

7. Падутов В.Е., Баранов О.Ю., Воропаев Е.В. Методы молекулярно-генетического анализа. – Мн.: Юнипол, 2007. – 176 с.
8. Пименов А.В., Седельникова Т.С., Ефремов С.П. Морфология и качество пыльцы желто- и краснопыльничковой форм *Pinus sylvestris* в болотных и сухоходольных условиях произрастания (Томская область) // Ботанический журнал. – 2011. – Т. 96, № 3. – С. 367–376.
9. Правдин Л.Ф. Сосна обыкновенная. – М.: Наука, 1964. – 190 с.
10. Седельникова Т.С., Муратова Е.Н. Генеративные органы и кариотип сосны обыкновенной на олиготрофных болотах Западной Сибири // Лесоведение. – 1991. – № 3. – С. 34–43.
11. Седельникова Т.С., Пименов А.В., Ефремов С.П. Морфология пыльцы сосны обыкновенной на болотах и суходолах // Лесоведение. – 2004. – № 6. – С. 1–5.
12. Черепнин В.Л. Изменчивость семян сосны обыкновенной. – Новосибирск: Наука, 1980. – 183 с.

**SEDEL'NIKOVA T.S., PIMENOV A.V.**

*Sukachev Institute of Forest SB RAS*

*Russia, 660036, Krasnoyarsk, Akademgorodok, 50/28, e-mail: tss@ksc.krasn.ru*

### **KARYOLOGICAL INVESTIGATION AND ANALYSIS OF DNA CONTENT OF RED-AND YELLOW-COLORED MALE CONES FORMS OF SCOTS PINE IN BOG AND DRY VALLEYS ECOTOPES**

**Aims.** The comparative study of red- and yellow-colored male cones forms of Scots pine growing in bog and dry valleys ecotopes by karyological parameters and DNA content was conducted. **Methods.** The follow chromosomal parameters were determined: absolute length of chromosomes, total length of the diploid complement of chromosomes, relative length of chromosomes, centromeric index, localization of secondary constriction. Evaluation of DNA content was carried out in spectrophotometer BioRad Smartspec Plus by the standard technique (Padutov et al., 2007). **Results.** Red- and yellow-colored male cones forms of Scots pine have differences in length of chromosomes, localization of secondary constrictions, and DNA content both in bog and dry valleys ecotopes. **Conclusions.** Red- and yellow-colored male cones forms of Scots pine are components of intraspecific diversity, possessing different adaptive advantages in bog and dry valleys ecotopes.

*Key words:* *Pinus sylvestris*, intraspecific forms, karyotype, DNA content.

**СЕДЕЛЬНИКОВА Т.С., ПИМЕНОВ А.В., ЕФРЕМОВА Т.Т.**

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса им. В.Н. Сукачева Сибирского отделения Российской академии наук,*

*Российская Федерация, 660036, Красноярск, Академгородок, 50/28, e-mail: tss@ksc.krasn.ru*

### **ХРОМОСОМНЫЕ НАРУШЕНИЯ У СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ЭДАФИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ**

Исследование процессов мутагенеза в популяциях сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), произрастающих в условиях эдафической экстремальности, представляет актуальность для выявления закономерностей адаптации, полиморфизма и эволюции вида, а также может использоваться в качестве одного из методов биоиндикации экологической обстановки. Спектр и частота встречаемости структурных перестроек хромосом и патологий митоза являются одними из наиболее чувствительных критериев цитогенетического мониторинга состояния насаждений хвойных [3]. Хромосомные нарушения и аномалии митоза изучались в популяциях сосны обыкновенной, произрастающих в

неблагоприятных эдафических условиях на меловых субстратах Центрального Черноземья, на почвах, испытывающих влияние сильной засухи на фоне возрастающей аридизации и континентальности климата в Южном Забайкалье, Центральной Тыве и Хакасии, а также на почвах, подвергающихся комплексному техногенному загрязнению промышленными отходами на Южном Урале и в Алтайском крае [5, 6, 7, 9, 10]. В настоящем сообщении представлены результаты изучения хромосомных нарушений и патологий митоза в популяциях сосны обыкновенной в условиях эдафической экстремальности сухо-степного и болотного экотопов.

## Материалы и методы

Семенной материал для исследований был собран в искусственных посадках сосны обыкновенной, созданных за пределами ее ареала в условиях сухой степи юга России (окрестности г. Калач-на-Дону, Волгоградская область), а также в естественной популяции и лесокультурном насаждении, произрастающих на евтрофном осушенном болоте «Большое Жуковское» в Западной Сибири (Томский р-н, Томская область). Изученные насаждения сосны обыкновенной произрастают в экстремальных условиях, связанных с недостаточным увлажнением и бедностью песчаных почв сухостепного экотопа и почвенным гидроморфизмом болотного местобитания.

Для анализа хромосомных мутаций ис-

## Результаты и обсуждение

Результаты исследования хромосомных нарушений в семенном потомстве деревьев, произрастающих в искусственных посадках в условиях сухой степи, приведены в табл. 1. Общая частота встречаемости нарушений составляет 14.4%. Хотя большая часть метафазных клеток в проростках сосны из сухой степи содержит нормальное число хромосом ( $2n = 24$ ), в потомстве двух растений отмечена миксоплоидия ( $2n = 24, 36$ ;  $2n = 24, 48$ ). Наиболее часто в метафазе митоза встречались хромосомные нарушения, представляющие собой кольцевые структуры различного размера и морфологии, часть из которых выявлялась одновременно с фрагментами.

Таблица 1. Спектр хромосомных и геномных мутаций в кариотипе сосны обыкновенной в экстремальных условиях сухой степи юга России

Тип нарушений	Число клеток с нарушениями, шт.	Встречаемость клеток с нарушениями, %
Кольцевые хромосомы с фрагментами или без фрагментов	10	6.9
Надетые кольцевые хромосомы	1	0.7
Ацентрические кольца	1	0.7
Отдельные фрагменты	4	2.7
Дицентрические хромосомы	3	2.0
Полиплоидные клетки	2	1.4

Анализ метафазных клеток семенного потомства деревьев, произрастающих на евтрофном осушенном болоте, показал, что в отдельных проростках с дерева № 2 из естественной популяции наблюдалась миксоплоидия ( $2n = 24, 36$ ;  $2n = 24, 48$ ). Результаты изучения патологий митоза на стадии ана-телофазы в семенном по-

пользовали меристематические ткани кончиков корней. Приготовление препаратов осуществляли по общепринятой методике. Семена проращивали в чашках Петри. Для исследования метафазных нарушений проростки обрабатывали 1% р-ром колхицина в течение 4-6 часов. После промывания проростки фиксировали спиртовом-уксусной смесью (3:1). Аномалии митоза изучали на стадии ана-телофазы без предобработки колхицином. Окрашивание проростков осуществляли 1% р-ром железоацетогематоксилина. Для просмотра использовали «давленные» препараты, приготовленные стандартным способом. Препараты просматривали под микроскопом (окуляр  $\times 10$ , объектив  $\times 90$ ).

Известно, что возникновение кольцевых хромосом связано с делециями обоих плеч хромосомы с образованием среднего фрагмента с двумя «липкими» концами и двух концевых фрагментов. Концевые фрагменты объединяются, а средний замыкается в кольцо. Наличие отдельных фрагментов диагностирует «свежий» разрыв в хромосоме. Мутационная форма «надетости» кольца на палочковидную хромосому наблюдается при соматическом кроссинговере. В некоторых случаях в клетках изученных деревьев отмечались асимметричные транслокации хромосом с образованием дицентриков.

томстве модельных деревьев в естественной популяции сосны обыкновенной, переживших резкую смену режима почвенного увлажнения в результате осушительной мелиорации, а также у особей в искусственном насаждении, созданном после осушения, представлены в табл. 2. Установлено, что в потомстве деревьев в естествен-

ной популяции частота встречаемости клеток с аномалиями митоза составляет в среднем  $31.2 \pm 7.43\%$ , в искусственном насаждении –  $15.7 \pm 3.93\%$ . Возможно, что перенесенный стресс, свя-

занный с влиянием осушения и изменением эдафических условий произрастания древостоев, привел к увеличению встречаемости патологических митозов в семенном потомстве.

Таблица 2. Встречаемость и спектр ана-телофазных нарушений в семенном потомстве модельных деревьев сосны обыкновенной на евтрофном осушенном болоте

Показатели		Искусственное насаждение			Естественная популяция		
		модель 1	модель 2	модель 3	модель 1	модель 2	модель 3
Число изученных корневых меристем, шт.		40	40	40	40	40	9
Число корневых меристем с нарушениями, шт./%		17 / 42.5	18 / 45.0	23 / 57.0	26 / 65.0	22 / 55.0	8 / 88.9
Число изученных клеток, шт.		301	310	213	244	189	32
Число клеток с нарушениями, шт./%		34 / 11.3	42 / 13.5	47 / 22.4	78 / 32.0	34 / 18.0	14 / 43.7
Типы ана-телофазных нарушений, шт./%	Один или несколько фрагментов	2 / 0.7	2 / 0.6	2 / 0.9	3 / 1.2	-	-
	Многополюсный митоз	2 / 0.7	2 / 0.6	6 / 2.8	6 / 2.4	1 / 0.5	-
	Мост одиночный	4 / 1.3	-	2 / 0.9	2 / 0.8	4 / 2.1	1 / 3.1
	Мост парный	-	2 / 0.6	1 / 0.5	1 / 0.4	2 / 1.1	1 / 3.1
	С-митоз	1 / 0.2	-	-	1 / 0.4	-	-
	Забегающие хромосомы	5 / 1.7	8 / 2.6	8 / 3.8	8 / 3.2	8 / 4.3	2 / 6.2
	Отстающие хромосомы	-	1 / 0.3	1 / 0.5	5 / 2.0	1 / 0.5	-
	Выбросы за пределы пластинки	4 / 1.3	4 / 1.2	1 / 0.5	14 / 5.7	7 / 3.7	4 / 12.5
	Неправильное расхождение хромосом	10 / 3.4	20 / 6.4	25 / 12.0	34 / 13.9	9 / 4.8	6 / 18.7
	Агглютинация хромосом	4 / 1.3	-	-	-	-	-
	Остаточное ядрышко	-	2 / 0.6	1 / 0.5	-	1 / 0.5	-
	Комплексные нарушения	2 / 0.7	2 / 0.6	-	5 / 2.0	1 / 0.5	-

В ана-телофазных клетках исследованных корневых меристем представлен широкий спектр нарушений – мосты, фрагменты, неправильное расхождение хромосом, их забегание, отставание, выбросы за пределы пластинки. При этом часть нарушений встречается в комплексе. Кроме того, в клетках нескольких проростков семян одного из деревьев в искусственном насаждении зафиксированы аномалии "жесткого типа" – агглютинация хромосом и С-митоз. Как правило, эти летальные для клеток нарушения наблюдаются у семенного потомства в насаждениях, находящихся в условиях химического и радиационного загрязнения среды [13].

Выявленные у сосны митотические нарушения можно дифференцировать на две группы. Первая включает одиночные и парные мосты, представляющие собой дицентрические хромосомы, появление которых диагностирует асимметричную транслокацию. Вторая группа, включающая неправильное расхождение хромосом, многополюсный митоз, выбросы хромосом за пределы пластинки, отстающие и забегающие хромосомы, индицирует аномалии центрального участка или нарушения функции сократительных белков веретена деления [1]. В клетках деревьев, произрастающих на евтрофном осушенном болоте, преобладают аномалии митоза,

характерные для второй группы. Известно, что расхождение неодиногового числа хромосом нередко приводит к миксоплоидии, рассматриваемой как один из важных факторов эволюции древесных растений, который способствует реализации их адаптивных возможностей и повышению жизнеспособности [2].

Считается, что у сосны обыкновенной, произрастающей в типичных экотопах, встречаемость патологических митозов не должна превышать 5% [4]. Интересно, что в экстремальных эдафических условиях на меловом субстрате в Воронежской области частота встречаемости нарушений в потомстве сосны соответствует этому уровню [5]. У сосны обыкновенной, произрастающей на техногенных отвалах золотодобывающей промышленности в Красноярском крае, встречаемость хромосомных нарушений существенно выше – 9.5% [11]. Высокие значения встречаемости хромосомных мутаций отмечаются в зоне Чернобыльской АЭС – до 8% и в загрязненных районах г. Воронежа – до 17% [4, 8]. У сосны обыкновенной, произрастающей в условиях дефицита почвенной влаги в островных борах Тывы уровень аномальных митозов достигает 18%, в ленточ-

ных борах степных районов Алтайского края – 51% [6, 10]. В Челябинской области в условиях комплексного промышленного загрязнения воздуха и почвы уровень хромосомных нарушений соответствует 17-20% [7, 12]. Очевидно, что данные, приведенные в литературных источниках, в целом согласуются с полученными нами результатами и свидетельствуют о том, что у сосны обыкновенной в условиях эдафической экстремальности встречаемость метафазных и ана-телофазных хромосомных нарушений повышается.

Таким образом, данные по частоте встречаемости и спектру хромосомных нарушений и аномалий митоза в семенном потомстве деревьев сосны обыкновенной, произрастающих в сухой степи и на евтрофном осушенном болоте, расширяют и дополняют имеющиеся в научной литературе сведения о цитогенетических механизмах адаптации вида к экстремальным эдафическим условиям. Эти данные могут быть использованы в лесокультурной практике, а также при разработке селекционных и мелиоративных мероприятий в сухостепных и гидроморфных экотопах.

*Работа выполнена при финансовой поддержке программы Президиума РАН № 30 «Живая природа: современное состояние и проблемы развития» и Междисциплинарного интеграционного проекта СО РАН № 69.*

### Литература

1. Алов И.А. Цитофизиология и патология митоза. – М. 1972. – 263 с.
2. Буторина А.К. Факторы эволюции кариотипов древесных // Успехи соврем. биол. – 1989. – Т. 108, Вып. 3 (6). – С. 342–357.
3. Буторина А.К., Калаев В.Н. Анализ чувствительности различных критериев цитогенетического мониторинга // Экология. – 2000. – № 3. – С. 206–210.
4. Буторина А.К., Калаев В.Н., Миронов А.Н., Смородинова В.А., Мазурова И.Э., Дорошев С.А., Сенькевич Е.В. Цитогенетическая изменчивость в популяциях сосны обыкновенной // Экология. – 2001. – № 3. – С. 216–220.
5. Буторина А.К., Мозгалина И.Г. Особенности цитогенетических показателей сосны меловой и сосны обыкновенной // Экология. – 2004. – № 3. – С. 185–189.
6. Егоркина Г.И. Цитогенетические параметры сосны обыкновенной в Алтайском крае // Лесоведение. – 2010. – № 6. – С. 39–45.
7. Калашник Н.А. Хромосомные нарушения как индикатор оценки степени техногенного воздействия на хвойные насаждения // Экология. – 2008. – № 4. – С. 276–286.
8. Кальченко В.А., Федотов И.С. Генетические эффекты острого и хронического воздействия ионизирующих излучений на *Pinus sylvestris* L., произрастающих в зоне отчуждения Чернобыльской АЭС // Генетика. – 2001. – Т. 37, № 4. – С. 437–447.
9. Машкина О.С., Тихонова И.В., Муратова Е.Н., Мурая Л.С. Цитогенетические особенности семенного потомства карликовых сосен на юге Восточной Сибири // Хвойные бореальной зоны. – 2012. – Т. XXX, № 1-2. – С. 127–135.
10. Муратова Е.Н., Сунцов А.В. Особенности кариотипа и хромосомные aberrации // Сосна обыкновенная в Южной Сибири. – Красноярск: кн. изд-во, 1988. – С. 37–74.
11. Седельникова Т.С., Пименов А.В., Муратова Е.Н. Хромосомные аномалии у хвойных в экстремальных экотопах // «Фактори експериментальної еволюції організмів»: зб. наук. пр., присвяч. 120-річчю від дня народж. Л.М. Делоне. – К.: Логос, 2011. – Т. 10. – С. 138–142.

12. Шафикова Л.М., Калашник Н.А. Характеристика кариоти́па сосны обыкновенной при промышленном загрязнении // Лесоведение. – 2000. – № 2. – С. 30–36.
13. Butorina A.K., Evstratov N. The first detected case of amitosis in pine // Forest genetics. – 1996. – Vol. 3, №. 3. – P. 137–139.

**SEDEL'NIKOVA T.S., PIMENOV A.V., EFREMOVA T.T.**

*Sukachev Institute of Forest SB RAS*

*Russia, 660036, Krasnoyarsk, Akademgorodok, 50/28, e-mail: tss@ksc.krasn.ru*

### **CHROMOSOMAL ABNORMALITIES IN SCOTS PINE FROM EXTREME EDAPHIC CONDITIONS**

**Aims.** The investigation of occurrence of chromosomal abnormalities in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) trees growing in extreme edaphic conditions of dry step and bog ecotopes was carried out. **Methods.** The frequency and the spectrum of chromosomal abnormalities in metaphase and ana-telophase cells of Scots pine were determined. **Results.** The results obtained were: the seed progeny of trees growing in extreme edaphic conditions (low moisture, low soil fertility, high humidity) are characterized by high level of chromosomal mutations. **Conclusions.** The data concerning chromosomal abnormalities in seed progeny of Scots pine growing in dry step and bog ecotopes extend and expand available information about cytogenetic mechanisms of adaptation of species to extreme edaphic conditions. These data can be used in silvicultural practices, and when developing breeding and meliorative measures.

**Key words:** *Pinus sylvestris*, extreme edaphic conditions, chromosomal abnormalities.

**СОКОЛОВСЬКА-СЕРГІЄНКО О.Г.**

*Інститут фізіології рослин і генетики НАН України*

*Україна, 03022, Київ, вул. Васильківська 31/17, e-mail: monitor@ifrg.kiev.ua*

### **ВПЛИВ РІЗНИХ УМОВ МІНЕРАЛЬНОГО ЖИВЛЕННЯ НА ІНТЕНСИВНІСТЬ АСИМІЛЯЦІЇ CO<sub>2</sub>, АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ ТА ПРОДУКТИВНІСТЬ СОРТІВ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ**

Різні сорти культурних рослин, навіть такі, що належать до одного виду, різняться за рівнем стійкості до несприятливих чинників навколишнього середовища, в тому числі і нестачі мінерального живлення. Серед культурних рослин пшениця за своєю харчовою цінністю та екологічною пластичністю є неперевершеною і становить основу продовольчого раціону людства [1, 2]. Питанням стійкості цієї культури до дії різноманітних стресових чинників присвячено багато досліджень, але вплив умов мінерального живлення на захисні механізми фотосинтетичного апарату у зв'язку із генотипними особливостями досліджено значно менше.

Дія стресових чинників як правило супроводжується утворенням у клітинах і органах надмірних кількостей активних форм кисню (АФК), що може призводити до пошкодження макромолекулярних структур і порушення фізіологічних процесів [9]. Захисні системи

клітини реагують на це підвищенням активності антиоксидантних ферментів, щоби якомога повніше елімінувати надлишок АФК. Головними ферментами антиоксидантного захисту фотосинтетичного апарату від АФК є хлоропластні супероксиддисмутаза (СОД) та аскорбатпероксидаза (АПО). У певній кількості АФК утворюються в процесі функціонування фотосинтетичного апарату за нормальних умов і контролюються антиоксидантними системами, але за стресових умов роль антиоксидантних ферментів для виживання клітини суттєво зростає [5, 7].

Метою нашої роботи було дослідити генотипні особливості реакції нових високоінтенсивних сортів озимої пшениці на нестачу мінерального живлення за фізіологічними показниками асиміляційної активності фотосинтетичного апарату та антиоксидантної системи його захисту.