на семенное потомство *P. sylvestris* L. как в контроле, так и в эксперименте.

С увеличением концентрации Ni^{2+} и Cd^{2+} происходит снижение МИ и одновременное возрастание доли клеток на стадиях профазы и переходной мета-анафазы. Это явление можно объяснить как процесс повреждения хромосом, которые в дальнейшем не могут переходить на другую стадию, что может в свою очередь привести к возникновению различных патологий. В то же время не исключена возможность значительного угнетения полимеризации микротрубочек веретена деления (из-за связывания с металлом). В результате у клетки может появиться дополнительное время для работы систем репарации. Также следует отметить, что в максимальных концентрациях тяжелые металлы начинают проявлять свойства, подобные фиксаторам (полностью блокируют деление на стадии профазы, доля которой в таком случае превышает 70—80 %).

При увеличении концентрации Ni^{2+} и Cd^{2+} (особенно Cd^{2+} в 2013 г.) мы наблюдаем нехарактерные для контроля нарушения, такие как фрагментации и агглютинации хромосом и особенно появление К-митозов. Фрагментации хромосом являются признаком разрушения их структуры, связанного с лизированием ферментами молекул ДНК, и служат показателем нестабильности генома, а К-митоз характеризуется дезорганизацией микротрубочек митотического аппарата и задержкой разделения кинетохоров и в свою очередь может приводить к полиплоидии, но нами она не выявлена.

Количество клеток с МЯ у *P. sylvestris* L., обработанных Cd^{2+} , больше, чем в клетках, обработанных Ni^{2+} (см. таблицу), что также подтверждает его (Cd^{2+}) большую мутагенность (наряду с индексом ПМ). По частоте встречаемости интерфазных клеток с МЯ у проростков семян сосны обыкновенной выборки за 2 года различаются во всех случаях. Этот факт подтверждает сделанные выше выводы по другим цитогенетическим показателям.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта СПбГУ 1.50.1041.2014.

Список литературы

Батова Ю. В., Титов А. Ф., Казнина Н. М., Лайдинен Г. Ф. 2012. Накопление кадмия и его распределение по органам у растений ячменя разного возраста. Труды КарНЦ РАН. 2 : 32—37. (Batova Yu. V., Titov A. F., Kaznina N. M., Laidinen G. F. 2012. Cadmium accumulation and distribution in barley plants depending on their age. Trudy KarNTS RAN. 2 : 32—37. (In Russian).)

Буторина А. К., Калаев В. Р., Вострикова Т. В., Мягкова О. Е. 2000. Цитогенетическая характеристика семенного потомства некоторых видов древесных растений в условиях антропогенного загрязнения г. Воронежа. Цитология. 42 (2) : 196—201. (Butorina A. K., Kalayev V. N., Vostrikova T. V., Myagkova O. Ye. 2000. Cytogenetic characterization of some species of woody plants seed progeny in the conditions of anthropogenic pollution of Voronezh. Tsitologiya. 42 (2) : 196—201. (In Russian).)

Горячкина О. В., Сизых О. А. 2012. Цитогенетические реакции хвойных растений в антропогенно нарушенных районах г. Красноярск и его окрестностей. Хвойные бореальной зоны. 30 (1—2) : 46—51. (Goryachkina O. V., Sizykh O. A. 2012. Cytogenetic reaction conifers in anthropogenically disturbed district of Krasnoyarsk and its environs. Khvoynyye boreal'noy zony. 30 (1—2) : 46—51. (In Russian).)

Евсеева Т. И., Белых Е. С., Майстренко Т. А. 2005. Закономерности индукции цитогенетических эффектов у растений при действии тяжелых металлов. Вестник Института биологии Коми НЦ УрО РАН. 87 (1) : 4—13. (Yevseyeva T. I., Belykh Ye. S., Maystrenko T. A. 2005. Regularities of induction of cytogenetic effects in plants under the action of heavy metals. Vestnik Instituta Biologii Komi NTS UrO RAN. 87 (1) : 4—13. (In Russian).)

Калашник Н. А. 2008. Хромосомные нарушения как индикатор оценки степени техногенного воздействия на хвойные насаждения. Экология. 4 : 276—286. (Kalashnik N. A. 2008. Chromosome aberrations as indicator of technogenic impact on conifer stands. Russ. J. Ecol. 39 (4) : 261—271.)

Калугина О. В., Михайлова Т. А., Тараненко Е. Н. 2013. Сосна обыкновенная как биоиндикатор состояния техногенно загрязняемых лесных экосистем Байкальского региона. Известия ОГАУ. 1 : 11—13. (Kalugina O. V., Mikhaylova T. A., Taranenko Ye. N. 2013. Scotch pine as an indicator of technogenically polluted forest ecosystems of Baikal region. Izvestiya OGAU. 1 : 11—13. (In Russian).)

Кожневникова А. Д., Серегин И. В., Быстрова Е. И., Беляева А. И., Катаева М. Н., Иванов В. Б. 2009. Влияние нитратов свинца, никеля и стронция на деление и растяжение клеток корня кукурузы. Физиол. раст. 56 (2) : 268—277. (Kozhevnikova A. D., Seregin I. V., Byistrova E. I., Belyaeva A. I., Kataeva M. N., Ivanov V. B. 2009. The effects of lead, nickel, and strontium nitrates on cell division and elongation in maize roots. Russ. J. Plant Physiol. 56 (2) : 242—250.)

Кузнецова Т. Ю., Ветчинникова Л. В., Титов А. Ф., Ильина М. К. 2008. Влияние кадмия на состав жирных кислот липидов в побегах карельской березы *in vitro*. Физиол. раст. 55 (5) : 731—737. (Kuznetsova T. Yu., Vetchinnikova L. V., Titov A. F., Il'inova M. K. 2008. Effect of cadmium on fatty acid composition of lipids in the shoots of karelian birch cultured *in vitro*. Russ. J. Plant Physiol. 55 (5) : 657—662.)

Кулаева О. А., Цыганов В. Е. 2010. Молекулярно-генетические основы устойчивости высших растений к кадмию и его аккумуляции. Экол. генет. 2010. 8 (3) : 3—5. (Kulayeva O. A., Tsyganov V. Ye. 2010. Molecular-genetic basis of higher plants tolerance to, and accumulation of cadmium. Ecol. Genet. 8 (3) : 3—15. (In Russian).)

Малева М. Г., Некрасова Г. Ф., Безель В. С. 2004. Реакция гидрофитов на загрязнение среды тяжелыми металлами. Эко-

логия. 4 : 266—272. (Maleva M. G., Nekrasova G. F., Bezel' V. S. 2004. The response of hydrophytes to environmental pollution with heavy metals. Russ. J. Ecol. 35 (4) : 230—235.)

Машкина О. С., Калаев В. Н., Мурая Л. С., Лепикова Е. С. 2009. Цитогенетические реакции семенного потомства на комбинированное антропогенное загрязнение в районе Новолипецкого металлургического комбината. Экол. генет. 8 (3) : 17—29. (Mashkina O. S., Kalayev V. N., Muraya L. S., Lepikova Ye. S. 2009. Cytogenetic response of seed progeny of scots pine to combined anthropogenic pollution in the area of Novolipetsk metallurgical combine. Ekol. genet. 8 (3) : 17—29. (In Russian).)

Муратова Е. Н., Седельникова Т. С. 2004. Геномные и хромосомные мутации у сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в экстремальных условиях произрастания. Хвойные бореальной зоны. 22 (1—2) : 143—148. (Muratova Ye. N., Sedel'nikova T. S. 2004. Genome and chromosomal *Pinus sylvestris* mutations in the extreme growing conditions. Khvoynyye boreal'noy zony. 22 (1—2) : 143—148. (In Russian).)

Серегин И. В., Иванов В. Б. 2001. Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения. Физиол. раст. 48 (4) : 606—630. (Seregin I. V., Ivanov V. B. 2001. Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. Russ. J. Plant Physiol. 48 (4) : 523—544.)

Серегин И. В., Кожневникова А. Д., Казюмина Е. М., Иванов В. Б. 2003. Токсическое действие и распределение никеля в корнях кукурузы. Физиол. раст. 50 (5) : 793—800. (Seregin I. V., Kozhevnikova A. D., Kazymina E. M., Ivanov V. B. 2003. Nickel toxicity and distribution in maize roots. Russ. J. Plant Physiol. 50 (5) : 713—717.)

Сибиркина А. Р. 2013. Содержание кадмия в органах сосны обыкновенной ленточных боров приртышья Республики Казахстан. Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2 : 130—137. (Sibirkina A. R. 2013. The cadmium concentration in the bodies of *Pinus sylvestris* irtysch pine forests of the republic of Kazakhstan. Vestnik VGU. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya. 2 : 130—137. (In Russian).)

Сухарева Т. А. 2012. Элементный состав листьев древесных растений в условиях техногенного загрязнения. Химия в интересах устойчивого развития. 20 (3) : 369—376. (Sukhareva T. A. 2012. Elemental composition of the leaves of wood plants under the conditions of technogenic pollution. Khimiya v interesakh ustoychivogo razvitiya. 20 (3) : 369—376. (In Russian).)

Титов А. Ф., Таланова В. В., Казнина Н. М., Лайдунен Г. Ф. 2007. Устойчивость растений к тяжелым металлам. Петрозаводск: КарНЦ РАН. 170 с. (Titov A. F., Talanova V. V., Kaznina N. M., Laydinen G. F. 2007. The resistance of plants to heavy metals. Petrozavodsk: KarNTS RAN. 170 p. (In Russian).)

Боторина А. К., Калаев В. Н., Мironov А. Н., Smorodina V. A., Mazurova I. E., Doroshev S. A., Sen'kevich E. V. 2001. Cytogenetic variation in populations of Scotch pine. Russ. J. Ecol. 32 (3) : 198—202.

Clemens S. 2006. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. Biochimie. 88 : 1707—1719.

Meharg A. A. 2005. Mechanisms of plants resistance to metal and metalloids and potential biotechnological applications. Plant Soil. 274 : 163—174.

Prus-Głowacki W., Chudzińska E., Wojnicka-Poltorak A., Kozacki L., Fagiewicz K. 2006. Effects of heavy metal pollution on genetic variation and cytological disturbances in the *Pinus sylvestris* L. population. J. Appl. Genet. 47 (2) : 99—108.

Sluchyk V., Cluchyuk I., Shyichuk A. 2014. Assessment of both environmental cytotoxicity and tracemetal pollution using *Populus simonii* Carr. as a bioindicator. Environ. Monit. Assess. 186 (10) : 6645—6650.

Stevens J. B., Liu G., Bremer S. W., Ye K. J., Xu W., Xu J., Sun Y., Wu G. S., Savasan S., Krawetz S. A., Ye C. J., Heng H. H. Q. 2007. Mitotic cell death by chromosome fragmentation. Cancer Res. 67 : 7686—7694.

Поступила 10 III 2015

CYTOGENETIC RESPONSE OF SCOTS PINE (*PINUS SYLVESTRIS* L.) TO CADMIUM AND NICKEL

M. V. Belousov^{1,*}, O. S. Mashkina²

¹ St. Petersburg State University, 199034, and ² Voronezh State University, 394006;

* e-mail: belousovmix@gmail.com

We studied cytogenetic polymorphism of the seeds of *Pinus sylvestris* L. in response to heavy metals exposure in laboratory settings over 2 years' time. We compared results obtained from the seedlings of different years: 2012 and 2013. With an increase in Ni²⁺ and Cd²⁺ concentration we observed a decrease in mitotic activity with concurrent rise in the percentage of cells in the prophase. This fact demonstrates the heavy metals act similar to both fixatives and substances that block cleavage spindle formation. In terms of pathological mitosis and the frequency of micronuclei cells, Cd²⁺ shows higher mutagenity compared to Ni²⁺. In addition, in the experimental samples, we have distinguished abnormalities such as fragmentations and agglutinations of chromosomes and especially C mitosis occurrence, which are not observed in the control.

Key words: cadmium, C mitosis, micronuclei, mitotic activity, nickel, mitosis abnormalities, Scots pine, heavy metals.