

УДК 575:576.6.385:630

О.В. Єрмолаєва
асистент кафедри екології

О.К. Левицька

асистент кафедри природничих наук;

Житомирський державний технологічний університет

Рецензент – член редколегії «Вісник ЖНАЕУ», д.с.-г.н. О.Ф. Смаглій

ЦИТОГЕНЕТИЧНА ОЦІНКА СТАНУ АУТОХТОННИХ ЛІСІВ

Результати цитогенетичного моніторингу аутохтонних насаджень Усманського і Хреновського борів (Воронезька обл.) дозволяють вважати, що в цілому їх стан задовільний. Показники мітотичної і ядерцевої активності (МА і ЯА), патологій мітозу (ПМ) знаходяться в межах їх нормальної мінливості, характерної для сосни звичайної. Проте присутність мікроядер (в кількості менше 1%) слід розглядати як сигнал про початок патологічних процесів в цих насадженнях і необхідності в зв'язку з цим прийняття термінових заходів щодо їх охорони як цінних джерел генів і відтворення їх структури.

Постановка проблеми

В умовах цивілізації повсюдно відбувається загибель природних лісів (аутохтонних) в результаті рубок і пожеж. Проте, саме такі ліси характеризуються найбільшою продуктивністю і стійкістю. Їх структура сформувалася протягом тривалого і жорсткого природного відбору, тому вони є цінними геноджерелами для створення лісових культур.

В світі таких аутохтонних лісів залишилося дуже мало, і з кожним роком їх стає все менше й менше. Проблема збереження та оцінка стану цих насаджень має величезне значення для всієї лісогосподарської галузі в цілому.

Аналіз останніх досліджень та постановка завдання

На території Воронезької області зберігся ряд аутохтонних лісових насаджень, де домінуючими є основні лісоутворюючі породи – сосна звичайна (*Pinus sylvestris L.*) та дуб черешчатий (*Quercus robur L.*). Сосна звичайна тут займає друге місце в лісонасадженнях після дуба [15]. Її природоохоронна роль і значення для господарської діяльності людини величезні. Завдяки винятковій невибагливості сосна здатна рости на пісках, болотах, крейдяних і вапнякових схилах, кам'янистих схилах гір [6]. Це – деревна порода, яка також максимально

виробляє кисень [14], що разом з іншими її цінними властивостями робить сосну особливо значущою для людини.

Серед збережених соснових лісів у Воронежській області Усманський і Хреновський бори є найбільшими [3]. Вони виділені в категорію особливо цінних лісових насаджень. Для Усманського бору різноманіття умов на різновікових терасах забезпечується відмінністю ґрунтоутворюючих порід і рівнем залягання ґрунтових вод [1], що сприяло формуванню там різних рослинних угруповань і в тому числі трьох основних типів лісу: сухі бори, які займають вершини піщаних горбів, вологі бори і так звані складні бори, або субори. Сосна звичайна знаходиться тут у сприятливих умовах виростання [7].

У Хреновський ж бору, навпаки, сосна живе в умовах, близьких до екстремальних. Природоохоронна роль цього лісового масиву величезна: він захищає поля від степових суховіїв і охороняє ґрунт від ерозії. Перебуваючи на межі ареалу виду, сосна Хреновського бору піддається впливу екстремальних природних факторів, тим не менш, багаторічний відбір, що відбувався в цих умовах, дозволив сформуватися високопродуктивним і стійким насадженням.

Метою наших досліджень є цитогенетичний моніторинг стану аутохтонних лісів Усманського і Хреновського борів на основі порівняльного вивчення мінливості цитогенетичних показників у насінневого потомства сосни звичайної з цих насаджень та екологічна оцінка їх стану. При цьому за норму ми брали цитологічні показники сосни, що зростає в оптимальних для виду ґрунтово-кліматичних умовах.

Об'єкти і методика досліджень

Об'єктом дослідження є процес впливу антропогенного навантаження на цитогенетичний стан аутохтонних насаджень сосни звичайної Усманського і Хреновського борів.

Дослідження проводились на кафедрі генетики, цитології та біоінженерії Воронежського державного університету в 2006–2007 роках авторами статті. Матеріалом для досліджень були насіння сосни звичайної від вільного запилення. Насіння пророщували в чашках Петрі на вологому фільтрувальному папері у термостаті при температурі +26⁰С. Схожість насіння для всіх варіантів склала від 90 до 98%. Фіксацію проростків насіння здійснювали в ацетоалкоголі [17]. Виготовляли мікропрепарати при використанні гематоксиліну в якості барвника. Перегляд мікропрепаратів здійснювався за допомогою мікроскопа Laboval Zeiss Jena (Німеччина) при збільшенні 40x7x 2,5, вивчали не менше 800 клітин з кожного препарату. В якості критеріїв цитогенетичного моніторингу використовували мітотичний індекс (МІ), який розраховували в пік мітотичної активності, в 9 годин ранку за зимовим часом, як відношення числа клітин в процесі розподілу до загального числа врахованих клітин (%). Визначали також число клітин на кожній стадії мітозу, підраховували загальне число патологій

мітозу (ПМ) і відзначали найбільш характерні типи мітотичних порушень за класифікацією Алова (1972) [2]. Враховували кількість клітин з певним числом ядерця в інтерфазі (від 1 до 12) і частку клітин з тим чи іншим їх числом як показник інтенсивності клітинного метаболізму, оскільки ядерця відповідальні за синтез всієї РНК клітини. Обробка отриманих даних здійснювалась при використанні статистичної програми Statistica.

Результати досліджень

Підрахунок числа хромосом у проростків насіння сосни звичайної з Усманського і Хреновського борів не виявив будь-яких відхилень від типового для виду рівня плоідності ($2n = 24$). Середні показники МІ у сосни в роки досліджень досить близькі і схожі з такими, що спостерігалися раніше у сосни з Усманського бору [4,5]. Проте абсолютні значення МІ у окремих індивідів варіювали від 6,6 до 8,2%. Враховуючи сприятливі умови середовища і нормальний фенотип материнських дерев, межі мінливості її цитологічних показників можна розглядати як норму, що забезпечує підтримання гомеостазу системи. Вивчення розподілу клітин за стадіями показало, що найбільша їх кількість припадає на метафазу ($37,9 \pm 1,3\%$), частка клітин на інших стадіях мітозу приблизно рівна. Об'єднання клітин на стадіях анафази і телофази було пов'язано з тим, що пізню анафазу нерідко важко відрізнити від ранньої телофази.

Число ПМ за абсолютним та середнім показниками невелике, хоча розмах мінливості за цими показниками у різних індивідів (проростків) був досить широкий. Спектр патологій мітозу включав звичайні для сосни типи патологій мітозу, що найбільш часто зустрічаються в інших організмах: забігання (або передчасне відходження хромосом до полюсів) у метафазі, відставання хромосом при розходженні їх до полюсів в анафазі, мости в анафазі і тілофази.

Таблиця 1. Результати дослідження цитогенетичних показників насінневого потомства сосни звичайної популяцій Усманського і Хреновського борів

<i>Популяція</i>	Загальна кількість проглянутих клітин	Кількість клітин в процесі розподілу	МІ, %	ПМ, %	Кількість мікроядер, %
Усманський бір	27491	2061	$7,5 \pm 0,1$	$1,0 \pm 0,3$	$0,02 \pm 0,008$
Хреновський бір	20165	1230	$5,9 \pm 0,5$	$4,7 \pm 0,7$	$0,05 \pm 0,002$

Такі порушення могли бути наслідком спонтанного мутаційного процесу в результаті флуктуації погодних факторів або дії вторинних метаболітів, що утворюються в ході нормальних метаболічних процесів в організмі, які в

більшості випадків виправляються репараційними системами клітини. Наявність нерепарованих ушкоджень хромосом призводить до утворення мікроядер. У попередні роки їх не спостерігалось у сосни звичайної з Усманського бору. В даний час незначним їх числом (0,02%) можна ще знехтувати, але це вже свідчить про недостатню роботу систем репарації клітин, причиною чого може бути глобальне забруднення атмосфери, що вплинуло і на лісові масиви, навіть віддалені від джерела забруднення. Присутність мікроядер, за даними Ільїнських (1992), може слугувати показником нестабільності геному [9].

Однією з цитологічних особливостей сосни звичайної (як і інших видів хвойних) є можливість наявності у неї в клітинах декількох ядерць (до 12 на клітину) [8,10]. Їх число зростає під дією екстремальних умов: при підвищеному радіаційному фоні, сильному атмосферному забрудненні, заболоченості [12,13].

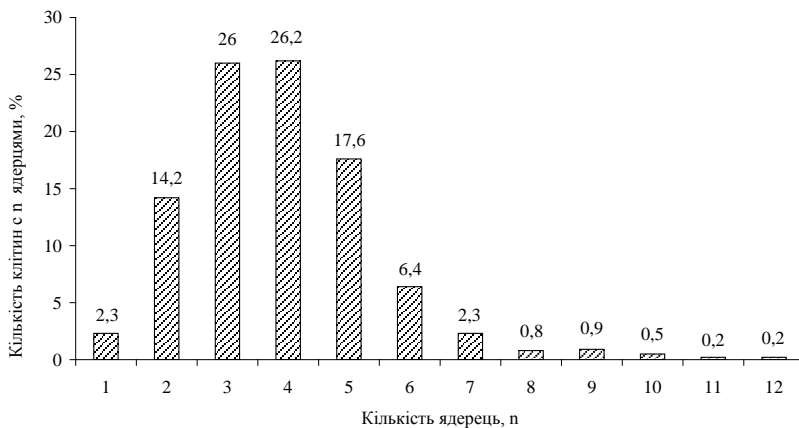


Рис.1. Розподіл ядерць за числом в інтерфазних клітинах сосни Усманського бору

На наш погляд, про рівень ядерцевої активності слід судити за модальною кількістю ядерць. За нашими даними, найбільш часто зустрічається 3-5 ядерць у клітині, що з урахуванням тенденції ядерць до злиття можна розглядати як відповідність трьом парам ядерцевоутворюючих хромосом.

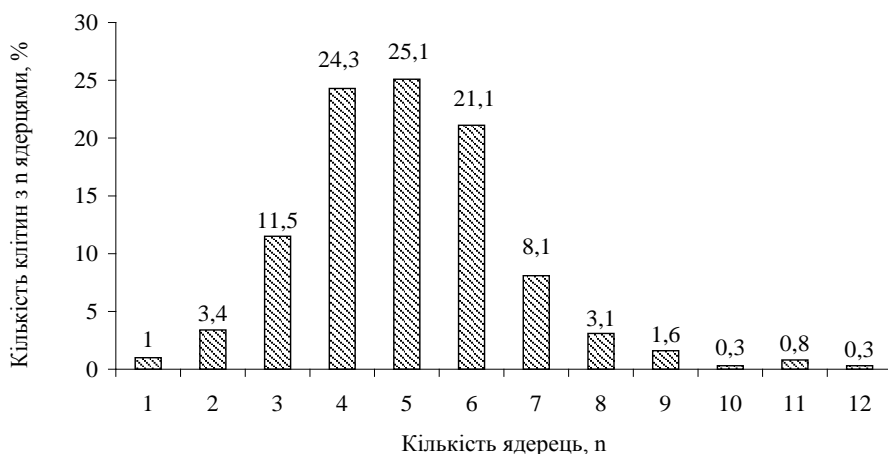


Рис.2. Розподіл ядерць за числом в інтерфазних клітинах сосни Хреновського бору

Дерева сосни звичайної в Хреновском бору також виростають в екологічно чистих умовах (у видаленні від джерел забруднення), але природні екологічні умови тут не настільки сприятливі, як в Усманському бору: клімат більш континентальний, часті суховії. У межах самого прикладу для різних типів лісу характерні свої специфічні ґрунтово-мікрокліматичні умови.

Порівнюючи дані з мінливості цитогенетичних показників у наслідкового потомства сосни звичайної з лісів обох борів, слід зазначити, що, незважаючи на високі лісівничі характеристики обох насаджень, менш сприятливі ґрунтові умови та гідрологічний режим в Хреновському бору та, можливо, високе рекреаційне навантаження негативно позначаються і на особливостях мінливості цитогенетичних показників. Найбільш чітко це проявляється за розмахом мінливості значень ПМ - від 0 до 7,2%, тобто межі мінливості за даним показником значно ширші, що можна розглядати як свідчення того, що в даному насадженні присутні як стійкі до умов зростання, так і нестійкі форми.

При порівнянні мінливості цитогенетичних показників у сосни звичайної з аутохтонних насаджень Усманського і Хреновського борів слід відзначити більш низьке значення МІ у проростків сосни звичайної Хреновського бору в порівнянні з проростками сосни з Усманського бору. Це може розглядатися як адаптивна ознака, що дозволяє організмам, що знаходяться в екстремальних умовах, мати додатковий час для здійснення репаративних процесів. Підтвердженням цьому може слугувати і переважання у сосни з Хреновського бору клітин на стадії профазі, на якій мабуть, відбувається затримка процесу мітозу і виправляються uszkodження геному.

Таким чином, спостерігається специфіка мінливості цитогенетичних показників у сосни звичайної з різних, але досить близьких (в межах однієї області) аутохтонних насаджень. У цілому, на підставі показників МІ, ЯА, ПМ, використовуваних як критерії цитогенетичного моніторингу, можна констатувати, що стан генетичного апарату дерев природних насаджень Хреновського бору, так само як і Усманського, можна розглядати як досить задовільний та відповідний фенотипам дерев.

Проте, присутність в клітинах проростків насіння сосни Усманського і Хреновського борів мікроядер (хоч і в незначній кількості) може бути індикатором початку патологічних процесів, що може призвести до патологічної нестабільності.

Проведення цитогенетичної оцінки стану довкілля дозволяє отримати інформацію про негативні зміни в популяціях до того, як вони стануть явними. Це свідчить про необхідність охорони та раціонального використання даних лісонасаджень і як пам'яток природи, і як цінних джерел генів для створення високопродуктивних штучних насаджень.

Висновки та перспективи подальших досліджень

1. При порівнянні мінливості цитогенетичних показників у сосни звичайної з аутохтонних насаджень Усманського і Хреновського борів слід відзначити більш низьке значення МІ у проростків сосни звичайної Хреновського бору в порівнянні з проростками сосни з Усманського бору, яка може розглядатися як адаптивна ознака, що дозволяє організмам, що знаходяться в екстремальних умовах, мати додатковий час для здійснення репаративних процесів.

2. Спостерігається специфіка мінливості цитогенетичних показників у сосни звичайної з різних, але досить близьких (в межах однієї області) аутохтонних насаджень. У цілому, на підставі показників МІ, ЯА, ПМ, використовуваних як критерії цитогенетичного моніторингу, можна констатувати, що стан генетичного апарату дерев природних насаджень Усманського бору, так само як і Хреновського, можна розглядати як непоганий, відповідний фенотипам дерев, у зв'язку з чим екологічну ситуацію в цих районах можна оцінити як досить благополучну.

3. Присутність в клітинах проростків насіння сосни Усманського і Хреновського борів мікроядер (хоч і в незначній кількості) є тривожним моментом, оскільки вони служать індикатором початку патологічних процесів.

Література

1. *Алаева Л.А.* Закономерности распространения почвенного покрова надпойменных террас Среднерусской лесостепи / *Л.А. Алаева, Л.Л. Яблонских* // Сорбционные и хроматографические процессы. – Воронеж: Изд-во Воронеж. ун-та, 2003. - Т. 3, вып. 5. – С. 605–611.
2. *Алов И.А.* Цитофизиология и патология митоза / *И.А. Алов.* – М: Медицина, 1972. - 408 с.

3. *Ахтырцев Б.П.* Серые лесные почвы Центральной России / *Б.П. Ахтырцев.* – Воронеж: Изд-во Воронеж. ун-та, 1979. – 239 с.
4. *Буторина А.К.* Цитогенетическая изменчивость в популяциях сосны обыкновенной / *А.К. Буторина, В.Н. Калаев, А.Н. Миронов* // *Экология.* – 2001– Т. 32, № 3. – С. 189–202.
5. *Буторина А.К.* Особенности цитогенетических показателей сосны меловой и сосны обыкновенной / *А.К. Буторина, И.Г. Мозгалина* // *Экология.* – 2004. – № 3. – С. 185-189.
6. *Вересин М.М.* Памятники лесной растительности / *М.М. Вересин* // *Памятники природы Воронежской области.* Воронеж: Центрально-Черноземное кн. изд-во, 1970. – С. 38–95.
7. *Дроздов К.А.* Усманский бор. Подворонежье / *К.А. Дроздов, К.Ф. Хмелев.* – Воронеж: Изд-во Воронеж. ун-та, 1973. – С. 23–43.
8. *Дуброва Н.А.* Роль рибосомных локусов хромосом в системе адаптации растений / *Н.А. Дуброва* // *Генетические механизмы устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды: тез. докл. Всесоюз. конф.* – Иркутск, 1991. – С. 17–18.
9. *Ильинских Н.Н.* Микроядерный анализ и цитогенетическая нестабильность / *Н.Н. Ильинских.* – Томск: Изд-во Том. ун-та, 1992. – 269 с.
10. *Калашник Н.А.* Ядрышкообразующие организаторы хромосом как адаптивные элементы хвойных видов / *Н.А. Калашник, Т.Г. Хайдарова* // *Методы оценки состояния и устойчивости лесных экосистем: тез. докл. Междунар. совещ.* – Красноярск, 1999. – С.79–80.
11. *Муратова Е.Н.* Кариологическое исследование болотных и суходольных популяций сосны обыкновенной / *Е.Н. Муратова, Т.С. Седельникова* // *Экология.* – 1993. – № 6. – С. 41– 49.
12. *Седельникова Т.С.* Особенности ядрышкообразующих хромосом и структурные перестройки в кариотипе болотных популяций сосны обыкновенной / *Т.С. Седельникова, С.П. Ефремов, Е.Н. Муратова* // *Сибир. экол. журн.* – 2001. – № 6. – С. 689–695.
13. *Смольянов А.Н., Перевертайло О.Г.* К вопросу оценки экологических функций лесов Воронежской области / *А.Н. Смольянов, О.Г. Перевертайло* // *Материалы Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием (Воронеж 28–30 июня 2004 г.).* – Воронеж: Изд-во Воронеж. ун-та, 2004. – С. 261–264.
14. *Чернодубов А.И.* Сосна обыкновенная в островных борах юга русской равнины / *А.И Чернодубов.* - Воронеж: Изд-во Воронеж. ун-та, 1998. – 69 с.
15. *Butorina A.* The first detected case of amitosis of pine / *A. Butorina, T. Evstratov* // *Forest Genetics.* – 1996. - №3. – P. 137–139.