

УДК 630.575:504.065(470.324)

Пределы изменчивости цитогенетических показателей сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в районе проведения разработок медно-никелевых месторождений в Воронежской области

Игнатова И. В., Калаев В. Н., Епринцев С. А., Калаева Е. А.

Воронежский государственный университет
Воронеж, Россия
Dr_Huixs@mail.ru

С 2012 года в Новохоперском районе Воронежской области проводится разработка медно-никелевого месторождения в непосредственной близости от Хоперского государственного природного заповедника. Целью работы явилась оценка цитогенетических характеристик насаждений сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) на территории Хоперского заповедника до начала геологоразведочных работ, сравнение полученных данных с аналогичными показателями сосны обыкновенной и других районов Воронежской области для проведения в перспективе мониторинговых исследований в условиях активной разработки медно-никелевого месторождения. Установлены митотическая активность, уровень и спектр патологий митоза, доля клеток на стадии про-, мета-, ана-, телофазы митоза, среднее число ядрышек в ядре, доля клеток с разным числом ядрышек, частота встречаемости клеток с микроядрами у семенного потомства деревьев сосны обыкновенной. По итогам 3-х лет наблюдений определены значения цитогенетических показателей сосны обыкновенной и пределы их варьирования, рекомендуемые в качестве контрольных при проведении цитогенетического мониторинга в зоне разработок: митотический индекс – $5,3 \pm 0,2$ % (4,9–5,7 %); уровень нарушений митоза – $1,6 \pm 0,2$ % (1,2–2,0 %); доля клеток на стадии профазы – $34,2 \pm 1,4$ % (31,5–36,9 %); метафазы – $37,4 \pm 1,3$ % (34,8–40,0 %); ана-телофазы – $26,9 \pm 0,9$ % (25,1–28,7 %). Для спектра патологий митоза характерными нарушениями являются отставание хромосом в анафазе и метакинезе, мосты в анафазе-телофазе, агглютинация в профазе и метафазе, зарегистрирован единственный случай кольцевой метафазы. Величины митотического индекса и уровня патологических митозов не выходили за пределы значений, установленных для сосны обыкновенной, произрастающей в экологически чистых районах Воронежской области, что свидетельствует о благоприятной экологической ситуации в Хоперском заповеднике и на прилегающих территориях в 2005–2007 годах.

Ключевые слова: Новохоперский район, медно-никелевые разработки, сосна обыкновенная, цитогенетический мониторинг.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время для определения негативного воздействия поллютантов на живые организмы и оценки генотоксического действия факторов окружающей среды активно проводится цитогенетический мониторинг (Ладнова и др., 2017; Maluszynska, Juchimiuk, 2005; Firbas, Amon, 2014; Olorunfemi et al., 2015). Объектами таких исследований часто выступают древесные растения (Буторина и др., 2000, Муратова и др., 2006; Iqbal et al., 2019), которые являются многолетними, наиболее чувствительными компонентами лесной растительности (Епринцев и др., 2017). Достаточно широко в подобных исследованиях используются хвойные виды (Корешков и др., 2013; Седельникова, 2014; Васильев и др., 2015; Can et al., 2016), особенно сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.). По результатам многочисленных исследований она показала себя чувствительным и надежным объектом для выявления цитогенетических эффектов, вызываемых действием загрязнителей среды (Егоркина, Валетова, 2004; Гераськин и др., 2005; Калашник, 2008; Chudzińska et al., 2015).

В Новохоперском районе Воронежской области с 2012 года проводились геологоразведочные работы в зоне медно-никелевого рудного месторождения в непосредственной близости от Хоперского государственного природного заповедника. Строительство горнодобывающего предприятия в Новохоперском районе может начаться уже

в 2021 году. Согласно полученной компанией лицензией, срок ввода месторождения в разработку – июль 2026 года. Именно тогда в Воронежской области может начаться добыча никеля. Но необходимо иметь в виду, что эти даты можно изменять внутри общего срока действия лицензии – до 2037 года. С экономической точки зрения проект является целесообразным, однако не установлено влияние последствий геологоразведочных работ и промышленной разработки месторождения на состояние окружающей среды (Поросенков, Рогозина, 2014). Добыча и переработка полезных ископаемых приводят к образованию специфического сернокислого техногенного ландшафта, загрязнению атмосферы, почвы, поверхностных и подземных вод, накоплению твердых и жидких отходов (Абдрахманов, Ахметов, 2006). Чтобы оценить масштабы изменений, вызванных техногенным вмешательством в природную среду, необходимо проанализировать состояние биоты до начала активных антропогенных воздействий на нее.

Ранее были выполнены цитогенетические исследования дуба черешчатого (Калаев, 2009; Попова, 2014), березы повислой (Карпова, 2011), лиственницы сибирской (Мазурова, 2008), сосны обыкновенной (Ермолаева, 2006) в Воронежской области и выявлен широкий спектр изменчивости цитогенетических показателей, обеспечивающий адаптацию данных видов к варьирующим условиям окружающей среды на клеточном и субклеточном уровнях.

Целью нашей работы явилась оценка цитогенетических характеристик насаждений сосны обыкновенной на территории Хоперского государственного природного заповедника до начала геологоразведочных работ, сравнение полученных данных с результатами исследования аналогичных показателей сосны обыкновенной из других районов Воронежской области для проведения в перспективе мониторинговых исследований в условиях активной разработки медно-никелевого месторождения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в Хоперском государственном природном заповеднике (Новохоперский район) и на прилегающей к нему территории (Песковский лесхоз Поворинского района) в течение трех лет (2005–2007 гг.) (рис. 1). Хоперский государственный природный заповедник – научно-исследовательское учреждение, на территории которого не ведется хозяйственная деятельность, его природные объекты служат эталонными. Заповедник расположен на юго-востоке Воронежской области на границе степной и лесостепной географических зон (Сергеева и др., 2012). Территории Новохоперского и Поворинского районов относятся к зоне пониженной напряженности эколого-хозяйственного баланса. На данных территориях велик удельный вес рекреационных земель и сенокосных угодий, которые повышают природно-экологический потенциал, и отмечается повышенная лесистость (Минников, 2013).

Для изучения цитогенетических характеристик семенного потомства сосны обыкновенной готовили постоянные давленные препараты (1 препарат – 1 проросток) апикальной меристемы по ранее описанной методике (Буторина и др., 2000). Семена проращивали в чашках Петри на влажной фильтровальной бумаге в термостате при температуре 22 °С. Проростки с корешками, достигшими 0,5–1,0 см, фиксировали в спиртово-уксусной смеси (3:1). Фиксацию проводили в 9 часов утра, когда у сосны обыкновенной наблюдается пик митотической активности. В качестве красителя использовали ацетогематоксилин. Постоянно-давленные препараты готовили путем заключения материала в каплю смеси Гойера. Просмотр препаратов проводили на микроскопе LABOVAL-4 (Carl Zeiss, Jena) при увеличении 40×2,5×10.

Было проанализировано 25 (2005 г.), 18 (2006 г.) и 45 (2007 г.) препаратов проростков семян деревьев, произрастающих в Песковском лесхозе; 27 (2005 г.), 25 (2006 г.) и 45 (2007 г.) препаратов проростков семян деревьев, произрастающих в Хоперском государственном природном заповеднике.

При анализе препаратов учитывали следующие цитогенетические показатели: митотическую активность (процентное отношение числа делящихся клеток к общему числу

подсчитанных клеток), процентное соотношение количества клеток по стадиям митоза, долю патологических митозов среди общего числа делящихся клеток (%), спектр аномалий деления, частоту встречаемости клеток с микроядрами (процентное отношение числа клеток с микроядрами к общему числу интерфазных клеток), долю клеток с разным числом ядрышек в ядре, среднее число ядрышек на клетку (отношение суммы всех ядрышек к общему числу проанализированных ядрышкосодержащих клеток). Патологии митоза классифицировали по Алову (1965).

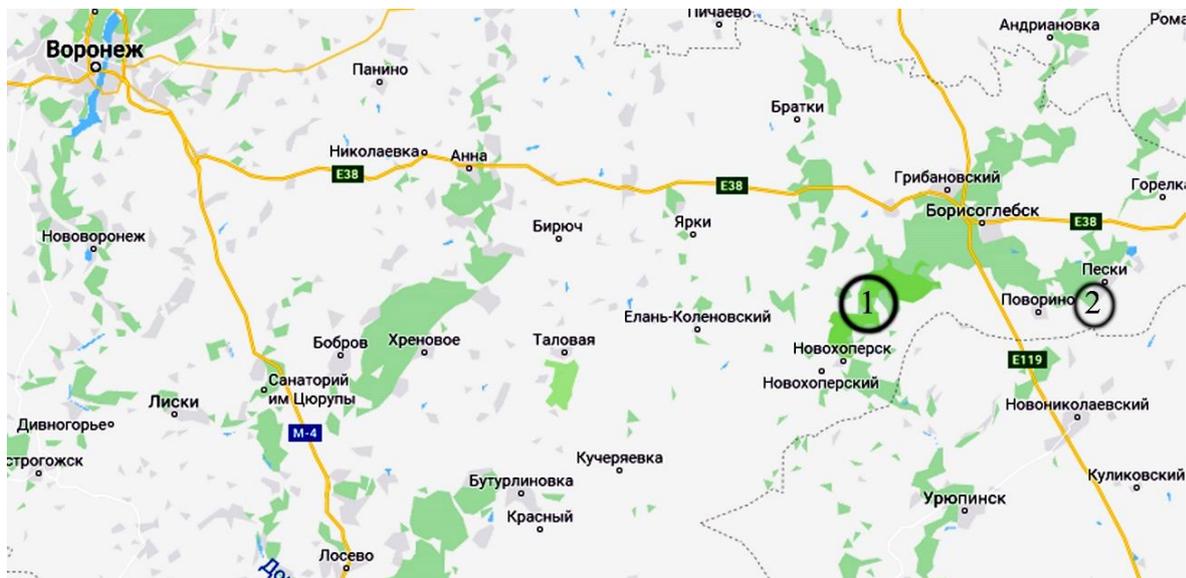


Рис. 1. Места расположения опытных площадей на территории Воронежской области
1 – Хоперский государственный природный заповедник; 2 – Песковский лесхоз.
Карта по <https://www.google.com/maps/@51.217493,41.2509182,8.25z>

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета статистических программ Stadia7.0 Professional (InCo, Россия). Процедура группировки данных и их обработка изложены в нашей работе (Калаева, 2016). При анализе использовали t-критерий Стьюдента для сравнения выборок по митотической и ядрышковой активности. Сравнение выборок по частотам встречаемости и спектрам патологий митоза проводили с использованием непараметрических критериев: W-критерия Вилкоксона и X-критерия рангов Ван дер Вардена, так как данные признаки не подчиняются закону нормального распределения. Пределы варьирования признаков устанавливали по результатам расчета 95 % доверительного интервала. Для определения силы влияния фактора группы применяли однофакторный параметрический дисперсионный анализ по Снедекору и однофакторный непараметрический дисперсионный анализ по Крускалу–Уоллесу. Для выявления влияния фактора года и местоположения использовали двухфакторный параметрический дисперсионный анализ по Снедекору. Сила влияния факторов выражена в процентах.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено влияние фактора года на все показатели пролиферации и совместное влияние года исследований и местоположения – на долю клеток на стадиях мета-, ана- и телофазы митоза (табл. 1).

Митотический индекс (MI) у семенного потомства деревьев сосны обыкновенной в 2005 году на исследованных территориях варьировал от 6,3 до 8,1 % в заповеднике и от 6,0 до 7,0 % в лесхозе. В 2006 году уровень митотической активности в Хоперском государственном природном заповеднике изменялся от 4,2 до 5,2 %, в Песковском лесхозе –

от 4,5 до 6,3 %. Величина митотического индекса в 2007 году колебалась в заповеднике от 3,9 до 4,9 %, в лесхозе – от 4,2 до 5,0 %. Средние значения исследуемого показателя в 2005–2007 годах представлены на рисунке 2.

По показателю митотической активности между исследованными территориями в период с 2005 по 2007 год не выявлено достоверных различий. Наблюдалось снижение митотического индекса у семенного потомства деревьев сосны обыкновенной на обследованных территориях в 2006 и 2007 году по сравнению с 2005 годом, что можно объяснить варьированием погодных условий.

Таблица 1

Влияние года исследования и местоположения на цитогенетические показатели семенного потомства деревьев сосны обыкновенной, произрастающих в Хоперском государственном природном заповеднике и в Песковском лесхозе

Цитогенетические показатели, %	Сила влияния фактора	
	Год	Год + местоположение
Митотический индекс	2,5***	-
Уровень патологий митоза	3,2*	-
Доля клеток на стадии профазы митоза	3,1***	-
Доля клеток на стадии метафазы митоза	1,6***	3,2**
Доля клеток на стадии анафазы-телофазы митоза	2,9***	3,2*

Примечание к таблице: * – влияние фактора достоверно ($P < 0,05$); ** – влияние фактора достоверно ($P < 0,01$); *** – влияние фактора достоверно ($P < 0,001$).



Рис. 2. Митотическая активность в клетках апикальной меристемы корней проростков семян деревьев сосны обыкновенной, произрастающих в Хоперском государственном природном заповеднике и Песковском лесхозе в 2005–2007 годах

Данные представлены в формате «среднее арифметическое \pm стандартное отклонение».

Ранее разными авторами были определены значения митотического индекса для сосны, произрастающей в условиях Усманского бора: $7,3 \pm 1,2$ % (Гришаева, 2004); от $7,0 \pm 0,09$ % до $7,7 \pm 0,19$ % в зависимости от лесничества (Буторина и др., 2007); от $5,7 \pm 0,1$ % до $8,5 \pm 0,2$ % в зависимости от типа сбора (Буторина и др., 2001; Дорошев, 2004). Была исследована сосна обыкновенная на южной границе своего ареала в Хреновском бору на территории с рекреационной нагрузкой (Морозовская роща, $MI = 6,1 \pm 0,35$ %), в искусственно созданных

насаждениях (район возле Хреновского лесхозтехникума, $MI=6,5\pm 0,18\%$) и на территории с благоприятными почвенными условиями (258 кв. Вислинского лесничества, $MI=7,5\pm 0,13\%$) (Буторина и др., 2007). Исследования проводились и в городе Воронеж: в защитных насаждениях сосны в Северном районе (район областной клинической больницы № 1, $MI=6,7\pm 0,14\%$; район остановки «15-й квартал», $MI=5,4\pm 0,12\%$); в с. Подгорное ($MI=5,8\pm 0,16\%$) (Черкашина, 2007); на условно экологически безопасной территории (пос. Боровое, $MI=7,6\pm 0,1$ и $7,8\pm 0,1\%$); в насаждениях, сформированных под влиянием антропогенных стрессоров (Юго-Западный район, $MI=4,9\pm 0,4\%$ и $11,1\pm 0,6\%$) и в районе промышленного загрязнения (Левобережный район, MI от $5,5\pm 0,2\%$ до $5,9\pm 0,1\%$ (в зависимости от улицы и года исследования)) (Дорошев, 2004); в районе Нововоронежской АЭС ($MI=8,1\pm 3,5\%$) (Буторина и др., 2001). На основании анализа вышеперечисленных работ можно сделать вывод, что пределы изменчивости митотического индекса для сосны обыкновенной на территории Воронежской области составили от $4,9\pm 0,4\%$ до $11,1\pm 0,6\%$ в условиях сильной антропогенной нагрузки и от $6,0\%$ до $8,7\%$ на условно «чистой» территории в Усманском бору.

В наших исследованиях величины митотического индекса в 2005 году не выходили за рамки значений, установленных для сосны обыкновенной, произрастающей в оптимальных условиях (в Усманском бору). Снижение значений митотического индекса в последующие годы (2006–2007 гг.) может быть обусловлено воздействием неблагоприятных погодных условий.

Размах изменчивости по показателю «уровень нарушений митоза» в 2005 году составил $1,3\text{--}2,9\%$ в заповеднике и $1,0\text{--}2,6\%$ в лесхозе; в 2006 году для лесхоза был от $0,5$ до $2,5\%$, для заповедника – от $1,2$ до $3,0\%$; в 2007 году колебался в заповеднике от $0,5$ до $1,7\%$, в лесхозе – от $0,7\%$ до $1,5\%$. Средние уровни патологических митозов за три года исследований представлены на рисунке 3. Установленные нами значения были сходны с результатами других авторов. Так, уровень патологий митоза для сосны, произрастающей в оптимальных условиях Усманского бора, составлял $3,4\pm 0,6\%$ (Гришаева, 2004); от $0,7\pm 0,14$ до $2,1\pm 0,19\%$ в разных лесничествах на территории Усманского бора (Буторина и др., 2007); $2,2\pm 0,5\%$ (групповой сбор), $10,0\pm 0,5\%$ (производственный сбор) (Буторина и др., 2001; Дорошев, 2004). Доля нарушений у семенного потомства деревьев сосны обыкновенной на границе ее ареала составила $0,5\pm 0,15\%$ (территория с рекреационной нагрузкой); $0,3\pm 0,2\%$ (территория с благоприятными почвенными условиями); $2,6\pm 0,12\%$ (территория с антропогенной нагрузкой) (Буторина и др., 2007). В городе Воронеж в зависимости от района проведения исследований доля патологических митозов колебалась от $2,8\pm 0,1\%$ (с. Боровое, Железнодорожный район) (Дорошев, 2004) до $13,7\pm 0,21\%$ (вблизи трассы М4 Дон, Северный район) (Черкашина, 2007).

Уровень патологий митоза, установленный для сосны обыкновенной, произрастающей в районе Хоперского государственного природного заповедника, не превышал значений этого показателя в Усманском и Хреновском борах, где антропогенная и рекреационная нагрузка минимальна по сравнению с таковой в черте города.

Спектр патологических митозов в популяциях сосны обыкновенной, произрастающих на исследуемых территориях, за три года исследований представлен на рисунке 4.

Типичными нарушениями митоза, которые отмечали, Гришаева (2004), Дорошев (2004), Черкашина (2007) у семенного потомства сосны обыкновенной в Воронежской области, являются отставание хромосом в анафазе и метакинезе, мосты в анафазе-телофазе (рис. 5). В наших исследованиях наряду с описанными ранее типами нарушений встречались агглютинации в профазе и метафазе и был зарегистрирован единичный случай полой метафазы (рис. 5).

Преобладание в спектре патологических митозов мостов и отставаний хромосом в анафазе во все годы исследований могло быть следствием спонтанного мутационного процесса в результате флуктуации погодных факторов или действия вторичных метаболитов, образующихся в ходе нормальных обменных процессов в организме, которые в большинстве

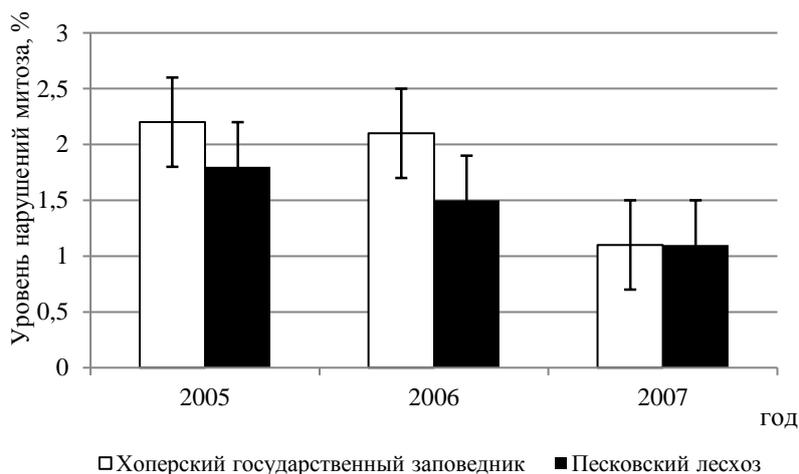


Рис. 3. Доля патологий митоза в клетках апикальной меристемы корней проростков семян деревьев сосны обыкновенной, произрастающих в Хоперском государственном природном заповеднике и Песковском лесхозе в 2005–2007 годах
Данные представлены в формате «среднее арифметическое ± стандартное отклонение».

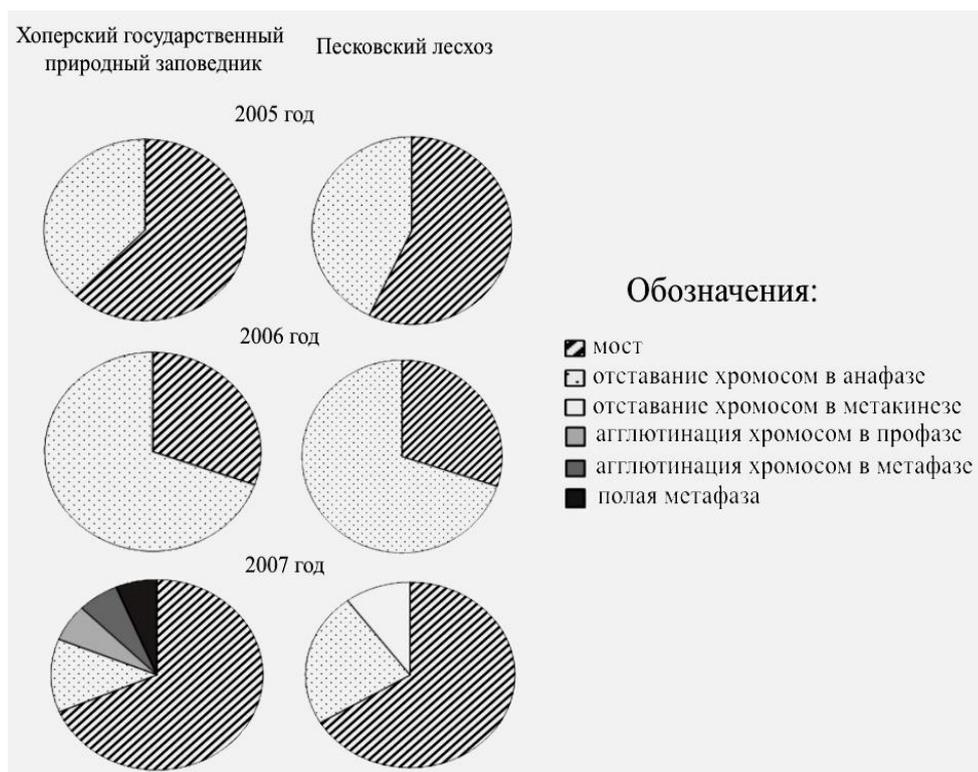


Рис. 4. Спектр патологических митозов в клетках апикальной меристемы корней проростков семян деревьев сосны обыкновенной, произрастающих в Хоперском государственном природном заповеднике и Песковском лесхозе в 2005–2007 годах
Данные представлены в формате «доля патологий конкретного типа от общего количества нарушений, %».

случаев исправляются репарационными системами клетки. По мнению Алова (1965), эти нарушения связаны с повреждением хромосом и веретена деления. Мосты относятся к патологиям митоза, связанным с нарушениями синтеза и разрывами молекулы ДНК. Отставание хромосом может быть результатом аномалии центромерного участка или нарушения функции сократительных белков ахроматинового веретена (Алов, 1972). Агглютинация хромосом была ранее отмечена некоторыми исследователями (Butorina, Evstratov, 1996; Калашник, Шафикова, 1998) у деревьев сосны обыкновенной, испытывающих техногенную или радиационную нагрузку. Данное нарушение является летальным для клеток и приводит к угнетению и гибели растения.

Микроядра, появляющиеся вследствие отставаний хромосом в митозе и протекания многополосных митозов, а, следовательно, отражающие нарушения генетического аппарата в клетках, были обнаружены в единичных случаях в апикальной меристеме проростков семенного потомства деревьев сосны обыкновенной с территории заповедника ($0,004 \pm 0,001$ % в 2005 и 2006 гг. и $0,007 \pm 0,007$ % в 2007 г.). Их присутствие в клетках свидетельствует о недостаточной работе систем репарации.



Рис. 5. Нарушения митоза, обнаруженные в клетках апикальной меристемы корней проростков семян деревьев сосны обыкновенной в Воронежской области

Частота встречаемости клеток с микроядрами у семенного потомства сосны обыкновенной в Воронежской области, по данным ряда авторов, не превышает 1 % у деревьев, произрастающих в условиях с различной степенью антропогенной нагрузки (Гришаева, 2004; Дорошев, 2004; Черкашина, 2007; Буторина и др., 2007).

Выявлено влияние фактора года и местоположения, а также совокупное влияние указанных факторов на частоту встречаемости клеток с разным количеством ядрышек в ядре (табл. 2).

В 2005 году в интерфазных клетках семенного потомства деревьев сосны обыкновенной, произрастающих в Хоперском государственном природном заповеднике и Песковском лесхозе, встречалось от 1 до 8 ядрышек в ядре. В Хоперском заповеднике преобладали клетки с 3–5 ядрышками в ядре, в Песковском лесхозе – с 1–3. В 2006 году были обнаружены клетки с 9 ядрышками в ядре ($3,7 \pm 1,1$ % в заповеднике и $2,6 \pm 1,0$ % в лесхозе). В Хоперском

государственном природном заповеднике и Песковском лесхозе в данный год исследований преобладали клетки 3–5 ядрышками в ядре. Различий между выборками по количеству клеток с n ядрышками в ядре не выявлено. В 2007 году в Песковском лесхозе происходило увеличение доли многоядрышковых клеток по сравнению с заповедником, были выявлены клетки с 10 ядрышками ($0,03 \pm 0,03$ %). В Хоперском государственном природном заповеднике преобладали клетки с 2–4, в лесхозе – с 2–5 ядрышками в ядре.

Увеличение числа ядрышек в ядре свидетельствует об усилении функциональной активности, которая, по мнению некоторых авторов, наблюдается при стрессовых воздействиях различного рода (Дуброва, 1986; Бондарь и др., 1987; Коршиков и др., 2013; Калашник, 2015).

Таблица 2

Влияние места произрастания и года исследования на цитогенетические показатели семенного потомства деревьев сосны обыкновенной из Хоперского государственного природного заповедника и Песковского лесхоза

Количество ядрышек в ядре	Сила влияния фактора (%)		
	Год	Местоположение	Год + местоположение
n = 1	4,0***	4,3***	3,5***
n = 2	3,6***	4,6*	4,2***
n = 3	4,0***	–	4,5**
n = 4	4,6*	4,6**	4,3***
n = 5	4,5**	4,6**	4,2***
n = 6	3,7***	4,6**	4,1***
n = 7	3,1***	4,4***	4,3***
n = 8	1,8***	–	–
n = 9	1,6***	–	–
Среднее число ядрышек на клетку	0,8***	4,5***	3,5***

Примечание к таблице: * – влияние фактора достоверно ($P < 0,05$); ** – влияние фактора достоверно ($P < 0,01$); *** – влияние фактора достоверно ($P < 0,001$).

По данным других авторов, в клетках апикальной меристемы проростков семян сосны обыкновенной в Воронежской области чаще всего встречалось 3–6 ядрышек (Буторина, Мозгалина, 2004; Гришаева, 2004; Дорошев, 2004; Черкашина, 2007; Буторина и др., 2007), в Тернопольской области – 4–7 (Коршиков и др., 2013). В нашем исследовании во все годы преобладали клетки с 2–5 ядрышками в ядре, что соответствует 1–2 парам хромосом с функционирующими ядрышковыми организаторами. Низкое число ядрышек в интерфазных клетках проростков семян сосны обыкновенной свидетельствует об угнетении процессов биосинтеза белков в клетке. По мнению ряда авторов (Дуброва, 1986; Бондарь и др., 1987; Седельникова и др., 2000), активация ядрышковых организаторов является ответом древесных растений на стрессовые условия произрастания, которые в данном случае могут быть обусловлены незначительным антропогенным загрязнением, обусловленным жизнедеятельностью человека в районе пос. Пески (Песковский лесхоз). Увеличение числа клеток с максимальным количеством ядрышек у проростков семян сосны обыкновенной указывает на увеличение активности рибосомальных цистронов, что является реакцией на стресс.

В 2007 году у семенного потомства сосны обыкновенной из Хоперского государственного природного заповедника было обнаружено остаточное ядрышко на стадии анафазы. Его присутствие свидетельствует об увеличении активности рибосомальных цистронов, чаще всего связанное с повышенной стрессовой нагрузкой (Буторина, 1989).

Остаточные ядрышки на стадии метафазы, анафазы, телофазы и интерфазы митоза ранее были зафиксированы у сосны обыкновенной, произрастающей в районе Нововоронежской АЭС (Буторина и др., 2001; Сенькевич, 2007).

В таблице 3 представлены значения цитогенетических показателей семенного потомства деревьев сосны обыкновенной, произрастающих в Хоперском государственном природном заповеднике вблизи района разработки медно-никелевых месторождений.

Таблица 3

Значение цитогенетических показателей семенного потомства сосны обыкновенной, используемые в качестве контроля при проведении цитогенетического мониторинга

Показатель	Значение	95 % доверительный интервал
Митотический индекс, %	5,3±0,2	[4,9–5,7]
Уровень нарушений митоза, %	1,6±0,2	[1,2–2,0]
Доля клеток на стадии профазы митоза, %	34,2±1,4	[31,5–36,9]
Доля клеток на стадии метафазы митоза, %	37,4±1,3	[34,8–40,0]
Доля клеток на стадии ана-телофазы митоза, %	26,9±0,9	[25,1–28,7]
Среднее число ядрышек на клетку	3,8±0,1	[3,6–4,0]
Уровень клеток с микроядрами, %	0,005±0,003	[0–0,01]

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По итогам трехлетних наблюдений (2005–2007 гг.) были определены значения цитогенетических показателей и пределы их варьирования у сосны обыкновенной, произрастающей в районе Хоперского государственного природного заповедника и на прилегающих территориях. Характерными для спектра патологий митоза нарушениями можно считать отставание хромосом в анафазе и метакинезе, мосты в анафазе-телофазе, агглютинацию в профазе и метафазе митоза. Также был зарегистрирован единичный случай полой метафазы.

Сравнительный анализ цитогенетических характеристик сосны обыкновенной, произрастающей в районе Хоперского заповедника и в других районах Воронежской области и города Воронежа, позволил установить, что величины митотического индекса и уровня патологических митозов не выходили за пределы значений, характерных для сосны обыкновенной на экологически чистых территориях. Это свидетельствует о благоприятной экологической ситуации в обследованном районе в 2005–2007 годах.

Полученные нами показатели могут быть рекомендованы в качестве контрольных при проведении цитогенетического мониторинга в зоне активных разработок медно-никелевого рудного месторождения.

Исследование выполнено в рамках и при поддержке гранта РФФИ № 19-05-00660_А «Разработка модели оптимизации социально-экологических условий для населения крупных городов».

Список литературы

- Абдрахманов Р. Ф. Влияние техногенеза на поверхностные и подземные воды Башкирского Зауралья и их охрана от загрязнения и истощения // Геологический сборник. – 2006. – № 6. – С. 266–269.
- Алов И. А. Патология митоза (формы патологии, классификация, количественная характеристика) // Вестник АМН СССР. – 1965. – № 11. – С. 58–66.
- Алов И. А. Цитофизиология и патология митоза. – М.: Медицина, 1972. – 264 с.
- Бондарь Л. М., Частоколенко Л. В., Баранова В. А. Популяционный анализ активности ядрышкового организатора у растений *Vicia cracca* L. // Генетика. – 1987. – Т. 23, № 2. – С. 317–324.
- Буторина А. К. Цитогенетическая оценка деревьев дуба черешчатого разных селекционных категорий //

Генетика. – 1989. – Т. 25, № 2. – С. 301–309.

Буторина А. К., Калаев В. Н., Миронов А. Н. и др. Цитогенетическая изменчивость в популяциях сосны обыкновенной // Экология. – 2001. – Т. 32, № 3. – С. 216–220.

Буторина А. К., Калаев В. Н., Вострикова Т. В., Мягкова О. Е. Цитогенетическая характеристика семенного потомства некоторых видов древесных растений в условиях антропогенного загрязнения г. Воронежа // Цитология. – 2000. – Т. 42, № 2. – С. 196–200.

Буторина А. К., Мозгалина И. Г. Особенности цитогенетических показателей сосны меловой и сосны обыкновенной // Экология. – 2004. – № 3. – С. 185–189.

Буторина А. К., Черкашина О. Н., Ермолаева О. В. и др. Цитогенетический мониторинг аутохтонных лесов Усманского и Хреновского боров // Известия РАН. Серия биология. – 2007. – № 4. – С. 508–512.

Васильев Д. В., Кузьменков А. Г., Дикарева Н. С., Гераськин С. А. Влияние хронического облучения и погодных условий на популяции сосны обыкновенной Брянской области // Актуальные проблемы лесного комплекса. – 2015. – № 41. – С. 105–109.

Гераськин С. А., Васильев Д. В., Дикарев В. Г. и др. Оценка методами биоиндикации техногенного воздействия на популяции *Pinus sylvestris* L. в районе предприятия по хранению радиоактивных отходов // Экология. – 2005. – № 4. – С. 275–285.

Гришаева И. Г. Цитогенетика сосны меловой (в связи с вопросами экологии и таксономии): автореф. дис. ... на соиск. учен. степени канд. биол. наук. – Воронеж: Воронежский государственный университет, 2004. – 23 с.

Дорошев С. А. Влияние антропогенных стрессоров на изменчивость цитогенетических показателей у сосны обыкновенной: автореф. дис. ... на соиск. учен. степени канд. биол. наук. – Воронеж: Воронежский государственный университет, 2004. – 23 с.

Дуброва Н. А. Изучение дифференциальной активности ядрышковых организаторов хромосом у дикорастущих растений сем. Ranunculaceae // Цитология и генетика. – 1986. – № 4. – С. 302–303.

Егоркина Г. И., Валетова А. Е. Цитогенетическое изучение сосны обыкновенной в городских лесах г. Бийска // Ползуновский вестник. – 2004. – № 2. – С. 110–115.

Епринцев С. А., Клевцова М. А., Калаев В. Н., Шекоян С. В. Мониторинг состояния биотехносферы урбанизированных территорий (на примере города Воронежа) как фактора экологической безопасности населения // Вестник ВГУ, серия: География. Геоэкология. – 2017. – № 1. – С. 126–132.

Ермолаева О. В. Цитогенетическая оценка состояния насаждений сосны обыкновенной Цнинского, Усманского боров и некоторых урбозкосистем (на примере г. Воронежа): автореф. дис. ... на соиск. учен. степени канд. биол. наук. – Воронеж: Воронежский государственный университет, 2009. – 23 с.

Калаев В. Н. Цитогенетические реакции лиственных древесных растений на стрессовые условия и перспективы их использования для оценки генотоксичности окружающей среды: дис. ... на соиск. учен. степени докт. биол. наук : спец. 03.02.07 Генетика, 03.02.08 Экология. – Воронеж: Воронежский государственный университет, 2009. – 414 с.

Калаева Е. А., Артюхов В. Г., Калаев В. Н. Теоретические основы и практическое применение математической статистики в биологических исследованиях и образовании. – Воронеж : Издательский дом ВГУ, 2016. – 282 с.

Калашник Н. А. Полиморфизм нуклеолярных районов хромосом у сосны обыкновенной в различных экологических условиях // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2015. – Т. 17, № 6-1. – С. 209–214.

Калашник Н. А. Хромосомные нарушения как индикатор оценки степени техногенного воздействия на хвойные насаждения // Экология. – 2008. – № 4. – С. 276–286.

Калашник Н. А., Шафикова Л. М. Биоиндикация в лесных экосистемах и городах, подвергшихся промышленному загрязнению. Цитогенетический метод биоиндикации // Биоценологическая характеристика хвойных лесов и мониторинг лесных экосистем Башкортостана. – Уфа: Гилем, 1998. – С. 255–260.

Карпова С. С. Влияние антропогенного загрязнения на цитогенетический полиморфизм семенного потомства березы повислой (*Betula pendula* Roth) в естественных и искусственных древостоях: дис. ... на соиск. учен. степени канд. биол. наук : спец. 03.02.07 Генетика, 03.02.08 Экология. – Воронеж, 2011. – 149 с.

Корешков И. И., Ткачева Ю. А., Лаптева Е. В. Цитогенетические изменения у семян сосны крымской (*Pinus pallasiana* D. Don) насаждений техногенно загрязненных и нарушенных территорий // Промышленная ботаника. – 2013. – № 13. – С. 143–152.

Коршиков И. И., Ткачева Ю. А., Лаптева Е. В., Мильчевская Я. Г. Ядерно-ядрышковый полиморфизм в краевых популяциях четырех видов хвойных // Фактори експериментальної еволюції організмів. – 2013. – Т. 12. – С. 50–54.

Ладнова Г. Г., Федотова И. Э., Курочичская М. Г., Силотина В. В. Цитогенетические изменения в клетках апикальной меристемы зеленых насаждений города в зависимости от уровня антропогенной нагрузки // Юг России: экология, развитие. – 2017. – Т. 12, № 3. – С. 146–152.

Мазурова И. Э. Цитогенетика лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) в условиях интродукции и антропогенного стресса: дис. ... на соиск. учен. степени канд. биол. наук : спец. 03.00.15 Генетика, 03.00.16 Экология. – Воронеж: Воронежский государственный университет, 2008. – 142 с.

Минников И. В., Куролап С. А. Оценка эколого-хозяйственного баланса территории Воронежской области // Вестник ВГУ, серия: География. Геоэкология. – 2013. – № 1. – С. 129–136.

Муратова Е. Н., Корнилова М. Г., Пименов А. В. и др. Цитогенетические эффекты влияния горно-химического комбината на клетки элодеи канадской (*Elodea canadensis* Michx) // Вестник КрасГАУ. – 2006. – Вып. 14. – С. 159–163.

Попова А. А. Цитогенетический и морфологический полиморфизм дуба черешчатого семенного потомства деревьев дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) в условиях антропогенного загрязнения (на примере г. Воронеж): дисс. ... на соиск. учён. степени канд. биол. наук : спец. 03.02.07 Генетика, 03.02.08 Экология. – Воронеж: Воронежский государственный университет, 2014. – 142 с.

Поросенков Ю. В., Рогозина Р. Е. Проблемы эколого-экономического анализа возможности разработки медно-никелевых руд в Новохоперском районе Воронежской области // Вестник ВГУ, серия: География. Геоэкология. – 2014. – № 4. – С. 12–17.

Седельникова Т. С. Цитогенетический мониторинг хвойных как индикатор уровня экстремальности экосистем // Промышленная ботаника. – 2014. – Вып. 14. – С. 54–60.

Седельникова Т. С., Муратова Е. Н., Ефремов С. П. Кариологические особенности видов хвойных на болотах и суходолах Западной Сибири // Сибирский ботанический журнал. – 2000. – Т. 2, № 1. – С. 73–80.

Сенькевич Е. В. Цитогенетика сосны обыкновенной и берёзы повислой в районе Нововоронежской АЭС в связи с вопросами оценки загрязнения окружающей среды: дисс. ... на соиск. учён. степени канд. биол. наук : спец. 03.00.16 Экология. – Воронеж: Воронежский государственный университет, 2007. – 193 с.

Сергеева И. В., Пономарева А. Л., Мохонько Ю. М., Ведутенко А. И. Оценка экологического состояния водных экосистем Хоперского природного государственного заповедника с помощью методов биоиндикации // Человек и природа: грани гармонии и углы сопрякосновения. – 2012. – № 1. – С. 89–94.

Черкашина О. Н. Цитогенетический мониторинг насаждений сосны обыкновенной в условиях Хреновского и Усманского боров: автореф. дис. ... на соиск. учен. степени канд. биол. наук. – Воронеж: Воронежский государственный университет, 2007. – 23 с.

Butorina A. K., Evstratov N. The first detected case of amitosis in pine // Forest Genetics. – 1996. – Vol. 3, N 3. – P. 137–139.

Can A. A., Isik G., Yucel E. The effects of copper (CuCl₂) on mitotic cell division of Lebanon cedar (*Cedrus libani*) // Fresenius Environ Bull. – 2016. – Vol. 25. – N 1. – P. 4324–4326.

Chudzińska E., Wojnicka-Połtorak A., Prus-Głowacki W., Celin'ski K., B. Diatta J., Drobek L. Adaptation mechanisms of *Pinus sylvestris* L. in industrial areas // Heavy Metal Contamination of Soils. – Springer, Cham, 2015. – P. 195–213.

Firbas P., Amon T. Chromosome damage studies in the onion plant *Allium cepa* L. // Caryologia – 2014. – Vol. 67, N 1. – P. 25–35.

Google карты [Электронный ресурс]. – 2019. – Режим доступа: <https://www.google.com/maps/@51.217493,41.2509182,8.25z>. – Заголовок с экрана.

Iqbal M., Abbas M., Nisar J., Nazir A., Qamar A. Z. Bioassays based on higher plants as excellent dosimeters for ecotoxicity monitoring: A review // Chemistry International. – 2019. – Vol. 5, N 1. – P. 1–80.

Maluszynska J., Juchimiuk J. Plant genotoxicity: a molecular cytogenetic approach in plant bioassays // Arh Hig Rada Toksikol. – 2005. – Vol. 56. – P. 177–184.

Olorunfemi D.I., Olomukoro J.O., Anani O.A. Toxicity Evaluation and Cytogenetic Screening of Process Water Using a Plant Bioassay // Nigerian Journal of Basic and Applied Science. – 2015. – Vol. 23, N 1. – P. 31–37.

Ignatova I. V., Kalaev V. N., Eprintsev S. A., Kalaeva E. A. The limits of variability of cytogenetic parameters of Scots pine in the area of development of copper-nickel deposits in Voronezh region // Ekosistemy. 2019. Iss. 20. P. 57–67.

Since 2012 a copper-nickel field has been worked out in the Novokhopersk district of the Voronezh region in the direct nearness of the Khopersk State Nature Reservation. The aim of the work was the evaluation of the cytogenetic characteristics of pine trees on the territory of the Khopersk Reservation before the starting of geological exploration, to compare the obtained data with the results of the similar indicators study of Scots pine from other areas of the Voronezh region for the realization of long-term monitoring studies in the conditions of active working out of the copper-nickel field. The mitotic activity, the level and spectrum of mitosis pathologies, the proportion of cells at the pro-, meta-, ana- and telophase of mitosis, the average number of nucleoli in the nucleus, the proportion of cells with different numbers of nucleoli and the frequency of occurrence of cells with micronuclei in the seed progeny of Scots pine trees have been calculated. According to the results of 3 years of observations, the values of cytogenetic indicators and the limits of their variation were recommended as controls when realising cytogenetic monitoring in the copper-nickel mining zone: mitotic index – 5.3 ± 0.2 % (4.9–5.7 %); the level of disorders of mitosis – 1.6 ± 0.2 % (1.2–2.0 %); the proportion of cells at the prophase stage is 34.2 ± 1.4 % (31.5–36.9 %); metaphases – 37.4 ± 1.3 % (34.8–40.0 %); ana- and telophase – 26.9 ± 0.9 % (25.1–28.7 %). In the spectrum of mitosis pathologies, there were lagging chromosomes in anaphase and metakinesis, bridges in anaphase-telophase, agglutination in prophase and metaphase, and a single case of ring metaphase. The dispersions of mitotic index and level of pathological mitoses did not exceed the limits for pine, growing in ecologically clean areas of Voronezh region, which indicates a favorable environmental situation in the surveyed territory.

Key words: Novokhopersky district, copper-nickel developments, Scotch pine, cytogenetic monitoring.