

На правах рукописи



**ЕРМОЛАЕВА Олеся Владимировна**



**ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ НАСАЖДЕНИЙ СОСНЫ  
ОБЫКНОВЕННОЙ ЦНИНСКОГО, УСМАНСКОГО БОРОВ И НЕКОТОРЫХ  
УРБОЭКОСИСТЕМ (НА ПРИМЕРЕ Г. ВОРОНЕЖА)**

Специальность 03.00.16 – экология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

23 АРП 2009

Воронеж – 2009

Работа выполнена на кафедре генетики, цитологии и биоинженерии  
Воронежского государственного университета

Научный руководитель: доктор биологических наук,  
профессор **Буторина Анастасия Константиновна**

Официальные оппоненты: доктор географических наук,  
профессор **Григорьевская Анна Яковлевна**

кандидат биологических наук,  
**Семилетова Вера Алексеевна**

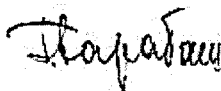
Ведущая организация: ФГУП «Научно-исследовательский институт лесной генетики  
и селекции» (ФГУП НИИЛГиС)

Защита состоится « 13 » мая 2009 г. в 14.00 часов на заседании диссертационного  
совета Д. 212.038.05 при Воронежском государственном университете по адресу:  
394006 г. Воронеж, Университетская пл., 1, ауд. 59

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ВГУ

Автореферат разослан « 10 » апреля 2009 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета к.б.н., доцент



Барабаш Г.И.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Леса – важнейшие компоненты экосистем, от состояния которых в значительной степени зависит здоровье человека. Изменение среды обитания человека, связанное, прежде всего, с ее загрязнением, влечет за собой ряд негативных последствий, в том числе и рост заболеваемости населения. В этих условиях необходимо проведение комплекса эффективных природоохранных мероприятий, препятствующих развитию негативных природных процессов. Эффективность такого рода мероприятий можно оценить в процессе проведения экологического мониторинга, предусматривающего наблюдение за состоянием природной среды, в частности за состоянием экосистем, контроль и прогнозирование последствий хозяйственной деятельности человека. Особое место в системе экологического мониторинга принадлежит цитогенетическим методам анализа, оценивающим влияние факторов стресса непосредственно на генетический аппарат организма. В качестве тест-объектов удобно использовать древесные растения особенно местные виды, более приспособленные к условиям произрастания. Важным при этом является изучение внутривидовой изменчивости насаждений, выбранных в качестве тест-объектов, в связи, с чем необходимо оценить различные по происхождению лесные массивы для получения целостной картины состояния популяции. Цитогенетические показатели организмов позволяют судить о состоянии популяции, на основании чего можно делать выводы о генетической стабильности вида в целом и о состоянии среды его обитания.

Одной из основных лесообразующих пород в ЦЧР является сосна обыкновенная. В Воронежской области имеются участки аутохтонных насаждений в Усманском и Хреновском борах, в Тамбовской области в Цнинском бору. В соответствии с Лесным кодексом РФ они выделены в качестве особо ценных лесов и служат источниками семян для лесовосстановительных работ в Воронежской, Тамбовской и других областях. Природные первичные (аутохтонные) леса обладают рядом весьма ценных свойств, которые присущи не в полной мере и не всем искусственно создаваемым лесонасаждениям. Поэтому важно правильно оценить, прежде всего, состояние природных лесов и в соответствии с этим установить надлежащее отношение к ним и способы их восстановления.

Цитогенетический мониторинг различных лесонасаждений проводится на кафедре генетики ВГУ уже более 10 лет, в частности мониторинг Усманского бора – наиболее крупного лесного массива Воронежской области. Настоящая работа служит очередным этапом таких исследований, с одной стороны, а также включает данные цитогенетического мониторинга Цнинского бора. Также мы приводим данные цитогенетического изучения насаждений сосны урбозкосистемы парка Советского района г.Воронежа, в связи с тем, что эти культурные насаждения выращены из семян, полученных из Усманского бора. Очень важно проводить как можно более широкие мониторинговые исследования лесов для составления целостной картины состояния лесных ресурсов нашей страны. Этому и посвящена данная работа.

**Цель** работы состояла в цитогенетической оценке состояния насаждений различного происхождения сосны обыкновенной из Усманского и Цнинского боров по показателям митоза у семенного потомства произрастающих там деревьев и охарактеризовать экологическую ситуацию в местах их произрастания.

**Задачами** наших исследований являлось:

1) изучение семенного потомства деревьев сосны обыкновенной из насаждений разного происхождения и условий произрастания на территории Усманского бора по следующим цитогенетическим показателям: митотической активности, патологиям митоза, частоте встречаемости микроядер, ядрышковой активности;

2) изучение цитогенетических характеристик семенного потомства сосны обыкновенной Цнинского бора (по сходной схеме);

3) изучение цитогенетических характеристик семенного потомства сосны на площадях, испытывающих антропогенное воздействие (по тем же показателям);

4) проведение сравнительной оценки изменчивости цитогенетических показателей у семенного потомства сосны из насаждений Усманского и Цнинского боров;

5) оценка состояния аутохтонных насаждений Усманского и Цнинского боров по цитогенетическим показателям семенного потомства деревьев сосны обыкновенной и характеристика экологической ситуации в местах произрастания исследуемых насаждений (в соответствии с балльной шкалой В.М. Захарова).

б) оценка состояния насаждений урбосистемы (Советский р-н г.Воронежа) в сравнении с насаждениями Усманского бора (в соответствии с балльной шкалой В.М. Захарова).

**Научная новизна работы.** Впервые дана оценка состояния лесов Цнинского бора по цитогенетическим показателям семенного потомства деревьев сосны обыкновенной. Выполнен сравнительный анализ цитогенетических показателей семенного потомства деревьев из различных по происхождению насаждений сосны из Цнинского бора (аутохтонных и культур) в сравнении с результатами исследования различных по происхождению насаждений сосны из Усманского бора. Получены данные мониторинговых исследований различных по происхождению лесов Усманского бора по цитогенетическим показателям в условиях различной рекреационной нагрузки. Дана оценка состояния насаждений урбосистемы Советского района г. Воронежа в сравнении с насаждениями сосны Усманского бора.

**Теоретическая значимость.** Установлен невысокий уровень цитогенетической изменчивости у деревьев сосны, произрастающих в экологически благоприятных условиях, что служит доказательством, полученным на клеточном уровне, широкой нормы реакции и адаптивности вида к колебаниям внешней среды. Экстремальные условия произрастания – загазованность, загрязнение почвы, сильная рекреационная нагрузка, как показали результаты цитогенетического изучения сосны в городских насаждениях, – вносят основной вклад в процесс ее изменчивости.

**Практическая значимость.** Дана оценка качества семенного материала по его цитогенетическим показателям деревьев сосны обыкновенной Усманского бора из

насаждений разного происхождения (аутохтонные, культуры и самосев). Семена, собранные в аутохтонных насаждениях и в культурах высокопродуктивных насаждений, полученных из семян местного происхождения, по цитогенетическим показателям можно оценить как качественные и пригодные для использования в лесовосстановительных работах. Семена деревьев, выросших из самосева сосны, а также из районов с повышенной антропогенной нагрузкой, следует признать нежелательными для лесовосстановительных работ в связи со значительными нарушениями их генетического аппарата.

Показана целесообразность проверки качества семян методами цитогенетического анализа, которые позволяют судить о степени стабильности генома семенного потомства деревьев сосны. На основании изучения полученных цитогенетических данных можно признать состояние насаждений Усманского и Цнинского боров (аутохтонных и культур) удовлетворительным.

#### **Положения, выносимые на защиту**

1. По цитогенетическим характеристикам семенного потомства аутохтонных насаждений и культур сосны обыкновенной Цнинского и Усманского боров можно судить о том, что состояние этих лесных массивов является удовлетворительным, несмотря на то, что присутствие в клетках некоторых индивидов микроядер является сигналом начинающихся негативных изменений их генетического аппарата. Наблюдаемые различия по цитогенетическим показателям у семенного потомства сосны обыкновенной аутохтонных насаждений из Усманского и Цнинского бора находятся в пределах нормальной изменчивости этих показателей, а отсутствие достоверных различий по цитогенетическим показателям семенного потомства культур сосны обыкновенной из Цнинского бора с аутохтонными насаждениями Усманского бора (контроль) свидетельствует о возможности использования таких культур в качестве источников семян.

2. Более низкое значение показателя МИ и более высокое значение показателя ПМ у семенного потомства сосны обыкновенной от самосева в Усманском бору по сравнению с таковыми из естественных насаждений могут быть следствием низкого качества исходного семенного материала, обусловленного, возможно, неблагоприятными погодными условиями в период заложения генеративных органов у материнских деревьев, поскольку урожай семян сосны создается под влиянием комплекса метеорологических условий, воздействующих на различные генетические структуры и этапы развития семени.

3. Наибольшее число цитологических нарушений встречается в клетках семенного потомства сосны обыкновенной паркового насаждения Советского района г. Воронежа, где экологическая ситуация наиболее неблагоприятная из исследованных нами районов.

**Апробация работы.** Материалы диссертации были представлены на международном совещании «Кариология, кариосистематика и молекулярная систематика растений» (Санкт-Петербург, 2005), на международном совещании

«Современные проблемы интродукции и сохранения биоразнообразия» (2007 г.), а также на научных конференциях ВГУ (2005, 2006 и 2007).

За статью, написанную по материалам диссертации, получен диплом лауреата конкурса Министерства природных ресурсов РФ «Рациональное природопользование и охрана окружающей среды – стратегия устойчивого развития России в XXI веке» (2006).

Часть исследований выполнялась в рамках и при частичной финансовой поддержке НИОКР Федерального агентства по науке и инновациям «Цитогенетические реакции древесных растений (на примере лиственных и хвойных) на стрессовые условия, обусловленные антропогенным загрязнением, и оценка генотоксичности окружающей среды для человека по цитогенетическим показателям древесных растений» (государственный контракт № 02.512.11.2130).

**Публикации.** Результаты диссертационной работы представлены в 8 публикациях, в том числе в журналах «Известия РАН» и «Успехи современной биологии».

**Объем и структура.** Диссертация состоит из введения, 7 глав, заключения и списка литературы, включающего 306 наименований. Работа содержит 139 страницы, 12 таблиц и 31 рисунок.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **1. Мониторинг лесных экосистем как подсистема экологического мониторинга. Понятие экологической ситуации**

Мониторинг лесных экосистем - подсистема экологического мониторинга биосферы, осуществляющая постоянное слежение за состоянием и уровнем антропогенных изменений лесных сообществ на фоне естественной динамики.

При этом наиболее информативным может оказаться цитогенетический метод, позволяющий отслеживать генетические изменения до их проявления в фенотипе. Задача лесного мониторинга состоит прежде всего в том, чтобы вовремя сигнализировать о всех случаях, когда антропогенные нагрузки на лесные ценозы превышают допустимую норму, порог устойчивости, после которого наступают необратимые процессы деградации, когда возникает опасность резкого снижения продуктивности сообществ, создается угроза вымирания редких и ценных видов растений и животных. На основе получаемой в результате мониторинговых исследований информации дается оценка экологической ситуации в регионе. Экологическая ситуация понимается как пространственно-временное сочетание различных, в том числе позитивных и негативных с точки зрения проживания и состояния человека условий и факторов, создающих определённую экологическую обстановку на территории разной степени благополучия или неблагополучия.

На территории ЦЧО цитогенетический мониторинг лесов проводится в течение ряда лет. Ведется исследование состояния Усманского и Хреновского боров в Воронежской области при использовании в качестве тест-объекта сосны обыкновенной. Однако необходимость более полного исследования лесов России

послужила основанием для расширения исследованных лесных площадей, что и было сделано нами, включив в число объектов исследования сосну обыкновенную из Цнинского бора Тамбовской области.

## **2. Сосна обыкновенная как объект для цитогенетического мониторинга в ЦЧР**

Сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.) занимает обширный ареал на территории России и является одной из основных лесообразующих пород в Воронежской и Тамбовской областях (Чернодубов, 1998). В работе приводятся данные по систематике сосны обыкновенной, цитологии, генетике и хозяйственному значению вида, а также возможность использования его в качестве тест-объекта для цитогенетического мониторинга (Муратова, Седельникова, 1993; Калашник, Преснухина, Лихонос, 1992).

## **3. Леса ЦЧР. Рекреационная функция лесов**

По данным учета лесного фонда, наибольшую лесопокрытую площадь в ЦЧО имеют Воронежская и Тамбовская области. Здесь расположены крупные лесные массивы ЦЧР — Цнинский бор (Тамбовская обл.), Усманский и Хреновской боры (Воронежская обл.). На насаждения данных лесных массивов в разной степени оказывается рекреационная нагрузка.

## **4. Материал и методика**

Материалом для наших исследования служили семена сосны обыкновенной от свободного опыления. Проращивание семян, фиксацию проростков и изготовление микропрепаратов осуществляли по методике, общепринятой на кафедре (Butořina, Evstratov, 1996). Просмотр микропрепаратов проводили с помощью микроскопа "Laboval" Zeiss Jena при увеличении 40x7x2,5. Просматривали не менее 900 клеток с каждого препарата и учитывали следующие цитологические показатели, как отражающие состояние генетического аппарата организмов: митотическую активность (МА) меристематической ткани по митотическому индексу в ее пик, приходящийся на 9 часов утра по зимнему времени; общее число патологий митоза (ПМ) и наиболее характерные типы митотических нарушений по каждой стадии. Определяли также число клеток с определенным числом ядрышек в интерфазе и долю клеток с тем или иным их числом как показатель интенсивности клеточного метаболизма. Проводили учет частоты встречаемости клеток с микроядрами, т.к. этот показатель позволяет судить о наличии нерепарированных повреждений хромосом, а следовательно, об ухудшении условий окружающей среды. Микрофотосъемку проводили на микроскопе Orthoplan Leitz с помощью цифровой фотокамеры DFC-280.

В Усманском бору проводился мониторинг аутохтонных насаждений сосны обыкновенной в Воронежском лесхозе, культур и самосева в Сомовском лесхозе. В пределах Цнинского бора исследовали состояние аутохтонных насаждений и культур сосны Перкинского лесхоза. В пределах Воронежа исследовали состояние культур сосны паркового насаждения Советского района.

Статистическая обработка полученных экспериментальных данных проводилась по Лакину (1990) и с использованием программы Statistica. Сравнение выборок по показателю МИ проводили с использованием t-критерия Стьюдента, по критериям патологий митоза, встречаемости микроядер в интерфазных клетках-осуществляли с помощью теста Манна-Уитни. Чтобы оценить влияние факторов региона и происхождения на цитогенетические показатели проростков сосны обыкновенной, проводили двухфакторный дисперсионный анализ.

## 5. Результаты и обсуждение

### 5.1. Цитогенетическая характеристика семенного потомства сосны обыкновенной насаждений Усманского бора

В пределах Усманского бора мы исследовали семена, полученные из насаждений аутохтонного типа, культур и самосева. В исследованных вариантах не было обнаружено отклонений по числу хромосом ( $2n=24$ ).

#### 5.1.1. Цитогенетическая характеристика семенного потомства сосны обыкновенной из аутохтонных насаждений Усманского бора

Колебания цитогенетических показателей иллюстрируют рис.1 и рис. 2. Средние показатели МИ у сосны в годы исследований достаточно близкие и сходны с наблюдаемыми ранее у сосны того же аутохтонного насаждения, среднее значение  $МИ=7,6\pm 0,1\%$ . Однако абсолютные значения МИ у отдельных индивидов варьировали от 6,0 до 8,9 % (табл.1). По среднему значению  $ПМ=1,2\pm 0,2\%$  результаты укладываются в норму для сосны обыкновенной, являясь, таким образом, отражением спонтанного естественного мутационного процесса в насаждении.

Таблица 1.

Цитогенетические показатели семенного потомства сосны аутохтонных насаждений Усманского бора

Популяция	Общее число просм. клеток	Число дел-ся клеток	МИ, %	Стадии митоза			ПМ, %	% микроядер
				П%	М%	А+Т%		
2003	21886	1707	7,7±0,1	20,9±1,9	37,9±1,3	41,1±1,8	1,4±0,4	0,01±0,007
2004	26995	2061	7,5±0,1	9,9±0,9	36,4±1,9	53,8±1,8	1,0±0,2	0,02±0,008
Ср	48881	3768	7,6±0,1	15,6±1,3	37,2±1,1	47,2±1,5	1,2±0,2	0,02±0,005

Наличие нерепарированных повреждений хромосом приводит к образованию микроядер. В предыдущие годы их не наблюдалось у сосны обыкновенной из аутохтонных насаждений Усманского бора. В настоящее время незначительным их



числом ( $0,02\% \pm 0,008$ ) можно еще пренебречь, но это уже свидетельствует о недостаточной работе систем репарации.

Рис. 1. Колебания показателей МИ у семенного потомства деревьев сосны из аутохтонного насаждения Воронежского лесхоза Усманского бора

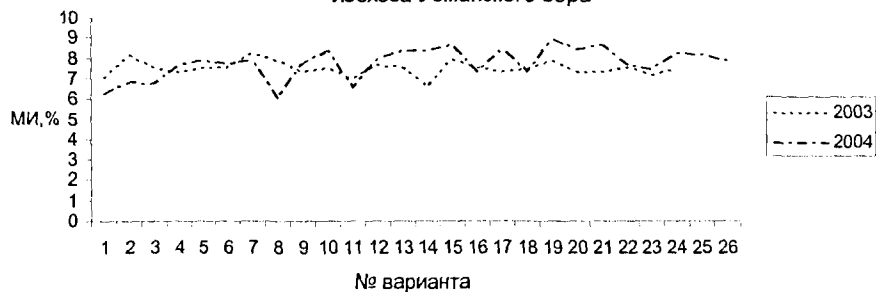
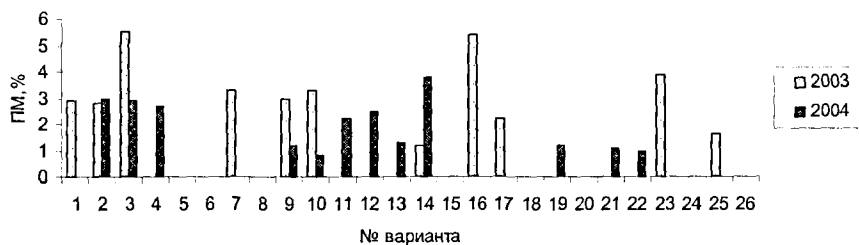


Рис. 2. Колебания показателя ГМ у семенного потомства деревьев сосны из аутохтонного насаждения Воронежского лесхоза Усманского бора



клеток, причиной чему может быть глобальное загрязнение атмосферы, повлиявшее и на лесные массивы, даже удаленные от источника загрязнения.

Присутствие микроядер, по данным Ильинских и др. (1992), служит показателем нестабильности генома. Учитывая благоприятные условия среды и нормальный фенотип материнских деревьев, пределы изменчивости ее цитологических показателей можно рассматривать как норму, обеспечивающую поддержание гомеостаза системы. Данные значения рекомендуется использовать в качестве контрольных при сравнении с цитогенетическими показателями сосны обыкновенной, полученными для антропогенно загрязненных территорий.

### 5.1.2. Цитогенетическая характеристика семенного потомства сосны обыкновенной культур Усманского бора

МИ в выборке культур отличается достаточно близкими показателями, хотя и варьирует больше, чем у аутохтонного насаждения от 7,4% до 10,3%. Среднее значение составляет МИ =  $8,4 \pm 0,2\%$ . Что касается ПМ, то здесь разброс значений также достаточно велик: от 0 до 4,3%. Колебания показателей МИ и ПМ иллюстрируют графики (рис. 3, 4). Однако все показатели в пределах нормы для сосны и по среднему значению ПМ =  $1,3 \pm 0,3\%$  культуры сосны занимают среднее положение между генерациями 2003 и 2004 года аутохтонных насаждений сосны Усманского бора. Спектр патологий включал типичные нарушения, такие как забегания, отставания и мосты. Количество микроядер такого же порядка  $0,02 \pm 0,009\%$ .

Рис.3. Колебания показателей МИ у семенного потомства деревьев культур Сомовского лесхоза

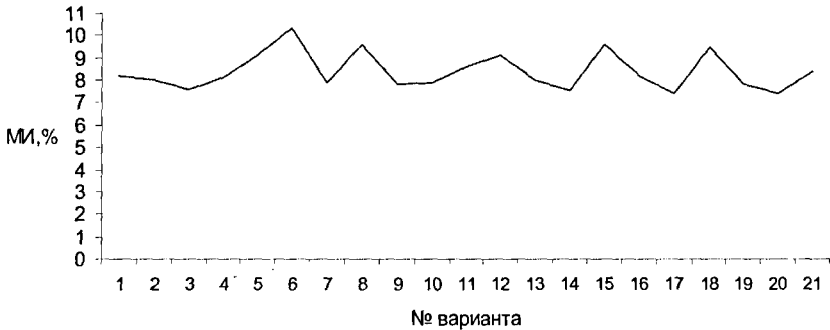
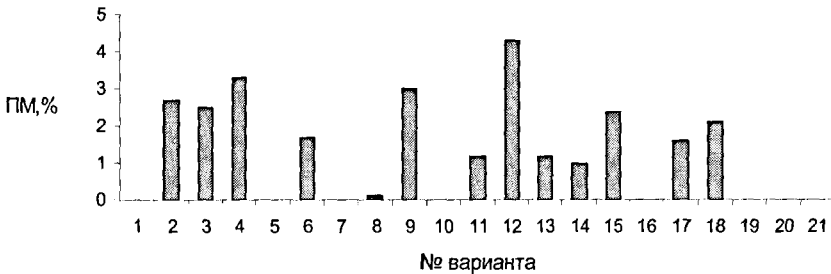


Рис. 4. Колебания показателя ПМ у семенного потомства деревьев культур Сомовского лесхоза



Можно констатировать, что по своим генетическим характеристикам данные культуры сходны с высококачественными аутохтонными насаждениями Усманского

бора, ввиду чего можно утверждать, что семенное потомство этих деревьев отличается цитологической стабильностью. Таким образом, качество данных культур позволяет рекомендовать использование их семян для целей лесовосстановления. Следует учитывать, что мониторинг состояния культур Сомовского лесхоза очень важен в связи большой рекреационной нагрузкой этих насаждений, которая со временем становится только интенсивнее.

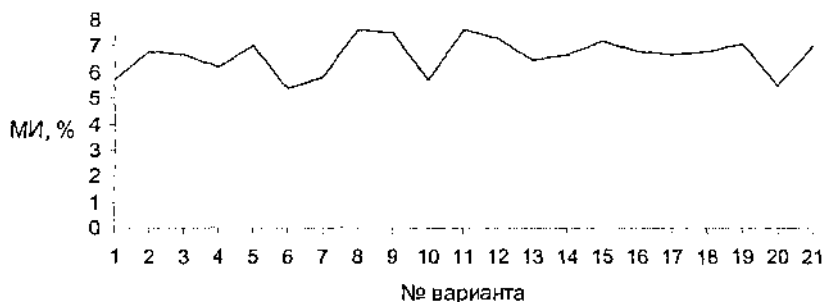
### 5.1.3. Цитогенетическая характеристика семенного потомства сосны обыкновенной из насаждений самосева Усманского бора

Наряду с естественными насаждениями и культурами Усманского бора, нами был исследован самосев в Сомовском лесхозе - насаждение, полученное путем естественного воспроизведения.

Выборка характеризуется в целом небольшой вариабельностью по показателям МИ и ПМ. Колебания этих показателей иллюстрируют графики (рис. 5,6). По данным Новосельцевой (2003), такие насаждения по своим характеристикам, как правило, значительно уступают деревьям аутохтонных насаждений.

Средние значения показателей по выборке самосева Сомовского лесхоза находятся на пределе нормы для сосны обыкновенной по МИ =  $6,6 \pm 0,1\%$  и в пределах нормы по ПМ =  $2,6 \pm 0,3\%$ . Следует учесть достаточно широкую вариабельность этого показателя: от 0 до 4,7%. Здесь наблюдается гораздо меньше индивидов, в клетках которых отсутствуют аномалии. Хотя спектр патологий митоза включал типичные нарушения, отмечено также присутствие микроядер, хотя здесь, как и в контрольном варианте, количество их незначительно.

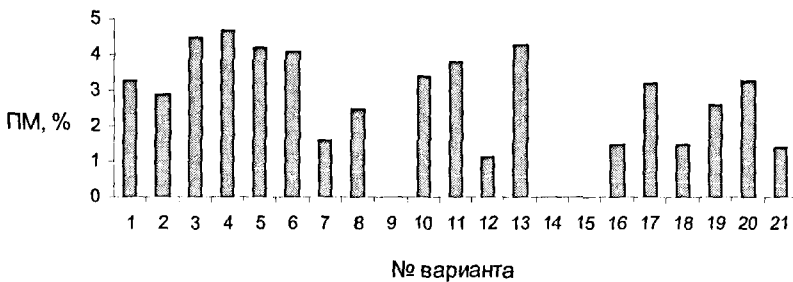
Рис. 5. Колебания показателей МИ у семенного потомства деревьев из самосева Сомовского лесхоза



Ряд авторов указывает на то, что самосев достаточно часто встречается в Усманском бору и способствует естественному семенному возобновлению сосны при применении соответствующих рубок. Это связано с тем, что молодяки культур гораздо менее устойчивы по сравнению с лесами естественного происхождения –

аутохонными и самосевом. Но, в соответствии с цитогенетическими характеристиками мы вынуждены констатировать, что данное насаждение получено из семян невысокого качества, несмотря на достаточно оптимальные условия произрастания для деревьев сосны.

Рис. 6. Колебания показателей ПМ у семенного потомства самосева Сомовского лесхоза



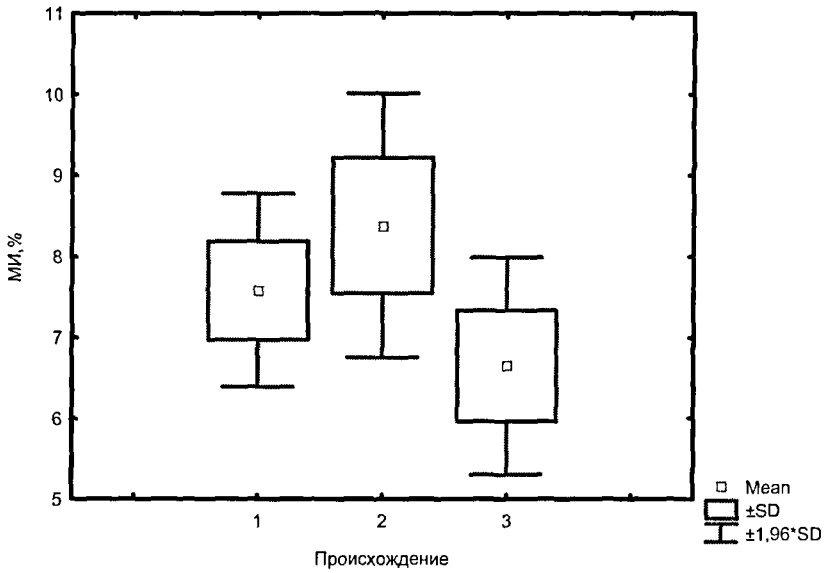
Т.е. в исследованном насаждении качество семян оказалось генетически неполноценным. Однако, самосев – это тоже способ лесовосстановления, который требует особенного внимания, и вместе с охраной сохранившихся природных сосновых лесов, следует использовать, где это возможно, естественное возобновление, не прибегая без крайней нужды к повсеместной замене их на культуры, т.к. известны случаи высокого качества семян самосева (Черкашина, 2007).

#### 5.1.4. Сравнительный анализ цитогенетических показателей сосны обыкновенной различного происхождения из Усманского бора. Оценка экологической ситуации в насаждениях бора

В связи с тем, что в пределах одного Усманского бора мы исследовали 3 различных выборки семян деревьев из различных по происхождению насаждений, было решено провести сравнительный анализ цитогенетических показателей проростков семян сосны обыкновенной разного происхождения, чтобы выяснить достоверность различий между ними и дать оценку качеству исследуемых семян.

Характер распределения показателя МИ иллюстрирует рис.7. При сравнении цитогенетических показателей проростков семян сосны культурных насаждений с показателями аутохтонных насаждений по  $t$ -критерию Сьюдента различия по показателям МИ оказываются достоверными (табл. 2). Сравнение исследуемых выборок по показателям МИ без профаз и ПМ мы выполняли, используя  $U$ -критерий Уитни – Манна (в связи с тем, что данные признаки не подчиняются нормальному распределению). Сравнение выборок аутохтонных насаждений и самосева показывает достоверные различия по всем показателям – МИ, МИ без профаз, ПМ и количеству клеток на стадии профазы.

Рис.7. Распределение показателя МИ у семенного потомства сосны обыкновенной различного происхождения из Усманского бора



1 – аутохтонные насаждения 2 – культуры 3 – самосев

Таблица 2

Сравнительная оценка цитогенетических показателей у проростков сосны различного происхождения в пределах Усманского бора

Вариант опыта	МИ, %		Количество ПМ, %	Число профазных клеток, %	Количество проанализированных клеток
	С учетом профазы	Без учета профазы			
Естеств. насажд.	7,6±0,1	6,4±0,2	1,2±0,2	15,6±1,3	48881
Культуры	8,4±0,2***	7,2±0,1***	1,3±0,3	14,5±1,8	21545
Самосев	6,6±0,1***	5,2±0,2***	2,6±0,3***	21,2±1,6***	21345

Различия достоверны: \* P<0,05, \*\* P<0,01, \*\*\* P<0,001

Мы проводили учет клеток на стадии профазы в связи с тем, что из-за трудностей при прохождении клетками точек проверки на протяжении митоза при

различного рода цитологических нарушениях, клетки в основном задерживаются на этой стадии.

Можно предположить, что увеличение показателя МИ для культур Усманского бора связано с генетической обусловленностью показателя интенсивности роста.

Экологическую ситуацию в аутохтонных насаждениях и культурах Усманского бора в соответствии с балльной шкалой Захарова следует признать на данный момент как благополучную. Также необходимо отметить, что культуры сосны обыкновенной Усманского бора несут основную рекреационную нагрузку, которая в последнее время становится все интенсивнее. В связи с этим вопрос мониторинга состояния Усманского бора имеет также социальный характер.

Уменьшение показателя МИ для семян от самосева Усманского бора при достоверном увеличении количества клеток на стадии профазы указывает на присутствие факторов, провоцирующих генетические нарушения в ядрах клеток. При увеличении времени прохождения клетками стадии профазы есть возможность провести репаративные процессы, на что и затрачивается дополнительное время. В связи с этим, необходимо указать, что качество семян, полученных из самосева Усманского бора оставляет желать лучшего, и их не следует рассматривать как материал для лесовосстановительных работ.

## **5.2. Цитогенетическая характеристика семенного потомства сосны обыкновенной насаждений Цнинского бора**

Сосновые насаждения Цнинского бора в большей степени представлены искусственными насаждениями. Они высокопродуктивны, но в селекционно-лесоводственном отношении изучены слабо, а в цитогенетическом плане не изучены совсем. В связи с тем, что деревья Перкинского лесхоза часто используются для сбора семян и последующей посадки полученных из них сеянцев в других лесхозах, было принято решение оценить качество семян из естественных и культурных насаждений из этого лесхоза по цитогенетическим показателям.

### **5.2.1. Цитогенетическая характеристика семенного потомства сосны обыкновенной из естественных насаждений Цнинского бора**

Пределы изменчивости по показателю МИ в данной выборке: от 7,7 до 11,4% (рис.8). Так, среднее значение  $MI = 8,9 \pm 0,2\%$ , это достоверно выше контрольного значения из Усманского бора.

Необходимо отметить, что Цнинский бор расположен севернее Усманского и Хреновского, и погоднo-климатические условия для сосны в нем несколько отличны от таковых в Усманском. Так, влажность в пределах Цнинского бора несколько выше, а средние годовые температуры (по январю и июлю) немного ниже, чем в Усманском бору. Сосна обыкновенная – вид в достаточной степени «северный», а сам Цнинский бор по происхождению является наиболее древним из изучаемых нами, что позволяет

сделать предположение о том, что полученные данные по показателю МИ соответствуют цитогенетическому оптимуму сосны.

Рис.8. Колебания МИ у семенного потомства деревьев из Перкинского лесхоза Цнинского бора (аутохтонное, 2006)

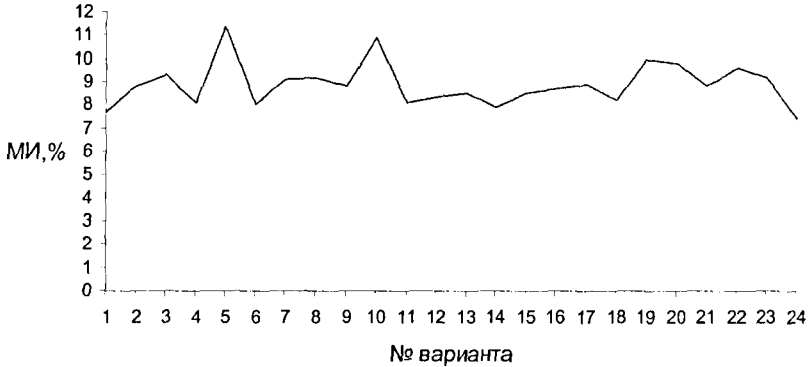
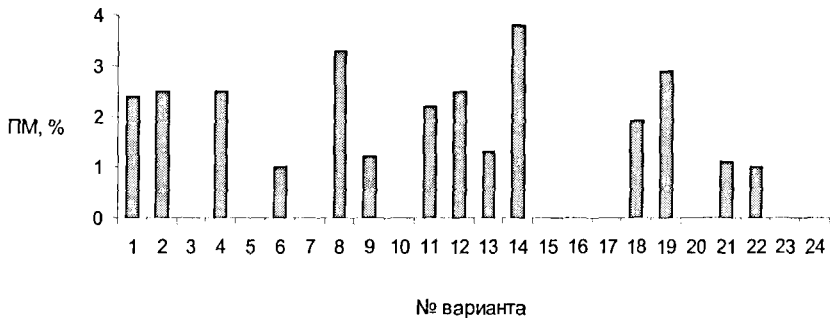


Рис.9. Колебания показателей ПМ у семенного потомства деревьев из Перкинского лесхоза Цнинского бора (аутохтонное, 2006)



Что касается, ПМ, то разброс значений здесь небольшой: от 0 до 3, % (рис. 9). Среднее значение  $ПМ=1,2\pm 0,3\%$ , что находится в пределах нормы для сосны. Спектр патологий митоза представлен мостами, опережающим движением хромосом и отставанием в анафазе, что относится к наиболее типичным нарушениям протекания митоза.

Важным моментом является отсутствие микроядер в выборке естественных насаждений из Цнинского бора в отличие от принимаемого за контроль Усманского

бора. Это может служить относительным показателем благополучной экологической ситуации с естественными насаждениями Цнинского бора.

Видимо, низкое значение уровня ПМ и отсутствие микроядер в выборке позволяет предположить проявление высокой репарационной способности у сосны из данного насаждения. Это согласуется с высокой общей устойчивостью материнских деревьев насаждения и к немного более суровым природно-климатическим условиям и к все более возрастающей суммарной антропогенной нагрузке.

Необходимо, конечно, дальнейшее фоновое мониторинговое исследование данного насаждения по цитогенетическим показателям ввиду того, что в пределах ЦЧР Цнинский бор - крупный и ценный лесной массив, а аутохтонные насаждения исследованного Перкинского лесхоза активно используются в качестве источников семян для создания культур сосны.

### **5.2.2. Цитогенетическая характеристика семенного потомства сосны обыкновенной культур Цнинского бора**

По показателю МИ выборка достаточно разнородна: от 5,8% до 9,6% (рис. 10). Среднее значение  $MI = 7,4 \pm 0,2\%$ , что практически совпадает с контрольным значением из Усманского бора. Однако стоит отметить, что значение МИ культур Цнинского бора достоверно ниже значения МИ аутохтонных насаждений того же бора.

Что касается ПМ, то по этому параметру наблюдается небольшой разброс показателей: от 0% до 4,5% (рис. 11). По среднему значению  $PM = 1,8 \pm 0,3\%$  данное аутохтонное насаждение находится в рамках нормы для сосны обыкновенной. Спектр ПМ включал ранее описанные типы нарушений, такие как хромосомные мосты в анафазе, отстаивания и забегания хромосом в анафазе митоза.

Следует отметить, что, хотя по средним значениям цитогенетических параметров изучаемое насаждение характеризуется положительно, пределы изменчивости по показателям МИ и ПМ значительны, что можно рассматривать как свидетельство наличия в данных насаждениях как устойчивых, так и неустойчивых к условиям произрастания деревьев. Такое явление может быть следствием некорректного подхода в создании культур, а именно отбор семенного материала только по фенотипическим особенностям материнских деревьев без изучения генетических или цитогенетических особенностей их семенного потомства.

Необходимо отметить, что в выборке культур, в отличие от выборки аутохтонных насаждений Цнинского бора, обнаруживаются микроядра. Количество их столь же незначительно, как и в контрольном варианте ( $0,03 \pm 0,001\%$ ), но это говорит о необходимости более пристального изучения культурных насаждений в целом по Цнинскому бору.



Рис. 10. Колебания показателя МИ у семенного потомства деревьев культур Перкинского лесхоза Цнинского бора

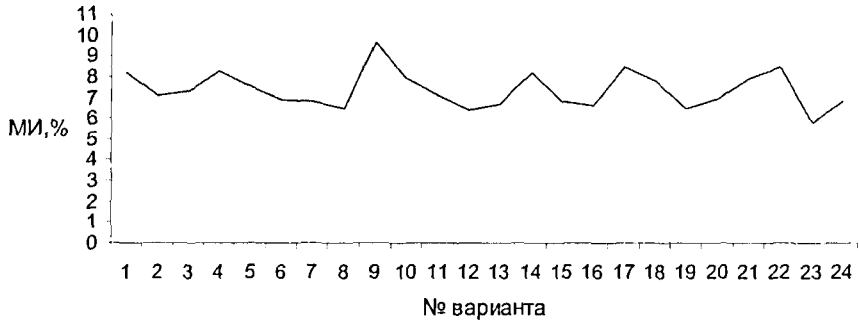
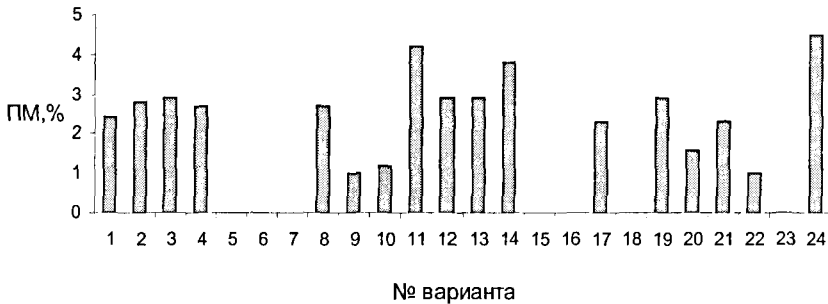


Рис. 11. Колебания показателя ПМ у семенного потомства деревьев культур Перкинского лесхоза Цнинского бора



Поскольку появление микроядер – признак генетической нестабильности организмов, подтверждается положение о том, что естественные насаждения более устойчивы в сравнении с культурами.

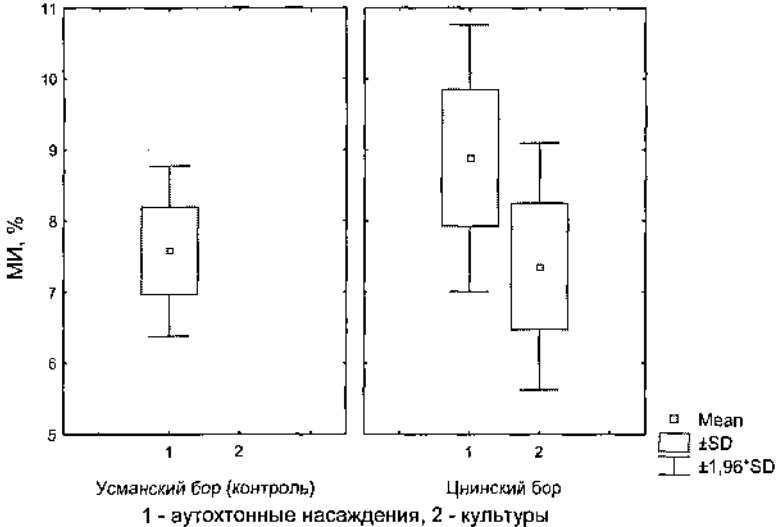
Таким образом, качество данных культур позволяет использовать их семенное потомство в процессе лесовосстановления, однако, по крайней мере следует учитывать возможность получения с деревьев этих культур неоднородного потомства.

### 5.2.3. Сравнительный анализ цитогенетических показателей сосны обыкновенной различного происхождения из Цнинского бора. Оценка экологической ситуации в насаждениях бора

В пределах одного Цнинского бора мы исследовали семенное потомство два различных по происхождению выборки семян – аутохтонных насаждений и культур.

Был проведен сравнительный анализ с целью, выявить достоверность различий цитогенетических показателей проростков семян сосны обыкновенной разного происхождения и дать оценку качеству исследуемых семян.

Рис. 12. Распределение показателя МИ семенного потомства сосны обыкновенной разного происхождения из Цнинского бора



При сравнении цитогенетических показателей проростков семян сосны насаждений Цнинского бора с показателями аутохтонных насаждений Усманского бора по  $t$ -критерию Сьюдента, как видно из табл. 3, достоверными оказываются различия по показателям МИ между аутохтонными насаждениями Цнинского и Усманского боров ( $P < 0,001$ ) (рис. 12).

Сравнение исследуемых выборок по показателям МИ без профаз и ПМ мы выполняли, используя  $U$ -критерий Уитни – Манна. Было показано наличие достоверных отличий по показателю МИ без профаз и отсутствие достоверных различий выборок аутохтонных насаждений Усманского и Цнинского боров по показателям ПМ. Можно предположить, что увеличение показателя МИ для аутохтонных насаждений Цнинского бора связано с повышенной энергией роста материнских деревьев. Это, в свою очередь, может рассматриваться как специфика метаболических процессов в клетках сосны естественных насаждений более северного с географической точки зрения насаждения.

Таблица 3

Сравнительная оценка цитогенетических показателей у проростков сосны различного происхождения из Цнинского бора

Вариант опыта	МИ, %		Количество ПМ, %	Число профазных клеток, %	Количество проанализированных клеток
	С учетом профазы	Без учета профазы			
Контроль (Усм. бор)	7,6±0,1	6,4±0,1	1,2±0,4	15,6±1,3	48881
Аутохт. насажд.-я	8,9±0,2***	7,5±0,2***	1,2±0,3	14,7 ±0,7	25509
Культ.	7,4±0,2	6,2±0,1	1,8±0,3	14,5±1,8	25503

Различия достоверны: \* P<0,05, \*\* P<0,01, \*\*\* P<0,001

Стоит отметить, что значения МИ, МИ без профаз и ПМ для культур Цнинского бора не отличается от контрольных значений.

Влияние факторов «Генезис» и «Месторасположение» на цитогенетические показатели сосны оценивалось нами по данным двухфакторного дисперсионного анализа (табл. 4).

Таблица 4

Влияние генезиса и месторасположения насаждений на некоторые цитогенетические показатели сосны обыкновенной

Фактор		Месторасположение (Усманский бор/Цнинский бор)	Генезис (аутохт.насажд./культуры)	Месторасположение-Генезис
Признак				
МИ		-	5,6*	57,6***
МИ без профаз		-	-	44,3***
Распределение клеток по стадиям	П	-	-	-
	М	9,8**	-	-
	А+Т	9,6**	-	4,4*
ПМ		-	-	-
Мкя		-	3,9*	-

\* P<0,05, \*\* P<0,01, \*\*\* P<0,001

В соответствии с данными дисперсионного анализа мы можем сказать, что фактор месторасположения (Усманский или Цнинский бор) сам по себе влияния не оказывает на такие цитогенетические показатели, как МИ, МИ без профаз, ПМ и уровень Мкя. Это объясняется в достаточной степени сходными погодноклиматическими и почвенными условиями в обоих лесных массивах, ввиду того, что они располагаются на едином пространстве Окско-Донской равнины.

На показатель распределения клеток по стадиям митоза (количество клеток на стадиях метафазы и анафазы с телофазой) есть небольшое влияние фактора

«Месторасположение». Фактор генезиса семян (аутохтонные насаждения или культуры) оказывает влияние на уровень митотической активности и количество микроядер. Это согласуется с положением о том, что естественные насаждения Цнинского бора превосходят культуры обоих лесных массивов по устойчивости и интенсивности метаболических процессов. Если оценивать совместное проявление влияния обоих факторов, то можно отметить их влияние на показатели МИ, МИ без профаз и количество клеток на стадии анафазы и телофазы.

В соответствии с балльной шкалой Захарова (2000) мы оцениваем экологическую ситуацию в естественных и искусственных насаждениях (культурах) Цнинского бора как благополучную.

### **5.3. Цитогенетическая характеристика семенного потомства сосны обыкновенной из Советского района г.Воронежа Экологическая ситуация в Советском районе г.Воронежа**

Нами были получены данные цитогенетического анализа проростков семян деревьев сосны обыкновенной из паркового насаждения Советского района г.Воронежа. Территория городского района - наиболее антропогенно загрязненная из исследуемых нами. Здесь расположены предприятия пищевой, химической и электронной промышленности. Из основных загрязняющих веществ следует указать оксиды железа, марганца, азота, углерода; пыль (суммарно), сажа, ксилол, фенол, толуол, ацетон. Исследуемые насаждения сосны в Советском районе расположены в парковой зоне отдыха (парк Танаис), в связи, с чем испытывают большую рекреационную нагрузку.

Значения МИ колебались в широких пределах от 4,2 до 7,9% (рис.13). Среднее значение по выборке составляет  $6,1 \pm 0,2\%$ , которое свидетельствует, что в данном насаждении наблюдается ингибирование показателя МИ. Процент ПМ по выборке имеет разброс от 8,1 до 11,5% (рис. 14). Стоит отметить, что аномалии присутствовали в клетках всех индивидов и в досточно большом количестве. Среднее значение по выборке составило  $ПМ=9,6 \pm 0,3\%$ . Микроядра зафиксированы, но так же, как и во всех случаях, в небольшом количестве (до 1%).

Резкие отклонения от нормы по цитологическим показателям вызваны главным образом произрастанием культур непосредственно возле автомобильной трассы, где велик трафик транспорта, что ведет к непрерывному загрязнению окружающей среды выхлопными газами и тяжелыми металлами. Что касается митотической активности, следует отметить тенденцию к ингибированию митоза у проростков сосны из Советского района, что может свидетельствовать о существенном антропогенном воздействии на материнские деревья.

По показателю патологий митоза в соответствии с тестом Манна-Уитни существует достоверное различие с контрольным вариантом.

Спектр патологии митоза у семенного потомства сосны паркового насаждения представлен следующими аномалиями: отставание хромосом в метакинезе, анафазе, опережающее движение хромосом в анафазе-телофазе, простые мосты в анафазе-телофазе, т.е. типичными для сосны нарушениями.

Рис.13. Колебания показателя МИ у семенного потомства деревьев сосны из культур паркового насаждения Советского района г.Воронежа

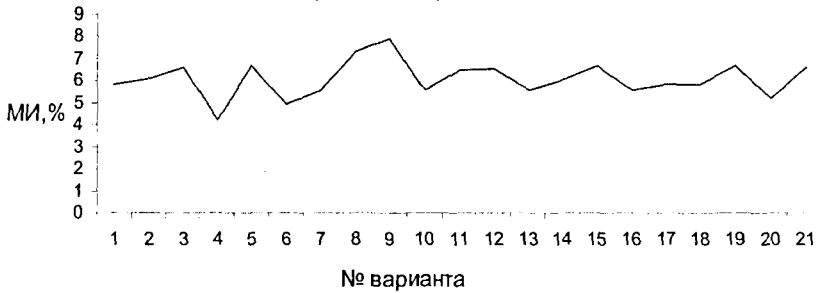
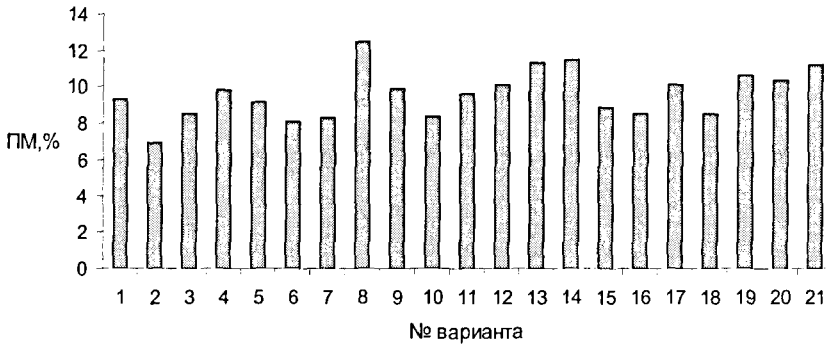


Рис. 14. Колебания показателя ПМ у семенного потомства деревьев сосны культур паркового насаждения Советского района г.Воронежа



Степень нарушения цитогенетического гомеостаза в данной популяции соответствует значительному уровню загрязнения окружающей среды (4 балла по шкале Захарова). Таким образом, еще раз можно обратить внимание на то, как в какой степени влияет антропогенная нагрузка на патологии митоза в их количественном и качественном проявлении. Это особенно хорошо видно при сравнении данных с исследованных территорий Советского района и из эталонного Усманского бора. Под влиянием высоких рекреационных нагрузок ухудшается общее состояние насаждений, что связано с уплотнением почвы, нарушением ее температурного и водно-воздушного режима; повреждением подлеска. Загрязненность городской среды способствует усыханию и отмиранию хвойных лесов в городских и пригородных лесах. В связи с этим необходимы меры по регулированию рекреационного использования территорий зеленой зоны г. Воронежа без снижения комфортности отдыха.

## Выводы

1. Впервые проведена цитогенетическая оценка состояния насаждений Цнинского бора. В ходе проведенных исследований различных по происхождению сосновых насаждений Цнинского бора (аутохтонных и культур), выявлено, что митотическая активность в клетках сосны аутохтонных насаждений Цнинского бора выше ( $MI=8,9\pm 0,2\%$ ), чем в контроле в аутохтонных насаждениях Усманского бора ( $MI=7,6\pm 0,1\%$ ).

2. Показано, что по цитогенетическим характеристикам культуры сосны Цнинского бора ( $MI=7,4\pm 0,2\%$ ,  $PM=1,8\pm 0,3\%$ ) близки к аутохтонным насаждениям Усманского бора, что свидетельствует о высоком качестве этих культур. Хотя присутствие в клетках некоторых индивидов из культурных насаждений микроядер указывает на начинающиеся негативные изменения генетического аппарата, что необходимо учитывать при сборе семян для лесовосстановительных работ.

3. Результаты изучения семенного потомства сосны обыкновенной от самосева в Усманском бору выявили собой более низкие показатели  $MI$  ( $MI=6,6\pm 0,1\%$ ) и более высокие показатели  $PM$  ( $PM=2,6\pm 0,3\%$ ) в сравнении с таковыми из естественных насаждений, что может быть следствием низкого качества исходного семенного материала, что, в свою очередь, может быть обусловлено неблагоприятными погодными условиями в период заложения генеративных органов у материнских деревьев.

4. При сравнении по цитогенетическим показателям насаждений Усманского и Цнинского бора было показано, что между ними существуют достоверные отличия, но все исследуемые показатели находятся в пределах нормальной изменчивости.

5. Ввиду того, что нами был выявлен невысокий уровень изменчивости цитогенетических показателей по годам у сосны, произрастающей в экологически благоприятных условиях, мы полагаем, что основной вклад в изменчивость этих показателей вносят антропогенные факторы.

6. При оценке паркового насаждения из промышленного Советского района г. Воронежа по цитогенетическим показателям здесь выявляются самый высокий уровень патологий митоза ( $PM=9,6\pm 0,3\%$ ) и самый низкий показатель митотической активности ( $MI=6,1\pm 0,2\%$ ), а также увеличение количества клеток на стадии профазы. Это свидетельствует о серьезных нарушениях генетического аппарата у сосны в условиях антропогенного загрязнения и нежелательности использования семян из этого насаждения для лесовосстановительных работ.

7. Поскольку по морфологическим и цитогенетическим показателям состояние насаждений в Усманском и Цнинском бору является удовлетворительным, экологическую ситуацию в местах их произрастания можно считать благополучной, в то время как отклонения от нормы по цитогенетическим показателям у семенного потомства деревьев паркового насаждения свидетельствует об испытываемом им антропогенном стрессе, что позволяет считать экологическую ситуацию в Советском районе г. Воронежа крайне неблагополучной (4 балла по шкале Захарова).

**По материалам диссертации опубликованы следующие работы**

1. Буторина А.К. Цитогенетический мониторинг состояния лесов (на примере Усманского и Хреновского боров) / А.К. Буторина, О.Н. Черкашина, О.В. Ермолаева // Генетика, селекция, семеноводство и разведение древесных пород в лесостепи: материалы межрегиональной конференции, посвященной 95-летию со дня рождения проф. М.М. Версина. – Воронеж: 2005. – С. 17-19.
2. Буторина А.К. Цитогенетический мониторинг лесов Воронежской области / А.К. Буторина, О.Н. Черкашина, О.В. Ермолаева, М.А. Белоусов // Тезисы докладов международного совещания и школы молодых специалистов «Карпология, карносистематика и молскулярная систематика растений». – С.-П.: 2005.
3. Буторина А.К. Генетическая оценка семян сосны обыкновенной из Усманского и Хреновского бора / А.К. Буторина, О.Н. Черкашина, О.В. Ермолаева, А.И. Чернодубов // Лесное хозяйство, 2006, №3. - С.29-31.
4. Буторина А.К., Черкашина О. Н., Ермолаева О. В., Чернодубов А. И., Авдеева И. А. Повышение эффективности оценки качества семян природных и искусственных насаждений сосны обыкновенной по их цитогенетическим показателям / А.К. Буторина, О.Н. Черкашина, О.В. Ермолаева, А.И. Чернодубов, И.А. Авдеева // Конкурс статей на тему: "Рациональное природопользование и охрана окружающей среды - стратегия устойчивого развития России в XXI веке" (лауреаты конкурса). ПРИКАЗ г. Москва 02.06.2006 г. № 126.
5. Черкашина О. Н., Ермолаева О. В. Сравнительная цитогенетическая оценка аутохтонных насаждений и культур Усманского и Хреновского боров / О.Н. Черкашина, О.В. Ермолаева // Тезисы научно-практической конференции «Современные проблемы экологии». Воронеж: 2006.
6. Буторина А. К., Черкашина О.Н., Ермолаева О.В., Мазурова И.Э. Аутохтонные леса Воронежской области как генетические резерваты / А.К. Буторина, О.Н. Черкашина, О.В. Ермолаева, И.Э. Мазурова // Тезисы докладов международной научной конференции: « Современные проблемы интродукции и сохранения биоразнообразия растений», посвященной 70-летию Ботанического сада. (26-29 июня 2007 г.). – Воронеж: Издательско-полиграфический центр ВГУ, 2007. - С. 107-110.
7. Буторина А.К. Цитогенетический мониторинг аутохтонных лесов Усманского и Хреновского боров / А.К. Буторина, О.Н. Черкашина, О.В. Ермолаева, А.И. Чернодубов, И.А. Авдеева // Известия РАН: Серия биологическая, 2007, №4.– С. 508-512.
8. Буторина А.К., Ермолаева О. В., Черкашина О. Н., Мазурова И. Э., Белоусов М. В., Чернодубов А. И. Перспективы использования цитогенетического анализа в лесоводстве на примере оценки состояния островных боров Воронежской области / А.К. Буторина, О.В. Ермолаева, О.Н. Черкашина, И.Э. Мазурова, М.В. Белоусов // Успехи современной биологии, 2008, Т. 128, № 4. - С. 399-407.

**Статьи №7, 8 опубликованы в журналах, входящих в список ВАК РФ.**

Отзывы на автореферат в двух экземплярах с заверенными подписями  
просим присылать по адресу: 394693, г. Воронеж, Университетская площадь 1,  
ВГУ, Ученому секретарю и по e-mail: [temnenkaya23@yandex.ru](mailto:temnenkaya23@yandex.ru)

Подписано в печать 6 апреля 2009г.  
Объем 1,5 п.л. Тираж 80 экз.

Отпечатано в ООО «Цифровая полиграфия»  
394006, г. Воронеж, ул. Плехановская, д. 52.  
(4732) 61-03-61, 61-03-62