

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра водных и наземных экосистем

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

_____ М.И. Гладышев

подпись

« _____ » _____ 2018 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01- Биология

Метод построения трахеидограмм формирующихся годовичных колец сосны
обыкновенной, произрастающей в условиях Минусинской котловины

Руководитель

профессор, д.б.н. П.П. Силкин

подпись, дата

Выпускник

Д.Р. Дергунов

подпись, дата

Красноярск 2018

РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа по теме «Метод построения трахеидограмм формирующихся годичных колец сосны обыкновенной, произрастающей в условиях Минусинской котловины» содержит 47 страниц текстового документа, 2 таблицы, 23 рисунка, 2 приложения, 29 источников.

МИНУСИНСКАЯ КОТЛОВИНА, ПОЛЕВОЙ ЭКСПЕРИМЕНТ, ДЕНДРОХРОНОЛОГИЯ, ГОДИЧНЫЕ КОЛЬЦА, ТРАХЕИДОГРАММЫ, ДИАМЕТР ТРАХЕИД, МЕТОД ДОВЕРИТЕЛЬНЫХ ИНТЕРВАЛОВ, КЛАСТЕРНЫЙ АНАЛИЗ.

Объект исследования: сосна обыкновенная. Цель работы: уточнение методики построения усреднённых трахеидограмм радиальных размеров и толщины клеточных стенок для формирующихся годичных колец сосны обыкновенной, произрастающей в условиях Минусинской котловины. Задачи:

1. Провести сезонный полевой эксперимент по изъятию образцов формирующихся годичных колец на разных этапах у сосны обыкновенной, произрастающей в условиях Минусинской котловины;
2. Получить микротомные препараты формирующейся ткани годичных колец;
3. Методами гистохимического анализа установить этапы формирования ткани годичных колец;
4. Провести измерения радиальных размеров и толщины клеточных стенок в разных зонах текущих формирующихся и сформированных в предыдущие годы годичных колец. Построить трахеидограммы клеточных параметров с разным количеством и расположением рядов трахеид;
5. Провести сравнительный анализ трахеидограмм, построенных разными способами выбора рядов трахеид и уточнить методику построения трахеидограмм для годичных колец сосны обыкновенной на разных стадиях формирования.

В результате проведённых исследований была установлена возможность получать полные и достоверные данные с любого участка изображения рядов трахеид в годичном кольце, включая формирующиеся кольца.

СОДЕРЖАНИЕ

РЕФЕРАТ.....	2
ВВЕДЕНИЕ.....	4
1 Обзор литературы	6
1.1 Теоретические сведения о строении годовичных колец хвойных.....	6
1.2 Основные принципы дендрохронологии	12
1.3 Примеры воздействий	15
1.4 Методические рекомендации по выбору объекта исследования.....	16
1.5 Климатическое и географическое описание района исследования .	16
2 Материалы и методы	21
2.1 Методика измерений.....	24
3 Результаты и обсуждения	25
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	29
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	31
ПРИЛОЖЕНИЯ А– Б	35

ВВЕДЕНИЕ

Дендрохронология как метод была разработана и апробирована А. Дугласом на примере датирования древних поселений индейцев Юго-Запада США [1]. В основе метода лежит зависимость радиального прироста и ряда других характеристик деревьев от изменений условий внешней среды. Отклик в годичном кольце может найти любое природное явление – облучение радиацией, засуха, и даже извержение вулкана [2]. Ежегодный прирост древесных пород, обладающих сходной реакцией на климат, за исключением индивидуальных случаев травмирования, крени, заболачивания и т.п., испытывает синхронные колебания, формируя уникальные сочетания ширины колец, благодаря которым возможно с большой степенью достоверности определить период жизни деревьев, произраставших ранее, что, в свою очередь, позволяет определять время событий, связанных с их гибелью, травмированием и захоронением [3]. Наиболее выраженными факторами среды, лимитирующим радиальный годичный прирост являются температура и режим увлажнения. В археологии датированию подвергаются, как правило, погребальные сооружения и наземные постройки различного типа; в геоморфологии – сели, камнепады, лавины и наступание горных ледников. Однако, следует учесть, что для постановки верного заключения необходимо использовать не только дендрохронологические методы, но и многие другие [4].

1. Клетки ксилемы зачастую (например, у хвойных) организованы в линейные ряды, являющиеся, по-видимому, клеточными клонами, возникшими из одной инициали;

2. Образование годичных колец в древесине позволяет получать календарные отметки времени по мере роста ткани;

3. Клеточная неоднородность зрелых клеток дает возможность анализировать особенности роста. Функция трахеид во многом определяется их размерами, следовательно, по простым анатомическим признакам клеток можно изучать рост не только в качественном, но и в количественном отношении;

4. Сохранение ксилемных клеток у дерева в течение всей жизни позволяет проанализировать полную динамику роста растения;

5. Изучение древесных клеток имеет уникальные методические преимущества. В первую очередь - это возможность многократного взятия материала без существенного повреждения самого растения. Кроме того, линейная упорядоченность клеточной структуры позволяет создавать автоматизированные системы для получения и обработки данных;

6. Количественный анализ анатомических измерений клеток дает возможность проследить влияние основных внешних и внутренних факторов, влияющих на рост и дифференцировку ксилемы и, используя выявленные количественные закономерности, реконструировать динамику внешних условий за большие промежутки времени. Это особенно важно для оценки как фоновой изменчивости среды обитания, так и антропогенных воздействий на отдельные растения и фитоценоз в целом[5].

Благодаря корректному применению древесно-кольцевого анализа появляется возможность изучить естественную изменчивость климата в прошлом и предсказать глобальные изменения природной среды в будущем[6].

Актуальность работы заключается в ниже следующем. Дендрохронология как наука способна ответить на массу вопросов самого разного характера [7]. Данные, полученные в результате изысканий в этой, и смежных областях, могут позволить реконструировать климат определенной местности, предсказать изменения климата в будущем, а также провести экологический мониторинг местности вокруг предприятий различной экономической направленности [8].

Однако, ныне актуальные методы разрабатывались лишь для клеточных диаметров в сформировавшихся годичных кольцах, методика использования данных, полученных из клеточных стенок, а также данных, полученных при измерении клеточных диаметров и клеточных стенок формирующихся годичных колец, научно не обоснована.

В связи с этим целью бакалаврской работы стало: уточнение методики построения усреднённых трахеидограмм радиальных размеров и толщины

клеточных стенок для формирующихся годовичных колец сосны обыкновенной, произрастающей в условиях Минусинской котловины.

Задачи:

- провести сезонный полевой эксперимент по изъятию образцов формирующихся годовичных колец на разных этапах у сосны обыкновенной, произрастающей в условиях Минусинской котловины.
- получить микротомные препараты формирующейся ткани годовичных колец.
- методами гистохимического анализа установить этапы формирования ткани годовичных колец.
- провести измерения радиальных размеров и толщины клеточных стенок в разных зонах текущих формирующихся и сформированных в предыдущие годы годовичных колец. Построить трахеидограммы клеточных параметров с разным количеством и расположением рядов трахеид.
- провести сравнительный анализ трахеидограмм, построенных разными способами выбора рядов трахеид и уточнить методику построения трахеидограмм для годовичных колец сосны обыкновенной на разных стадиях формирования.

1 Обзор литературы

1.1 Теоретические сведения о строении годичных колец хвойных

Годичные слои прироста древесины, хорошо видные на поперечном спиле, являются результатом развития камбия в вегетационный период [9]. Камбий представляет собой тонкий слой образовательной ткани, находящийся между ксилемой и лубом, состоящий из мелких тонкостенных клеток, способных к делению. Весной и в начале лета формируются крупные тонкостенные клетки у хвойных, и крупные, часто многочисленные сосуды у лиственных деревьев. Позже, в середине и конце лета, появляются мелкие тонкостенные клетки у хвойных, и мелкие сосуды у некоторых лиственных. Принято считать, что ранняя древесина хорошо приспособлена для транспорта воды по стволу дерева, тогда как поздняя обеспечивает стволу механическую прочность [10].

В результате этого в годичном кольце образуются различные по цвету, плотности, а также по размерам и форме клеток, слои ранней и поздней древесины. На величину годичного прироста деревьев (или активность камбиальных клеток) оказывает влияние большое количество как внутренних, так и внешних комплексно действующих факторов [11]. Из внутренних факторов наибольшее влияние оказывают порода дерева, наследственная индивидуальная изменчивость, возраст и плодоношение.

Из внешних факторов на величину прироста влияют климатические и почвенно-грунтовые условия, фитоценотические взаимоотношения, разного рода катастрофы (пожары, буреломы, нападения насекомых вредителей), а также хозяйственная деятельность человека. Радиальный прирост деревьев (ширина годичного кольца) находится под контролем внутренних факторов, а также модифицируется внешними [12].

Камбий имеет черты, присущие всем меристематическим тканям, но как высокоспециализированная вторичная меристема обладает специфическими особенностями:

1. Это самоподдерживающаяся клеточная система, то есть она сохраняет свои функции в течение достаточно долгого времени, а часто и в течение всей жизни растения;

2. У древесных растений за счёт роста дерева растёт и размер камбия. Увеличение численности клеток камбия происходит как делением самих камбиальных клеток, так и путём дифференцировки клеток первичной (апикальной) меристемы;

3. Производные камбия могут дифференцироваться в различные типы клеток флоэмы и ксилемы;

4. Камбий имеет строго упорядоченную пространственную организацию. Клетки камбия образуют непрерывный слой, выстилающий ствол, ветви и корни. Поэтому камбий, с одной стороны, распределен в пространстве, а с другой – представляет собой связную систему, где соседние клетки находятся в непосредственном контакте. Пространственная организация камбия важна с точки зрения регуляции его активности, поскольку накладывает ряд специфических требований на механизмы регуляции. Другой, не менее значимой стороной организации камбия является то, что камбий является основой (зародышем) пространственной клеточной организации ксилемы и флоэмы. Например, камбий формирует упорядоченные радиальные ряды трахеид в древесине хвойных, слои сосудов в ранней древесине кольцесосудистых пород, и так далее [10].

Приводя общий план строения древесины хвойных, можно сказать, что древесина состоит из ограниченного набора анатомических элементов, организованных в довольно упорядоченную структуру [13].

Проводящую и механическую функции выполняют прозенхимные клетки с отмершим протопластом — трахеиды, которые в растущем дереве

расположены главным образом вертикально. Они занимают свыше 90 % объема древесины. Запасающую функцию выполняют живые паренхимные клетки.

У всех хвойных пород трахеиды (от гр. *tracheia* — дыхательное горло и *idos* — вид) имеют форму сильно вытянутых волокон с одревесневшими стенками и кососрезанными концами. На поперечном разрезе у большинства пород они по форме близки к прямоугольникам (иногда квадратам), а у лиственницы к пяти — или шестиугольникам. Трахеиды собраны в радиальные ряды. В каждом ряду крупнополостные трахеиды с относительно тонкими стенками сменяются трахеидами, отличающимися малыми полостями и толстыми стенками. Первые из указанных клеток образуются в начале вегетационного периода и называются ранними трахеидами. Они выполняют в основном проводящую функцию. Вторые — поздние трахеиды — играют роль преимущественно механических элементов. У лиственницы радиальный размер ранних трахеид в среднем 52 мкм, поздних 22 мкм; сосны соответственно 40 и 20 мкм. Тангенциальный размер трахеид у этих пород равен примерно 30 мкм. Длина трахеид у лиственницы в среднем 2,6 мм, у сосны 2,8 мм, а у ели от 2,6 до 5 мм. В ранних трахеидах на радиальных стенках, особенно концов, находится множество (70-90) крупных окаймленных пор с округлыми отверстиями. В поздних трахеидах поры располагаются не только на радиальных, но иногда и на тангенциальных стенках. Диаметр окаймленных пор у разных пород колеблется от 8 до 31 мкм, а диаметр отверстия от 4 до 8 мкм. В окаймленных порах мембрана иногда отклонена от центрального положения и торус закрывает отверстие поры. Количество таких закрытых пор, через которые проникновение жидкостей затруднено, в ранних трахеидах ядра (спелой древесины) растущих деревьев значительно больше, чем в поздних трахеидах. В. А. Басенов, В. Е. Москалева, Е. В. Харук установили, что в сухой древесине существенных различий в положении торуса в трахеидах ядра и заболони не наблюдается [14].

Паренхимные клетки в древесине хвойных пород главным образом входят в состав сердцевинных лучей (лучевая древесинная паренхима), а также

сопровождают смоляные оды и находятся в виде осевой древесинной паренхимы. В отличие от трахеид, паренхимные клетки в дереве — живые.

Сердцевинные лучи у хвойных пород, как указывалось выше, среднем занимают 5-8 % общего объема древесины; у лиственницы, сбрасывающей зимой хвою, — 10 %. На поперечном разрезе сердцевинные лучи состоят из одного ряда паренхимных клеток, не относятся к категории очень узких лучей, не видимых невооруженным глазом. На радиальном разрезе сердцевинные лучи по высоте состоят из нескольких рядов паренхимных клеток с простыми порами. У лиственницы, сосны, кедра и ели сердцевинные лучи неоднородные: по их верхнему и нижнему краям располагаются горизонтальные (лучевые) трахеиды с мелкими окаймленными порами. Горизонтальные и вертикальные трахеиды в растущем дереве являются мертвыми элементами. У пихты, можжевельника и тиса лучи однородные, они состоят только из паренхимных клеток [15].

Паренхимные клетки сердцевинных лучей сосны имеют по одной, а кедра — по две крупные простые (оконцевые) поры, соответствующее количество таких пор по ширине трахеид обнаруживается на участке их перекрещивания с сердцевинными лучами. У сосны, кедра, лиственницы и ели часто встречаются сердцевинные лучи, которые на тангенциальном разрезе в средней части имеют несколько паренхимных клеток по ширине. В таких сердцевинных лучах проходят горизонтальные смоляные ходы.

Сердцевинные лучи в растущем дереве не только хранят запасные питательные вещества в период покоя, но и проводят растворы [16].

Смоляные ходы образуют единую смолоносную систему, состоящую из пересекающихся вертикальных и горизонтальных ходов. У вертикальных смоляных ходов внутренний слой представляет собой клетки эпителия, выделяющие смолу. За этими клетками, выстилающими полость хода, следует слой пустых мертвых клеток, а снаружи находится слой живых клеток сопровождающей паренхимы. Горизонтальные смоляные ходы проходят в сердцевинных лучах и поэтому состоят только из клеток эпителия и слоя

мертвых клеток. Клетки эпителия имеют тонкие оболочки и выглядят, как пузыри, вдающиеся в канал хода. Если ход заполнен смолой, выстилающие клетки вследствие большого давления становятся плоскими и прижимаются к стенкам канала[17].

Размер полости вертикального хода в тангенциальном направлении соответствует примерно четырем трахеидам. В горизонтальных смоляных ходах, диаметр которых в 2,5-3 раза меньше, чем вертикальных, находятся более мелкие клетки эпителия.

Осевая древесинная паренхима встречается в очень небольшом количестве у всех хвойных пород (кроме сосны и тиса) в виде одиночных клеток или вытянутых вдоль оси ствола тяжёлых паренхимных клеток. На продольных разрезах клетки древесинной паренхимы имеют прямоугольную форму, длина их в 3-4 раза больше ширины.

Рост годичного кольца происходит в результате периклиналильных делений клеток камбиальной зоны и их дифференцировки. Скорость роста зависит от количества клеток в камбиальной зоне и скорости их деления. У хвойных пород рост годичного кольца в течение сезона всегда сопровождается изменением численности клеток камбиальной зоны, которая имеет общую для всех видов характерную динамику. В покое размер камбиальной зоны достигает минимума и обычно составляет 2-4 ряда клеток [18]. После активации камбия в начале сезона роста размер камбиальной зоны увеличивается, и число клеток в ней достигает максимальных значений (5-20 и более клеток). В зависимости от условий роста и от вида растения достигнутый уровень численности может сохраняться достаточно продолжительное время, в течение которого формируется основное количество трахеид. Затем размер камбиальной зоны постепенно уменьшается.

Так же, на радиальный прирост существенное влияние оказывает второй этап созревания клеток – растяжение [19]. В вакуоль осмотическим путем поступает вода, объем вакуоли при этом значительно увеличивается, возрастает тургорное давление протопласта на клеточную стенку. Растущие клетки

начинают активно синтезировать ауксин, который индуцирует активный транспорт (выход) ионов H^+ из цитоплазмы в апопласт. Закисление зоны апопласта приводит к разрыхлению клеточной стенки, увеличивает ее пластичность. Одновременно с этим процессом из протопласта путем экзоцитоза поступают фрагменты микрофибрилл целлюлозы, гемицеллюлоз, пектиновых веществ, структурных белков экстензинов, из которых формируется вторичная многослойная клеточная стенка. В конце фазы растяжения происходит лигнификация клеточных стенок. Первичная клеточная стенка формируется при делении и сохраняется во время роста клетки. Формирование вторичной клеточной стенки происходит с внутренней стороны от первичной стенки и связано с окончанием роста и дифференцировкой клеток растения. В конце фазы растяжения усиливается лигнификация клеточных стенок, что снижает ее упругость и проницаемость, накапливаются ингибиторы роста, повышается активность оксидазы ИУК, снижающей содержание ауксина в клетке [20].

1.2 Основные принципы дендрохронологии

Закон лимитирующих факторов: рост древесных растений не может протекать быстрее, чем это позволяет внешним или внутренним фактором, находящимся в минимуме. В случае, если этот фактор переходит в разряд оптимальных, скорость роста будет увеличиваться до тех пор, пока другой фактор не станет лимитирующим. Согласно этому закону, для дендрохронологического анализа наиболее пригодны те деревья, на прирост которых оказывает влияние тот или иной лимитирующий фактор, в предельном случае - только один.

Принцип отбора районов и местообитаний: при проведении дендрохронологических исследований образцы древесины должны браться у деревьев, которые произрастают в неблагоприятных и экстремальных

климатических условиях, где наиболее полно проявляется действие лимитирующих факторов.

Принцип чувствительности: в благоприятных для роста деревьев районах и местообитаниях формируются широкие годичные кольца. При этом у таких деревьев хорошо выражены изменения прироста с возрастом, а величина прироста между соседними годами колеблется в незначительных пределах. Подобная последовательность называется «благодушной». В неблагоприятных для произрастания деревьев условиях кольца прироста узкие, их ширина значительно колеблется от года к году, возрастная кривая роста выражена слабо. Часто наблюдается выпадение колец. Такие серии колец называются «чувствительными». Они свидетельствуют о том, что на рост деревьев большое влияние оказывают факторы внешней среды.

Принцип перекрестного датирования: деревья, произрастающие в пределах схожего в климатическом отношении района, величиной прироста сходно реагируют на изменения лимитирующих климатических факторов. В благоприятные по климатическим условиям годы у большей части деревьев формируются широкие кольца, а в неблагоприятные - узкие. В связи с этим у таких деревьев наблюдается синхронная изменчивость величины прироста во времени. Особое внимание следует уделять узким кольцам, так как прирост в наибольшей степени лимитируется тем или иным климатическим фактором. Метод перекрестного датирования позволяет выявлять местонахождение ложных и выпавших колец и производить абсолютную и относительную датировку каждого кольца с точностью до года у сравниваемых индивидуальных древесно-кольцевых хронологий, а также продлевать хронологии далеко вглубь веков на основе использования древесины давно отмерших деревьев.

Принцип повторности: использование информации с некоторого числа модельных деревьев (чем больше, тем лучше), является фундаментальным условием достоверной датировки колец, построения надежных древесно-

кольцевых хронологий и производства более точной реконструкции условий среды в настоящем и будущем.

Принцип униформизма (актуализма): физические и биологические процессы, обуславливающие изменения в росте дерева под воздействием факторов окружающей среды в настоящее время, вызывали подобные же изменения в прошлом. Этот принцип является обоснованием широкого использования древесно-кольцевых хронологий для реконструкции прошлых условий окружающей среды[21].

Достоинства дендрохронологических методов:

- Высокая разрешающая способность древесно-кольцевых хронологий (год и сезон года);
- Возможность абсолютной и относительной датировки времени формирования годичных колец, как у живых, так и давно отмерших деревьев;
- Возможность получения длительных и непрерывных хронологий (сотни и тысячи лет);
- Возможность выявлять колебания различной длительности в изменчивости различных характеристик прироста деревьев и определяющих прирост факторов внешней среды;
- Возможность получения информации для огромных территорий суши, где растут или росли в прошлом древесные растения.

Недостатки дендрохронологических методов:

- Невозможность выявления колебаний и трендов в хронологиях, длительность которых превышает возраст использованных деревьев;
- Сильная зависимость числа исследуемых деревьев на точность датировки годичных колец и надежность реконструкции параметров внешней среды;
- Различия в реакции прироста дерева на одни и те же факторы внешней среды и в случае резкого и быстрого изменения климатических и почвенно-грунтовых условий;
- Сходная реакция прироста древесины на различные факторы среды.

Процесс дендрохронологических исследований включает в себя ряд последовательных действий: в первую очередь необходимо выбрать объект исследования и отобрать древесину, затем подготовить образцы для анализа, а после провести саму датировку и измерение характеристик древесных колец.

На объекты исследования могут оказывать влияние несколько факторов окружающей среды и воздействий[22].

1.3 Примеры воздействий

Температурное воздействие. Это могут быть низовые пожары, приводящие к локальным нагревам ствола дерева, что вызывает гибель камбиальных клеток и клеток формирующегося кольца текущего года. На спилах деревьев эти пожарные отметины хорошо визуально различимы, что позволяет проводить датировку каждого пожара и получать хронологию интенсивности возникновения пожаров на изучаемой территории.

Прямое механическое воздействие. Часто возникает в результате оползней, камнепадов. Приводит к гибели камбиальных клеток и деформации или гибели клеток формирующегося годичного кольца. Как и в случае пожарных отметин, данное воздействие хорошо идентифицируется и позволяет получать хронологию изучаемого события.

Радиационное воздействие. Развитие прикладных аспектов ядерной физики в последние десятилетия привело к появлению нового вида непосредственного воздействия на формирующееся годичное кольцо – радиационное воздействие. При высоких дозах возникают анатомические нарушения структуры годичных колец, связанные с гибелью инициалей и изменением режима делений инициалей и ксилемных материнских клеток.

Безусловно, есть масса и других воздействий, влияние которых носит косвенный характер. Не менее важны такие характеристики как – географическое расположение, состав почвы, увлажненность почвы и воздуха, а также некоторые другие[23].

1.4 Методические рекомендации по выбору объекта исследования

Выбор пробных площадок (тест-полигонов) для дендроэкологических исследований проводится с учетом ряда особенностей характерных для лесных массивов нашего региона. Не следует забывать, что наиболее чувствительными к изменениям климата являются высокоширотные и горные экосистемы [24]:

1. Выбираются участки леса естественного или искусственного происхождения, находящиеся на водоразделах крупных и малых рек.

2. Особое внимание обращается на лесорастительные условия. У сосны обыкновенной возможен отбор модельных деревьев с привязкой к следующим типам местообитаний: сухие, свежие и заболоченные. Для ели, дуба и липы модельные деревья следует отбирать в местообитаниях с одинаковыми лесорастительными условиями.

3. Выбор модельных деревьев на конкретных участках осуществляется по общепринятой методике.

4. Отбираются лишь такие модельные деревья, на прирост которых не климатические факторы оказывают наименьшее влияние. Не должны рассматриваться деревья на тех участках где: (а) значительно выражено влияние фитоценологических факторов, (б) происходили существенные изменения почвенно-грунтовых условий.

5. Предпочтение отдается старовозрастным деревьям, для того чтобы получить более длительные древесно-кольцевые хронологии [25].

1.5 Климатическое и географическое описание района исследования

Климат Минусинской котловины разнообразен, что обусловлено особенностями географического положения и рельефа. Особенности климата формируются под влиянием солнечной энергии, рельефа, растительности, циркуляции атмосферы и т.д.

Суммарная величина солнечной радиации в степной части Хакасии значительно больше, чем на соответствующих широтах в более западных районах России. Здесь преобладает ясная малооблачная погода. Основной причиной засушливости климата является влияние горных хребтов, создающих дождевую тень.

В Хакасии преобладают сильные юго-западные ветры, которые особенно характерны для весеннего периода, в течение которого весьма вероятно появление пыльных бурь. Открытость территории с севера способствует проникновению арктического воздуха. Подводя итог, можно сказать, что климат на территории Минусинской котловины резко континентальный, с жарким, засушливым летом, и холодной зимой. Максимальная амплитуда колебаний температуры в отдельные годы превышает 80 градусов по Цельсию (от -40 до +40). Среднегодовая температура воздуха - 0,4°C. Период с положительной температурой 200 дней. Ясных и солнечных дней 311. Зима (ноябрь-март) холодная сухая, с устойчивыми морозами (абс.мин. - 52). Устойчивый снежный покров образуется в начале ноября. Грунт промерзает в среднем до 2 м. Весна (апрель-май) короткая и дружная, дневная температура 4 - 15°C, по ночам заморозки до - 3. Снег сходит в апреле, в лесу, в горах местами держится до июля.

Заморозки заканчиваются в мае, в горах в конце июня. Лето (июнь - август) средняя дневная температура 18 - 24°C (абс. макс. 38°C). В августе выпадает наибольшее количество осадков (более 55 % годовой нормы) в основном в виде дождей ливневого характера. Осень (сентябрь-октябрь) в основном сухая, солнечная, морозящие дожди 8 - 10 дней в месяц. Количество осадков 300-700 мм в год. Ветры в течении года преобладают юго-западные и западные 2 - 3 м/сек. Весной и осенью до 15 м/сек, и более. Вегетационный период до 150 дней (в долинах).

В горных районах континентальность климата выражена меньше, в связи явлением инверсии температуры в зимний период.

Образцы были собраны в южном районе Минусинской котловины, в сосновом бору между Абаканом и Минусинском, неподалёку от трассы Р-257 “Енисей” (Рисунок 1).

Лесной массив полностью представлен сосной обыкновенной.

На карте ниже представлено место проведения сбора образцов, с указанными координатами и высотой над уровнем моря.



Рисунок 1 - Координаты места сбора: $53^{\circ}39'21.6''N$ $91^{\circ}35'12.3''E$, высота над уровнем моря – около 250 метров

Средняя температура января -18° , июля - до $+21,1^{\circ}$; вегетационный период составляет около 160 дней; осадков в центр, части котловины около 300 мм в год. Более детальные данные представлены в таблице 1.

В котловину попадает мало влаги с океана, поскольку есть преграда влажному воздуху — хребты. Зимой в котловинах Сибири наблюдается «перевернутая температура» — инверсия, то есть повышение температуры с высотой. В условиях антициклональной погоды холодный воздух, стекая в котловину, застаивается, выхолаживается, и температура достигает до $-40-50$

градусов. Снега в Минусинской котловине выпадает мало. Местные жители проводят снегозадержание и снегонакопление, для создания запаса влаги на весенний период. Лето в котловине очень теплое и даже жаркое и сухое [26].

Таблица 1 – среднемесячные температуры и норма осадков в Минусинской котловине

Месяц	Средняя температура, °С	Норма осадков, мм
Январь	-19,5	8
Февраль	-17,8	6
Март	-8,1	6
Апрель	3,1	14
Май	10,9	33
Июнь	17,4	52
Июль	19,8	62
Август	16,8	58
Сентябрь	9,8	37
Октябрь	1,9	21
Ноябрь	-8,6	13
Декабрь	-16,7	11
Год	0,9	326

На рисунке 2 представлен график, отражающий среднюю температуру воздуха с места сбора образцов.



Рисунок 2 – Средняя температура воздуха

График показывает, насколько большие перепады температур переносит объект исследования в условиях климата Минусинской котловины. Хотя перепады температур весьма внушительные, что обусловлено резко континентальным климатом, температура меняется постепенно, без сильных скачков, что является, безусловно, смягчающим фактором.

На рисунке 3 изображен график, показывающий среднее количество осадков, выпадающих за год.



Рисунок 3 – Средняя норма осадков, выпавших за год

2 Материалы и методы

При выборе места полевого эксперимента руководствовались методическими рекомендациями, изложенными в учебно-методическом пособии за авторством Шиятова, Ваганова, и др. Поскольку целью дипломной работы является уточнение методики построения трахеидограмм для годовичных колец на разных стадиях формирования, целесообразно было выбрать наиболее типичное местообитание с минимальным влиянием лимитирующих факторов, а так же отобрать модельные деревья, испытывающие минимальные лимитирующие воздействия в условиях этого местообитания, для минимизации фоновых отклонений в трахеидах, связанных с этими воздействиями.

Всего было отобрано 5 модельных деревьев сосны обыкновенной, произрастающих в Минусинской котловине, в лесном массиве вблизи трассы Абакан-Минусинск ($53^{\circ}39'21.6''N$ $91^{\circ}35'12.3''E$, высота над уровнем моря – около 250 метров).

Полевой эксперимент проводился в течение конца июля – начала августа 2016 года, изъятие материала проводилось каждую неделю, методом точечных вырубков, при помощи инструмента, изображённого на рисунке 4.



Рисунок 4 – Инструмент для изъятия образцов

Эксперимент усложнялся необходимостью получения образцов, содержащих именно формирующееся годичное кольцо, в связи с чем некоторые вырубki было решено продублировать, для исключения возможности потери необходимых данных.

Маркировка проводилась следующим образом: первое число обозначает номер модельного дерева, число после точки – неделю изъятия образца с момента начала эксперимента. После маркировки образцы помещались в консервирующую жидкость - смесь дистиллированной воды, глицерина, и 95% этилового спирта, в соотношении 1:1:1.

Итогом полевого эксперимента являются 32 вырубki модельных деревьев, взятых в различные периоды формирования годичных колец, полностью готовых к микромиранию, и последующему гистохимическому анализу.

Микромирание осуществлялось на санном микротоме НМ 450, изображённом на рисунке 6, в лаборатории петрографии, расположенной в ИНиГ СФУ. Для получения снимка высокого качества, древесину необходимо микромировать на максимально тонкие фрагменты. От толщины препарата напрямую зависит как качество дальнейшего гистохимического анализа, так и однородность, и разрешение будущей фотографии. В связи с особенностями строения древесины сосны обыкновенной, толщина микромирания варьировалась от 0.15 мкм до 0.35 мкм.



Рисунок 5 – Микротом НМ 450

После приготовления микротомных препаратов, производился гистохимический анализ - пятиминутное окрашивание препарата сафранином и звёздным голубым, в соотношении 1:1.

Окрашивание этими красителями позволило получить контрастную, хорошо различимую даже невооружённым взглядом картинку, демонстрирующую зональность прироста клеток. После промывки в дистиллированной воде, готовые препараты закреплялись на предметном стекле, для среды использовался глицерин.

В результате фотографирования образцов средствами Системы анализа изображений(САИ),удалось получить высококонтрастные снимки высокого разрешения, демонстрирующие различные этапы формирования годичного кольца.

Далее, полученные изображения клеточного массива обрабатывались специализированными программными средствами Lineyka и ProcessorKR, которые позволили перенести информацию о клеточных размерах трахеид в численной форме.

Для статистического оценивания достоверности данных, полученных в результате обработки изображений рядов трахеид использовались методы доверительного интервала и кластерного анализа, вычисления проводились средствами ПО STATISTICA.

2.1 Методика измерений

Поскольку целью дипломной работы являлось уточнение методики построения трахеидограмм для формирующейся древесины, необходимо было также построить трахеидограммы уже сформировавшегося кольца, для получения контрольных данных.

На рисунке 8 изображены различные подходы для измерения рядов трахеид. Каждая фотография содержит два годичных кольца: сформированное, и формирующееся. Каждое из колец было условно поделено на три части, с приблизительно равным количеством рядов. Проводилось четыре измерения рядов трахеид каждой трети годичного кольца, а также общее измерение всего клеточного массива, также в количестве четырех рядов, с равным шагом, индивидуально выбранным для каждого образца.

Все данные, полученные в результате выполнения этих задач, были обработаны статистическим кластерным анализом и методом доверительных интервалов [27], нанесённым на трахеидограммы, для выявления наиболее оптимального метода измерения клеточных размеров, а также установления достоверности данных, полученных из формирующейся древесины и клеточных стенок.

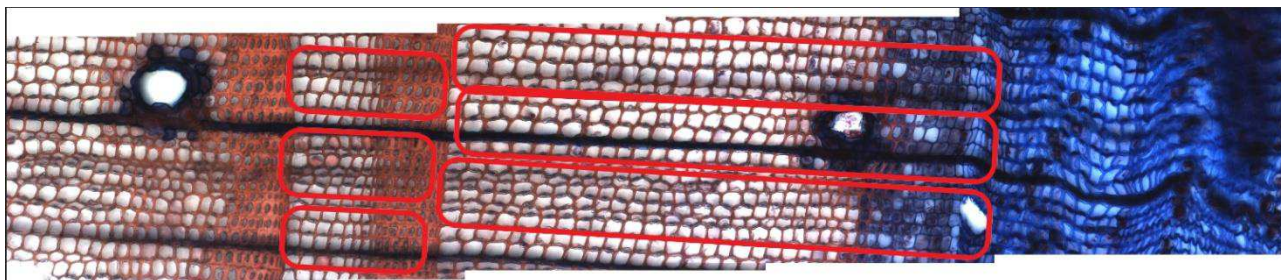


Рисунок 6 – различные методы измерения рядов трахеид.

3 Результаты и обсуждения

Результатами полевого эксперимента, поставленного в ходе выполнения выпускной квалификационной работы, стали 32 высечки сосны обыкновенной (рисунок 8), произрастающей в условиях Минусинской котловины. (Таблица 2)

[изъято 4 страницы]

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате выполнения поставленных задач, были получены следующие результаты: при проведении сезонного полевого эксперимента в районе Минусинской котловины, собраны вырубki древесины сосны обыкновенной. Данные образцы были микротомированы, подвергнуты гистохимическому анализу методом дифференциального окрашивания, и обработаны средствами САИ, результатом чего являются высококонтрастные снимки сформировавшихся и формирующихся годовичных колец в высоком разрешении.

После измерения фотографий четырьмя различными методиками, а также обработки полученных результатов методами кластерного анализа, было установлено: среди рядов трахеид нет родственных кластеров в пределах одного годовичного кольца, что свидетельствует о возможности получать полные и достоверные данные с любого участка изображения годовичного кольца. Анализ, проведённый методом доверительных интервалов свидетельствует о сохранении закономерностей каждого ряда трахеид в созревающем кольце, что позволяет использовать толщину клеточных стенок трахеид и их диаметров для исследований в области дендрохронологии.

Таким образом, можно сделать вывод о достоверности данных, получаемых из любого участка изображения рядов трахеид как созревшего годовичного кольца, так и созревающего.

В ходе выполнения выпускной квалификационной работы были решены следующие задачи:

1. Проведён сезонный полевой эксперимент по изъятию образцов формирующихся годовичных колец на разных этапах у сосны обыкновенной, произрастающей в условиях Минусинской котловины;
2. Получены микротомные препараты формирующейся ткани годовичных колец;
3. Методами гистохимического анализа были установлены этапы формирования ткани годовичных колец;

4. Проведены измерения радиальных размеров и толщины клеточных стенок в разных зонах текущих формирующихся и сформированных в предыдущие годы годичных колец. Построены трахеидограммы клеточных параметров с разным количеством и расположением рядов трахеид;

5. Проведён сравнительный анализ трахеидограмм, построенных разными способами выбора рядов трахеид и уточнена методика построения трахеидограмм для годичных колец сосны обыкновенной на разных стадиях формирования.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Сердобов, В.Н. Построение длительной древесно-кольцевой хронологии для Алтае-Саянского региона / В.Н. Сердобов // Журнал Сибирского Федерального Университета. – Красноярск, 2012. - № 2. - С. 138-141.
2. Герасимова, О.В. [и др.] Климатически обусловленная динамика радиального прироста кедра и пихты в горно-таежном поясе природного парка «Ергаки» / О.В. Герасимова [и др.] // JournalofSiberianFederalUniversity. – Красноярск, 2010. - №3. – С. 18-29.
3. Назаров, А.Н., Мыглан, В.С. Перспективы построения 6000-летней хронологии по сосне сибирской для территории Центрального Алтая. / А.Н. Назаров и В.С Мыглан // JournalofSiberianFederalUniversity. – Красноярск, 2012. - №5. – С. 70-88.
4. Мыглан, В.С. [и др.] Построение древесно-кольцевой хронологии и реконструкция летней температуры воздуха юга Алтая за последние 1500 лет / В.С. Мыглан [и др.] // География и природные ресурсы. – 2012. - №3. - С. 22–30.
5. Скомаркова, М.В. [и др.] Климатическая обусловленность радиального прироста хвойных и лиственных пород деревьев в подзоне средней тайги Центральной Сибири. / М.В. Скомаркова [и др.] // География и природные ресурсы. – Новосибирск, 2009. - №2. – С. 80-85.
6. Силкин, П.П. Методы многопараметрического анализа годичных колец хвойных: монография / П.П. Силкин. – Красноярск: СФУ, 2010. - 335с.
7. Силкин, П.П. Многопараметрический анализ структуры годичных колец в дендрэкологических исследованиях: дис. ...д-ра биол. наук : 03.00.02 / Силкин Павел Павлович. - Красноярск, 2009. - 506с.
8. Бабушкина, Е. А. [и др.] Трансформация климатического отклика в радиальном приросте деревьев в зависимости от топоэкологических условий их произрастания / Е.А. Бабушкина [и др.] // – Красноярск, 2010. - №3 - С. 159-166.

9. Mygland, V.S. and etc. A 2367- year tree-ring chronology for the Altai-Sayan region (Mongun-Taiga Mountain Massif) / V.S. Mygland and etc. // *Archaeology Ethnology & Anthropology of Eurasia*. – 2012. - №40. – p. 76-83.
10. Тишин, Д. В. Дендрэкология (методика древесно-кольцевого анализа): учебно-методическое пособие / Д.В. Тишин. – Казань: Казанский университет, 2011. – 33 с.
11. Гистометрический анализ роста древесных растений: монография / Е.А. Ваганов [и др.] ; отв. ред. И.А. Терсков ; Академия Наук СССР, Институт Биофизики. – Новосибирск, 1985. – 101с.
12. Малышева, Н.В. [и др.] Изучение ленточных боров Алтайского края методами дендрохронологии и дистанционного зондирования / Н.В. Малышева [и др.] // *Известия Алтайского государственного университета*. – 2013. - №3. – С. 134-137.
13. Рыгалова, Н.В. Изучение локальных особенностей радиального прироста сосны обыкновенной Касмалинского и Барнаульского ленточных боров методом пунктирной трансекты / Н.В. Рыгалова // *Известия Алтайского государственного университета*. – 2014. - №1. – С.78-83.
14. Ловелиус, Н.В., Ретеюм, А.Ю. Колебания роста лиственницы в редколесье северной тайги в самом северном лесном острове «Ары-Мас» / Н.В. Ловелиус, А.Ю. Ретеюм // *Общество. Среда. Развитие (Terra Humana)*. – 2011. - №1. – С.239-243.
15. Panushkina, Irina P. and etc. Spatial-temporal variation of radial tree growth in relation to climate in the north of Middle Siberia / Irina P. Panushkina and etc // *Dendrochronologia*. – 1996. - №14. - P. 115-126.
16. Дендрохронологический анализ природных процессов в криолитозоне (на примере Центральной Якутии) [Текст] : автореферат дис. ... д-ра биол. наук : 03.02.08 : защищена 28.10.2011 / А. Н. Николаев ; науч. конс. Е. А. Ваганов; Рос. акад. наук, Ин-т мерзлотоведения им. П. И. Мельникова. - Якутск, 2011. - 40 с. Булыгина, О.Н., Разуваев, В.Н., Александрова, Т.М.

17. Связь дендрохронологии с крупными биосферными явлениями (на примере изменений ширины годовых древесных колец хвойных растений после извержений вулканов) [Электронный ресурс]: VIP-studio – Журнал «Современная наука» / Серия «Естественные и Технические науки» - 2015, №07-08. – Режим доступа: <http://www.vipstd.ru/nauteh/index.php/ru/>
18. Schweingruber, F. H. Tree-Ring: Basics and Applications of Dendrochronology / F. H.Schweingruber // Dordrecht: Reidel- 1988. – 276 p.
19. Schweingruber, F. H. Tree-Rings and Environment. Dendroecology / F. H. Schweingruber // Berne; Stuttgart; Vienna: Paul Haupt: Birmensdorf, Swiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research - 1996. – 609 p.
20. Яценко-Хмелевский, А.А. Основы и методы анатомического исследования древесины / А.А. Яценко-Хмелевский // Москва: Изд-во АН СССР, 1954. – 337 с.
21. Чавчавадзе, Е.С. Древесина хвойных / Е.С. Чавчавадзе // Ленинград: Наука, 1979. – 190 с.
22. Шиятов, С.Г. Дендрохронология верхней границы леса на Урале / С.Г. Шиятов // Москва: Наука, 1986. – 136 с.
23. Историко-дендрохронологический анализ памятников деревянного зодчества северо-запада Иркутской области [Текст] : автореферат дис. ... канд. ист. наук : 07.00.09 : защищена 30.03.2012 / З. Ю. Жарников ; науч. рук. Е. А. Ваганов; Сиб. федер. ун-т. - Томск, 2012. - 23 с.
24. Малышева, Н. В. Дендрохронологические исследования ленточных боров юга Западной Сибири: монография / Н. В. Малышева, Н. И. Быков. Алтайский университет [АлтГУ], 2011. – 237с.
25. Румянцев, Д.Е. Потенциал использования дендрохронологической информации в лесной науке и практике: дис. ... д-ра биол. наук : 03.02.08 / Денис Евгеньевич Румянцев. – Москва, 2011. – 128с.
26. Дендрохронология и дендроклиматология: монография / Академия наук [АН] СССР. Сибирское отделение [СО]. Лимнологический институт; отв.

ред.: Л. А. Кайрюкшис, Г. И. Галазий, С. Г. Шиятов. - Новосибирск: Наука. Сибирское отделение [СО], 1986. - 201 с.

27. Описание массива данных суточной температуры воздуха и количества осадков на метеорологических станциях России и бывшего СССР (ТТТР) / О.Н. Булыгина, В.Н. Разуваев, Т.М. Александрова

28. Гмурман, В.Е. Руководство к решению задач по теории вероятностей и математической статистике: учебное пособие / В.Е. Гмурман – Москва : Высш. школа, 1979. - 400 стр.

29. Google карты [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <https://www.google.ru/maps> (дата обращения: 17.01.16).

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Использование метода доверительных интервалов для трахеидограмм



Рисунок 11 - Метод доверительных интервалов

Продолжение приложения А

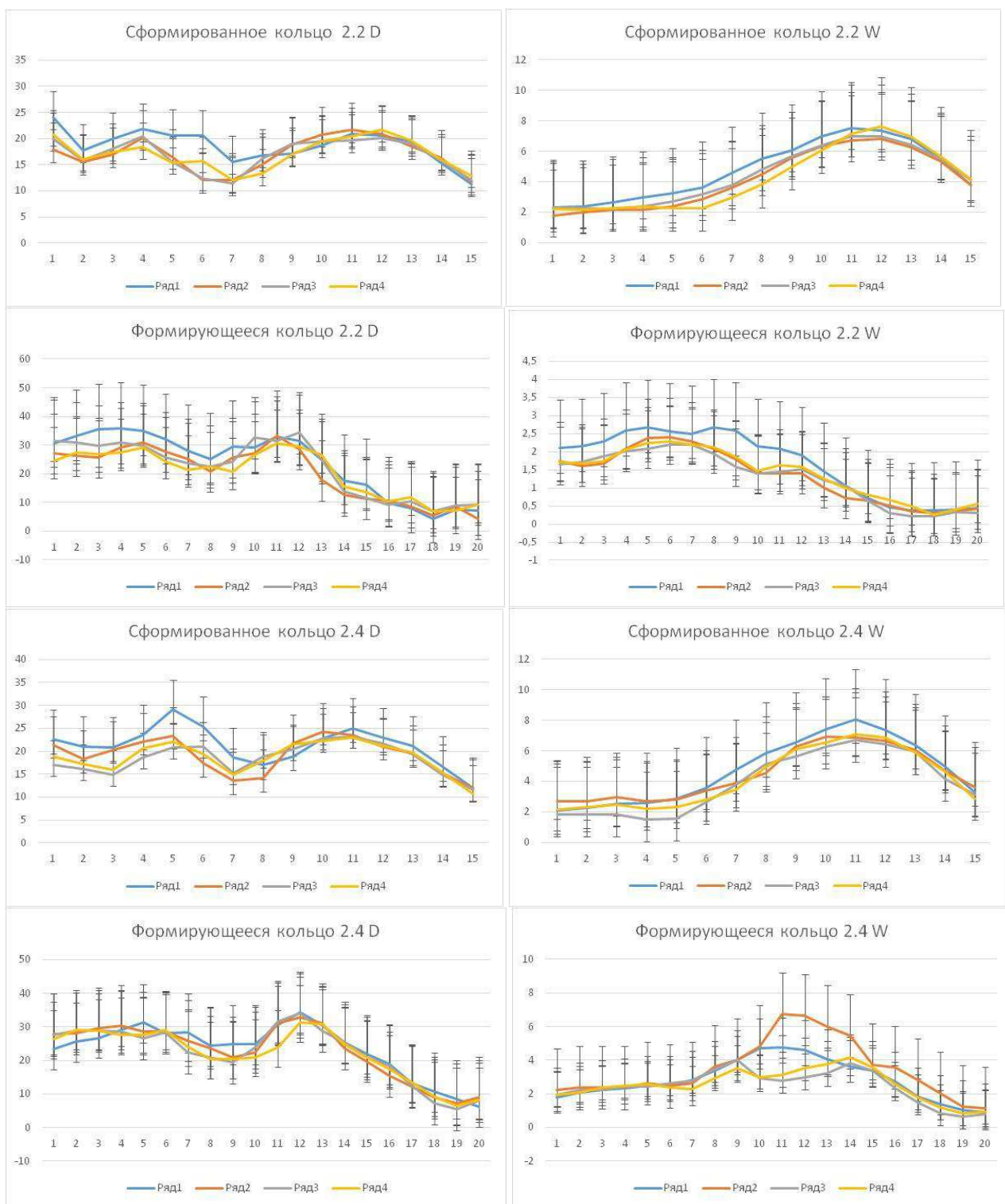


Рисунок 12 – Метод доверительных интервалов

Продолжение приложения А

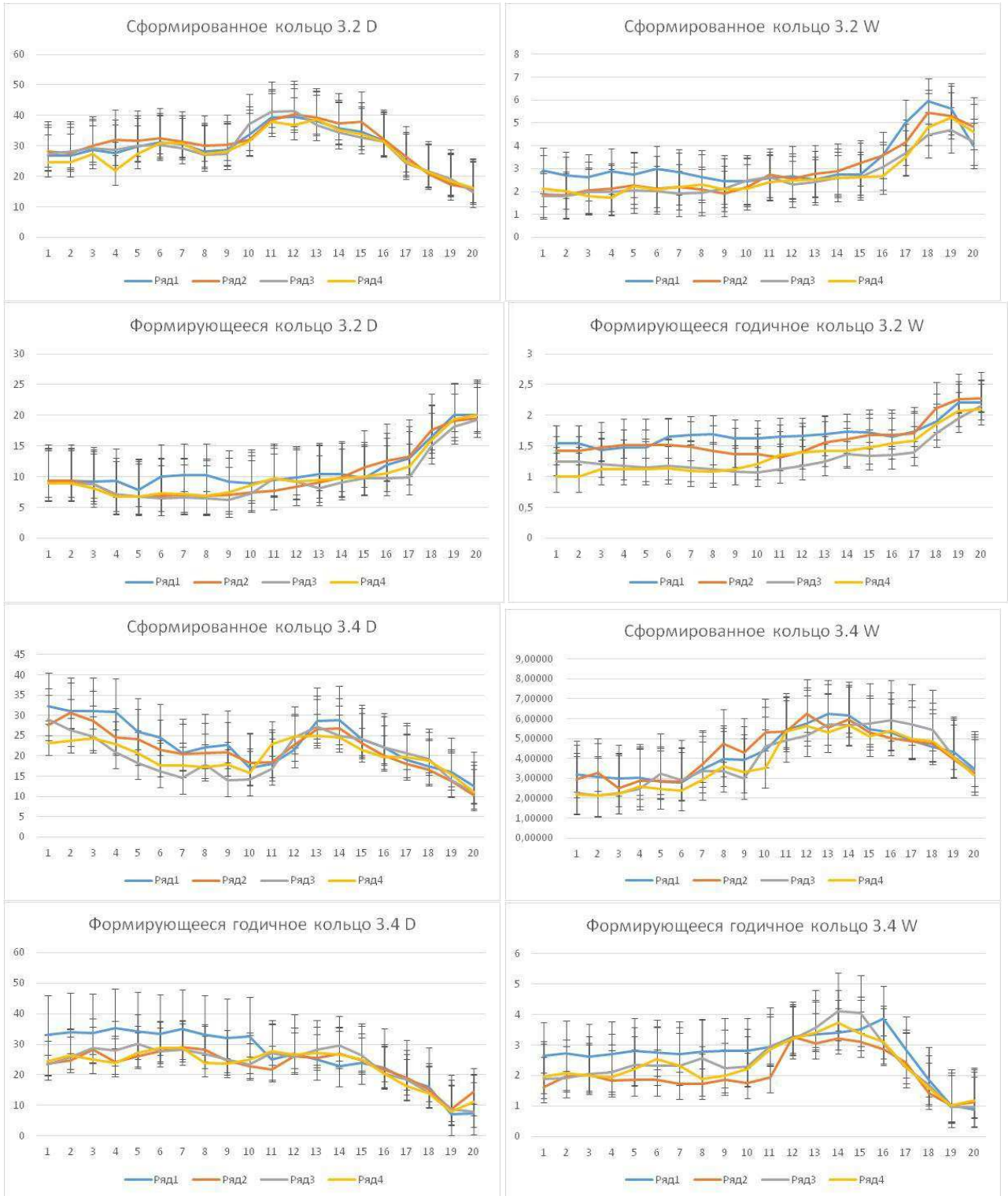


Рисунок 13 – метод доверительных интервалов

Продолжение приложения А

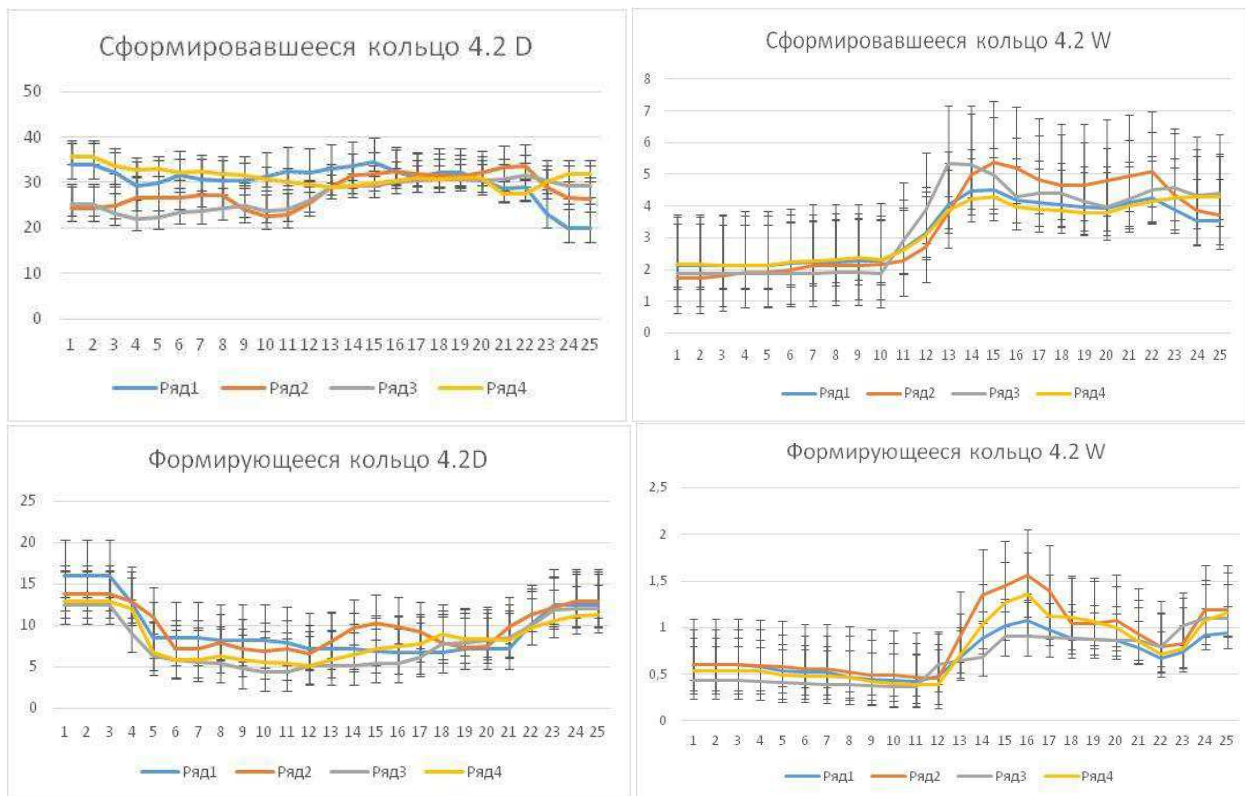


Рисунок 14 – Метод доверительных интервалов

Продолжение приложения А

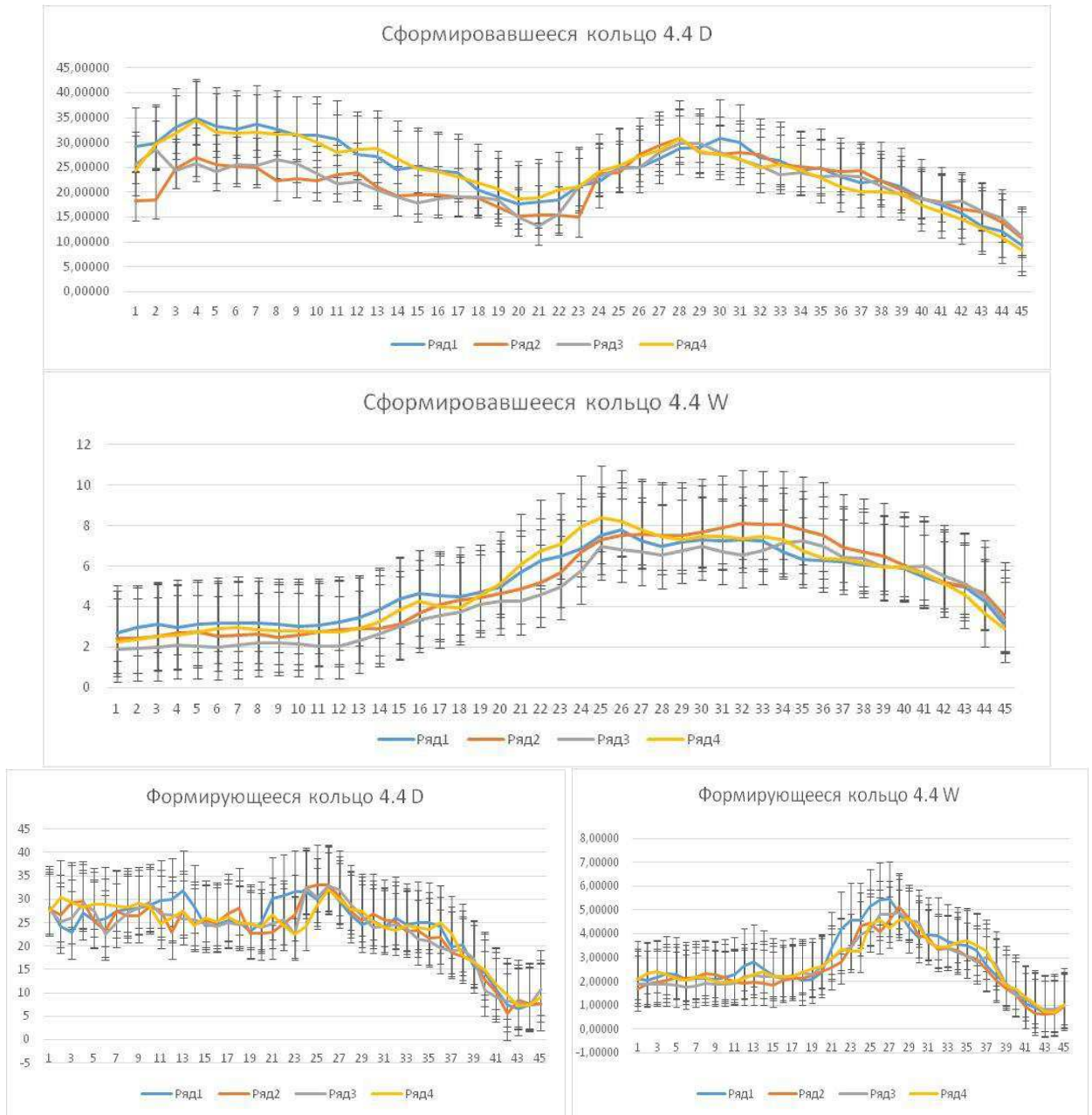


Рисунок 15 – Метод доверительных интервалов

Окончание приложения А

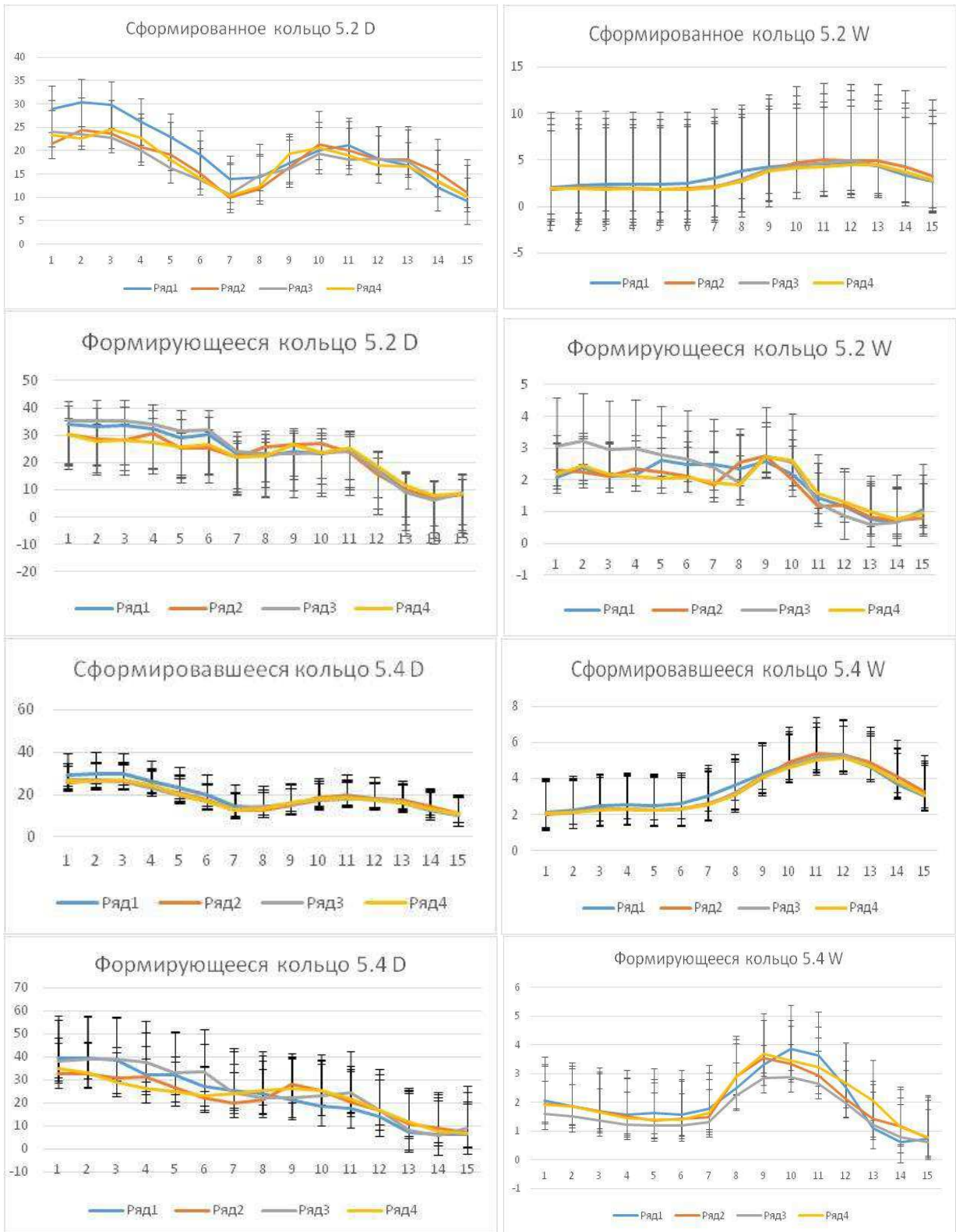


Рисунок 16 – Метод доверительных интервалов

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Графики кластерного анализа

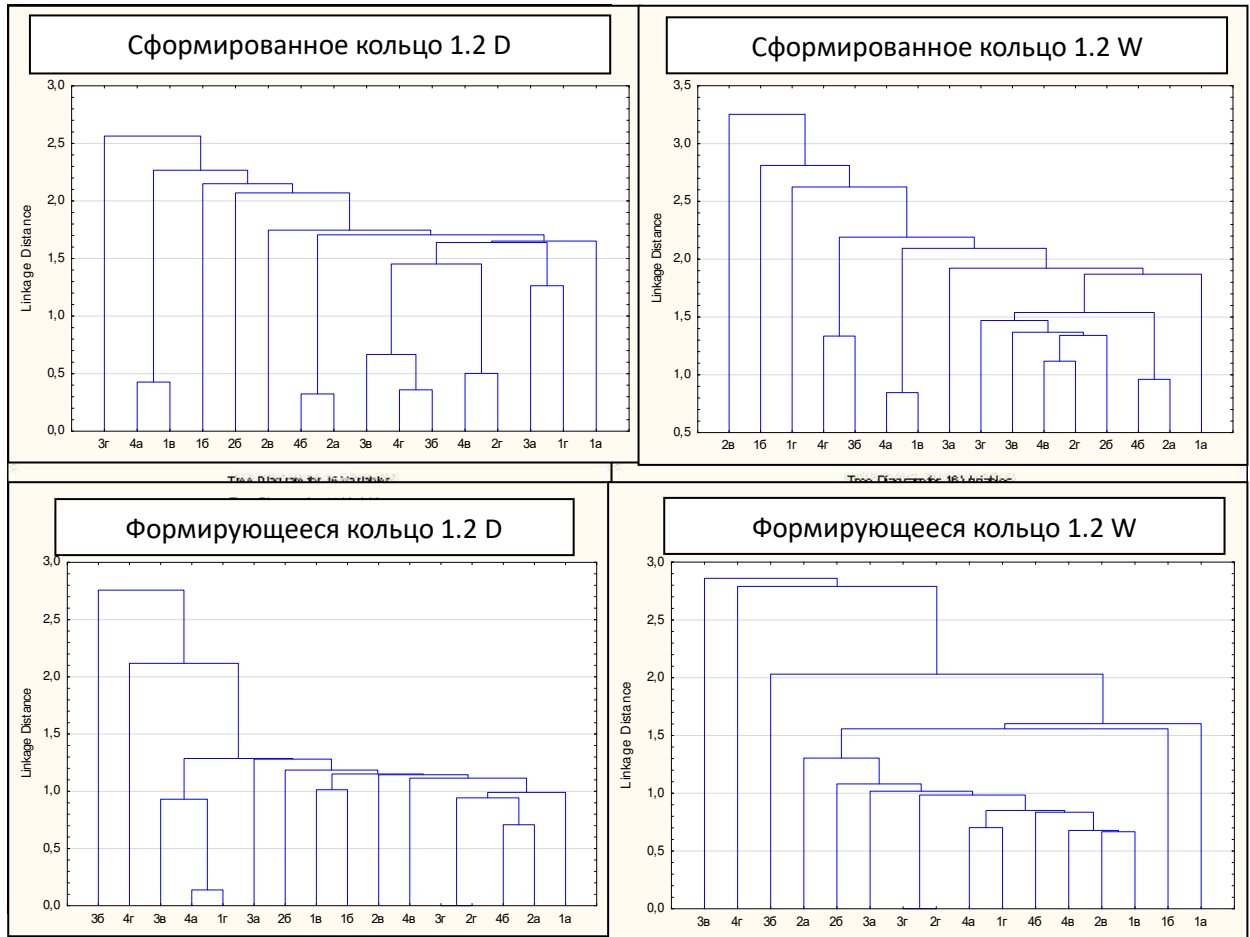


Рисунок 17 – Метод кластерного анализа

Продолжение приложения Б

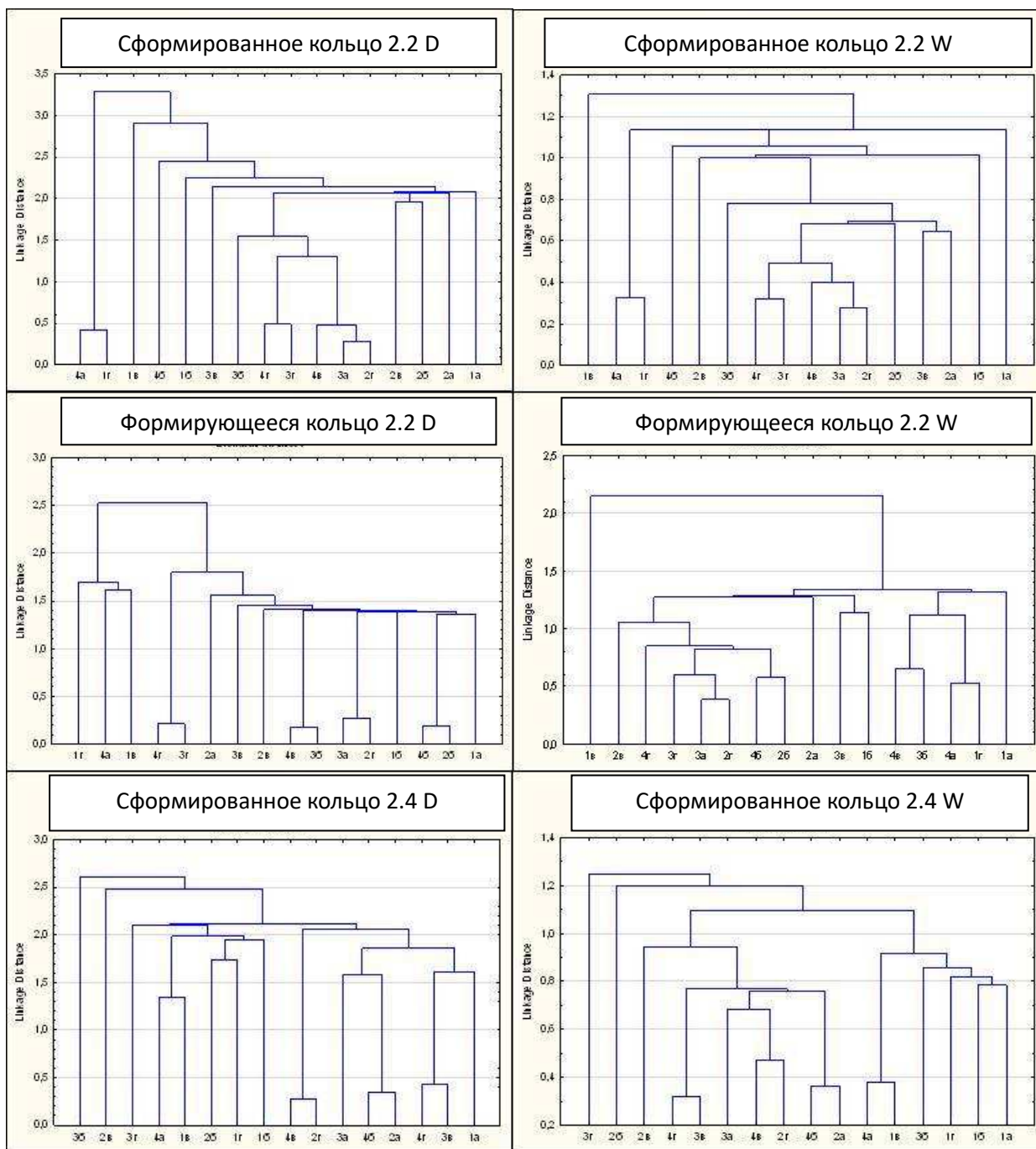


Рисунок 18 – Метод кластерного анализа

Продолжение приложения Б

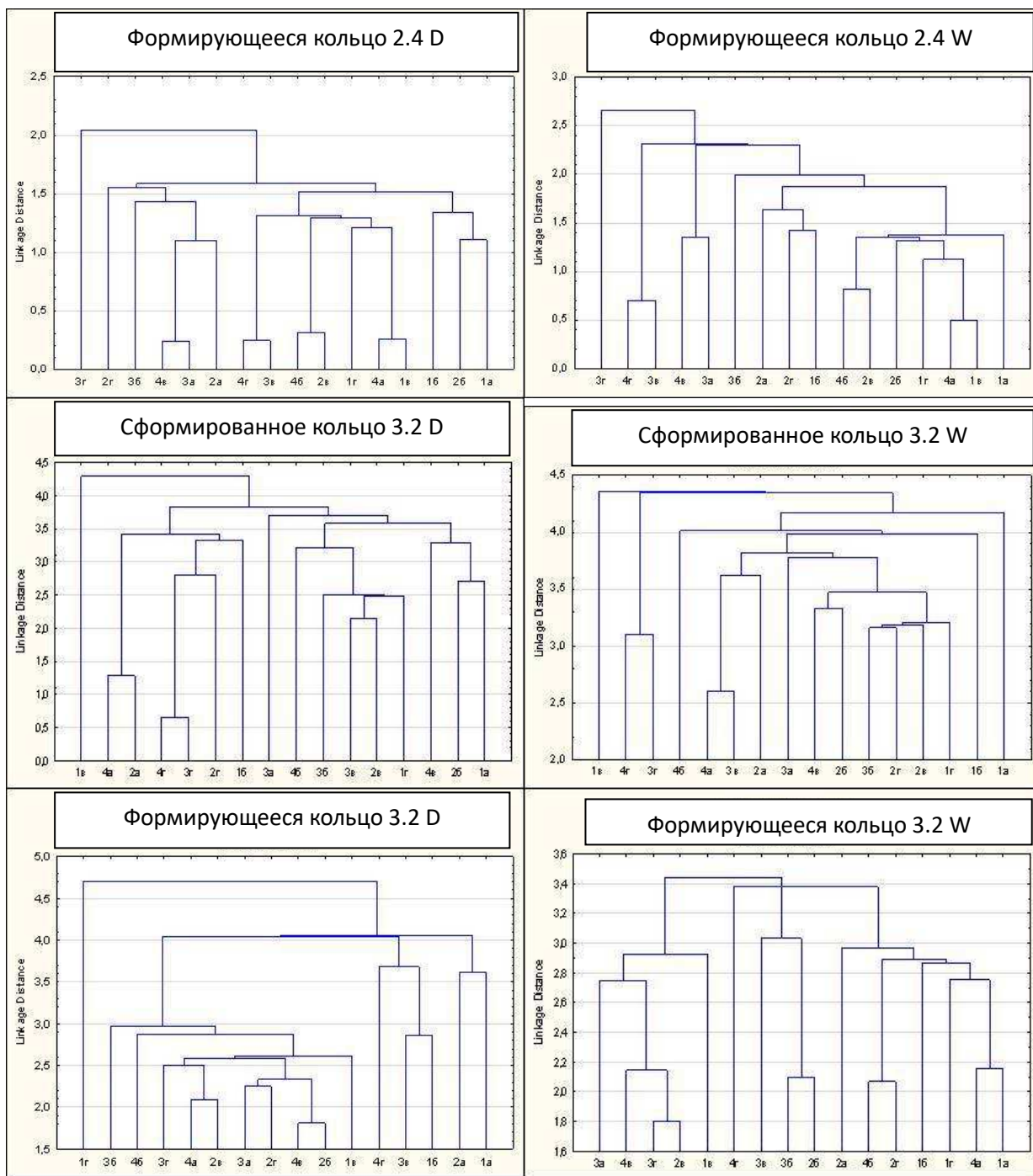


Рисунок 19 – Метод кластерного анализа

Продолжение приложения Б

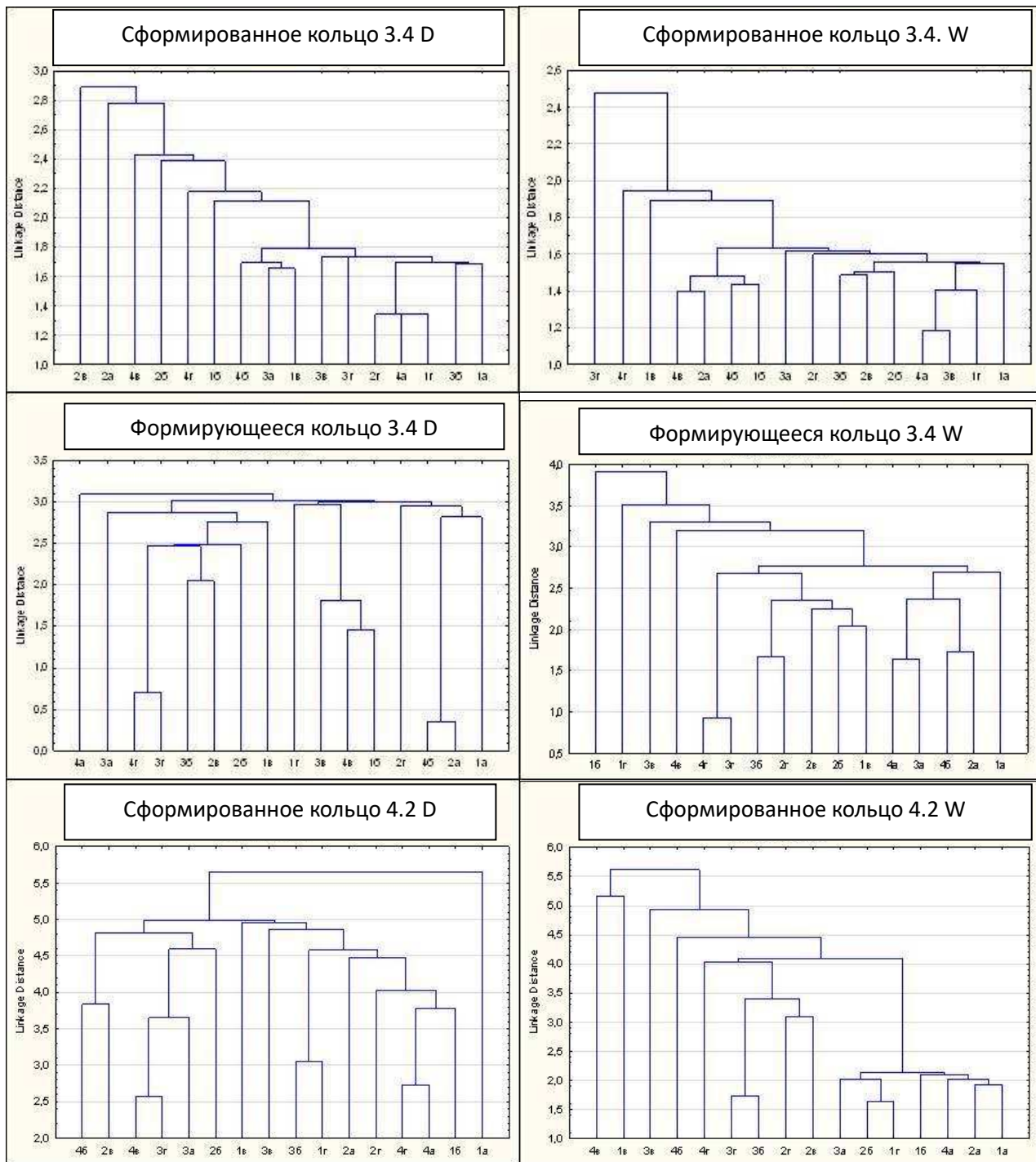


Рисунок 20 – Метод кластерного анализа

Продолжение приложения Б

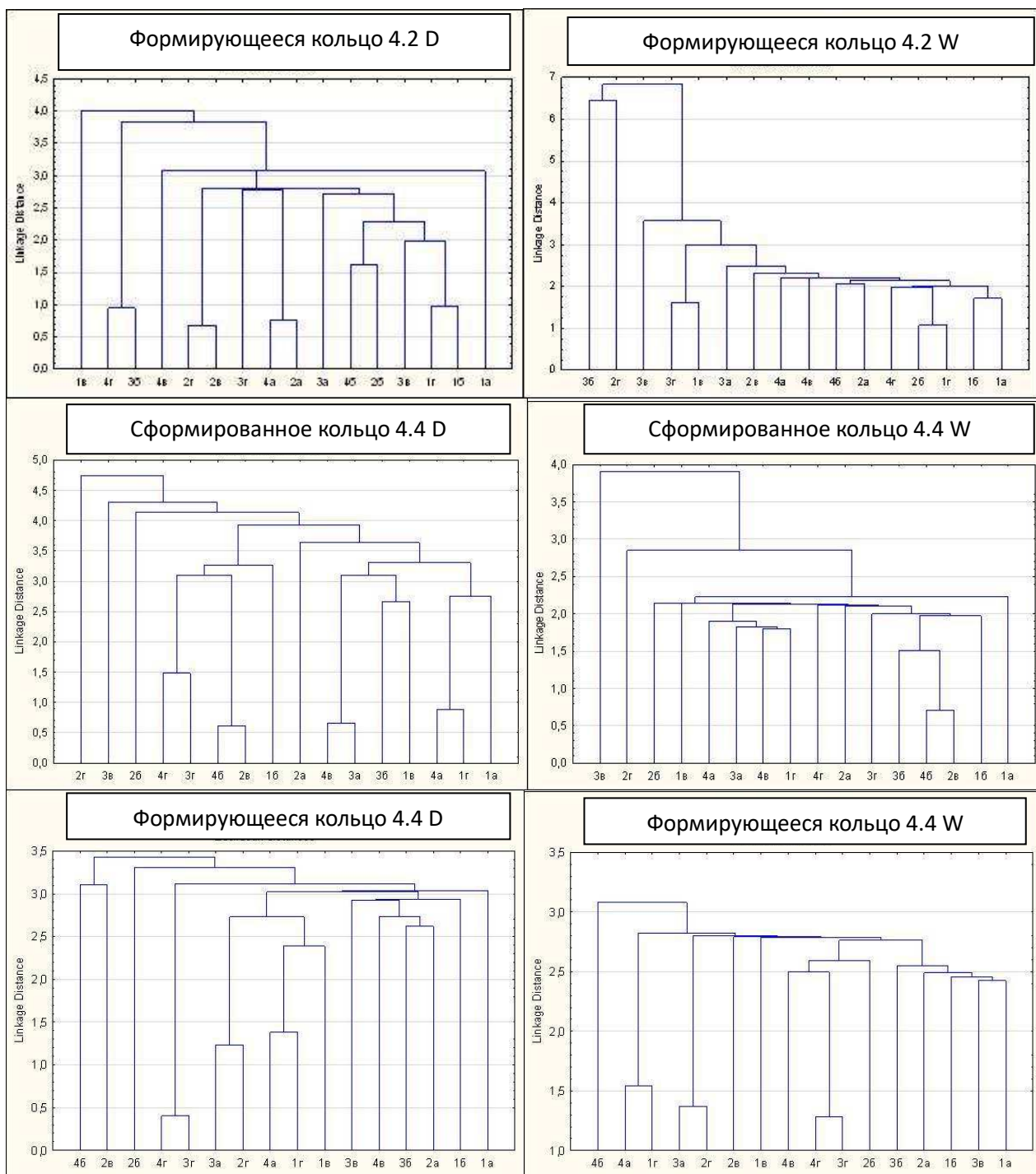


Рисунок 21 – Метод кластерного анализа

Продолжение приложения Б

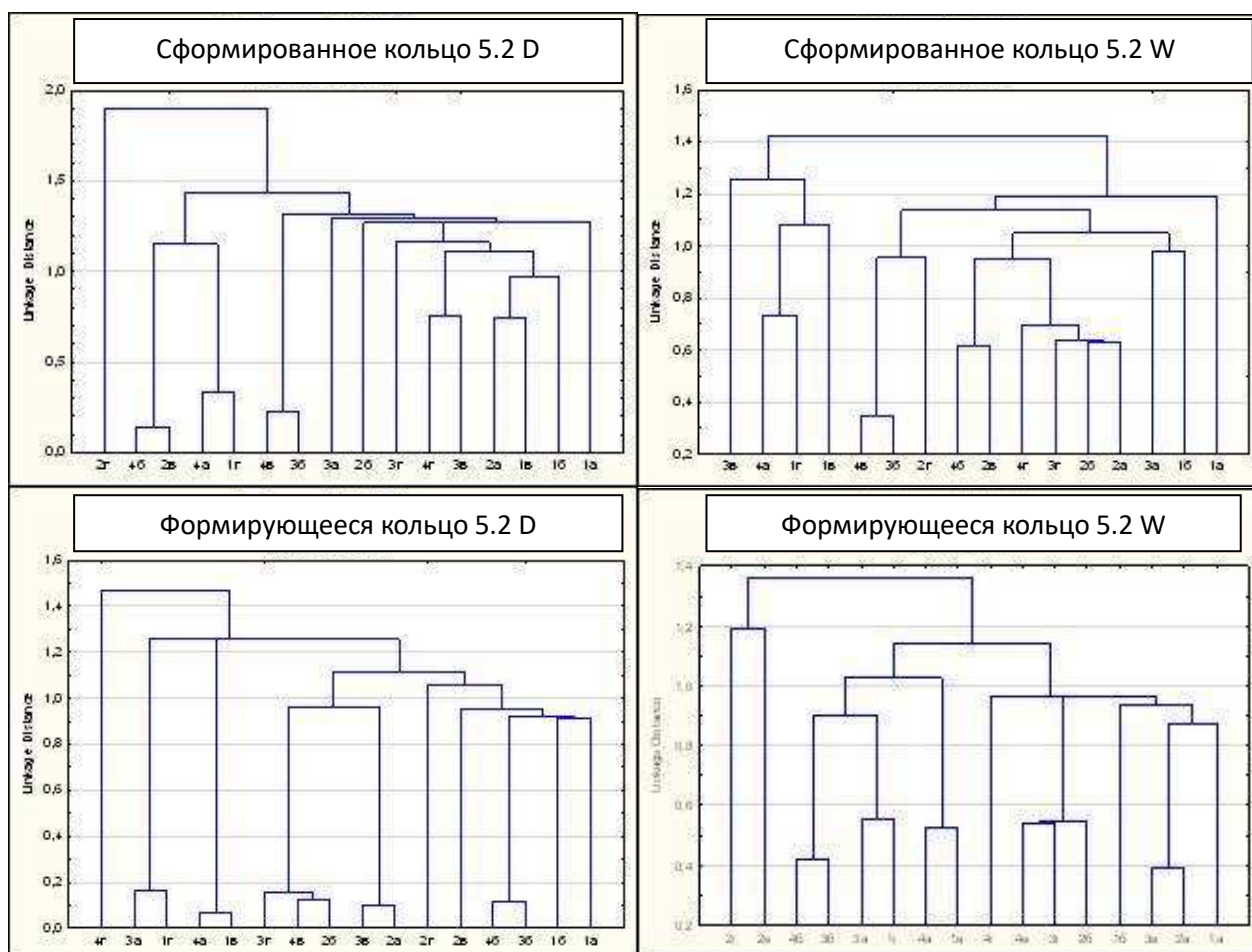


Рисунок 22 – Метод кластерного анализа

Окончание приложения Б

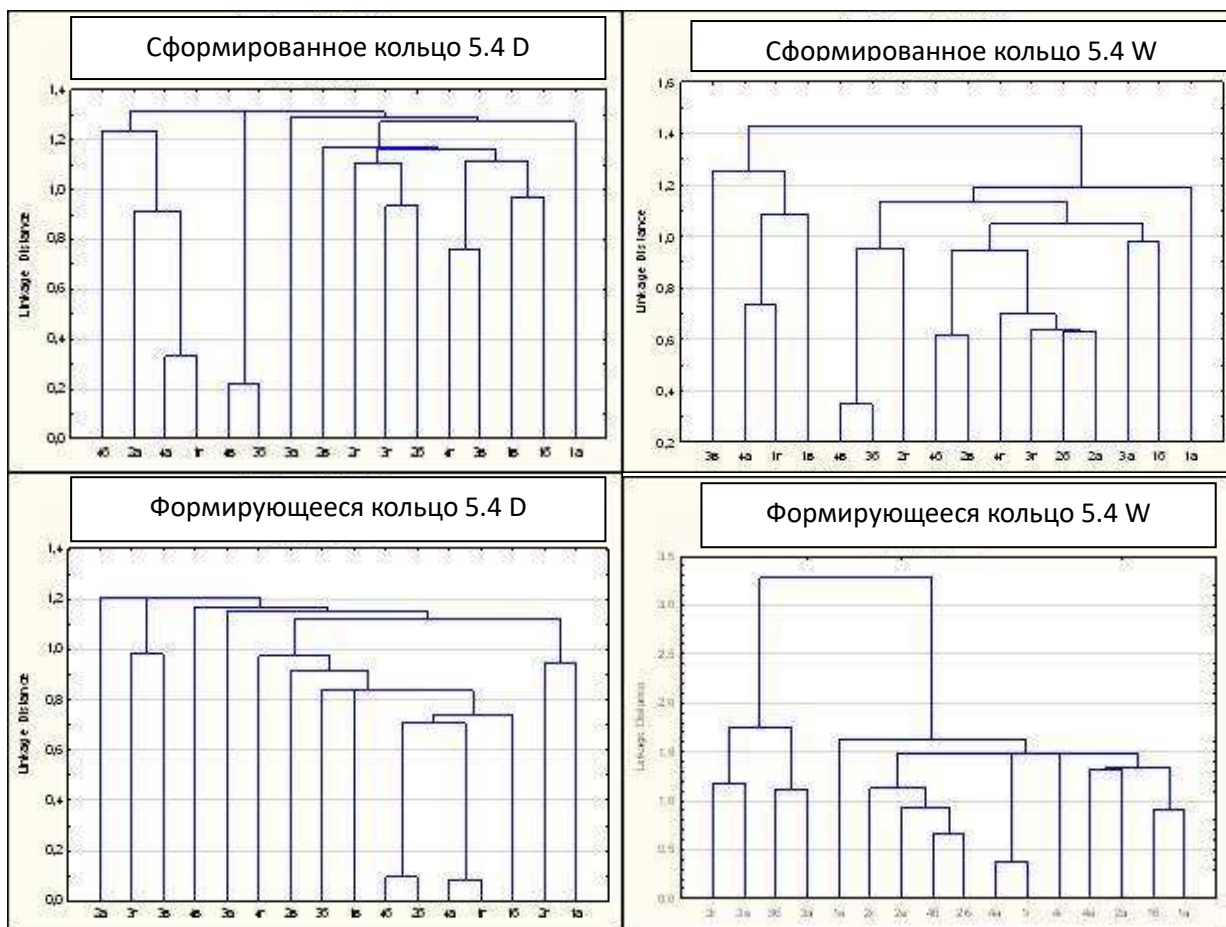


Рисунок 23 – Метод кластерного анализа

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра водных и наземных экосистем

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

М.И. Гладышев

подпись

« 16 » июля 2018 г.

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

06.03.01- Биология

Метод построения трахеидограмм формирующихся годовичных колец сосны
обыкновенной, произрастающей в условиях Минусинской котловины

Руководитель

профессор, д.б.н.

П.П. Силкин

подпись, дата

Выпускник

подпись, дата

Д.Р. Дергунов

Красноярск 2018