



УДК 576.356:582.475.4

DOI: 10.37482/0536-1036-2022-1-9-22

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СЕМЕННОГО ПОТОМСТВА КЛОНОВ ПЛЮСОВЫХ ДЕРЕВЬЕВ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В КАРЕЛИИ

Р.В. Игнатенко, канд. биол. наук; *ResearcherID*: [A-7616-2019](https://orcid.org/0000-0001-9608-9465);

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9608-9465>

М.А. Ершова, аспирант; *ResearcherID*: [AAP-1610-2020](https://orcid.org/0000-0002-3728-9480);

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3728-9480>

Н.А. Галибина, д-р биол. наук; *ResearcherID*: [H-8664-2017](https://orcid.org/0000-0003-1473-3574);

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1473-3574>

Б.В. Раевский, д-р с.-х. наук; *ResearcherID*: [K-6424-2018](https://orcid.org/0000-0002-1315-8937);

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1315-8937>

Отдел комплексных научных исследований КарНЦ РАН, ул. Пушкинская, д. 11, г. Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910; e-mail: ocean-9@mail.ru, maria_ershova_karnc@mail.ru, galibina@krc.karelia.ru, borisraevsky@gmail.com

Оригинальная статья / Поступила в редакцию 29.04.20 / Принята к печати 04.08.20

Аннотация. Изучены цитогенетические параметры семенного потомства клонов плюсовых деревьев *Pinus sylvestris*, произрастающих на Петрозаводской лесосеменной плантации I порядка. В качестве контроля были взяты нормальные деревья *P. sylvestris* из естественного соснового фитоценоза в Пряжинском районе Карелии. Рассматривали следующие показатели: относительное содержание ДНК, число хромосом, частоту и типы патологий митоза на стадиях метафазы, анафазы и телофазы (в процентах от общего числа делящихся клеток на тех же стадиях). Установлено, что в корневой меристеме семенного потомства *P. sylvestris* в диплоидном наборе содержится 24 хромосомы. У изученных растений были обнаружены единичные анеуплоидные клетки ($2n = 23$; $2n = 25$). Наиболее частотна моносомия ($2n = 23$) – 81 % от общего числа анеуплоидных клеток. Относительное содержание ДНК в молодой хвое проростков у клонов плюсовых деревьев составило $42,07 \pm 0,21$ пг, а у нормальных деревьев – $42,95 \pm 0,04$ пг, при этом разница между ними статистически значима (U-test, $p < 0,01$). В результате цитогенетического анализа выявлено 7 типов патологий митоза: фрагментация хромосом, мосты, забегание хромосом, обособление хромосом и групп хромосом, отставание хромосом, многополюсность, сложные нарушения. В общем спектре нарушений митоза наиболее распространенной патологией оказалось забегание хромосом. Сравнение различных типов патологий митоза в двух общих выборках нормальных деревьев и клонов плюсовых деревьев показало, что они значительно отличаются по следующим аномалиям митоза: забегание и обособление хромосом в метафазе, фрагментация, отставание, мосты и многополюсность в ана-телофазе. Выявлено: в семенном потомстве нормальных деревьев доля клеток с аномалиями митоза в среднем примерно в 1,5 раза выше, чем в потомстве клонов плюсовых деревьев ($3,44 \pm 0,32$ и $2,38 \pm 0,14$ % (U-test, $p < 0,05$) соответственно). Полученные данные свидетельствуют о цитогенетической стабильности семенного потомства клонов *P. sylvestris* с Петрозаводской лесосеменной плантации I порядка, это в свою очередь, может говорить о высоком качестве семенного материала.

Для цитирования: Игнатенко Р.В., Ершова М.А., Галибина Н.А., Раевский Б.В. Цитогенетическая характеристика семенного потомства клонов плюсовых деревьев сосны обыкновенной в Карелии // Изв. вузов. Лесн. журн. 2022. № 1. С. 9–22. DOI: 10.37482/0536-1036-2022-1-9-22

Финансирование: Финансирование исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0185-2019-0093).

Благодарность: Выражаем благодарность сотрудникам лаборатории биотехнологии растений КарНЦ РАН, а также лично канд. с.-х. наук, заместителю директора по научной работе ИЛ КарНЦ РАН С.А. Мошникову и научному сотруднику лаборатории динамики и продуктивности таежных лесов ИЛ КарНЦ РАН В.А. Харитонову за помощь в сборе полевого материала. Благодарим Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова за предоставленные семена *Triticum aestivum* и компанию «Диаэм» за возможность провести исследования на проточном цитофлуориметре Attune NxT (Thermo Fisher Scientific).

Ключевые слова: *Pinus sylvestris*, лесосеменные плантации, хромосомные нарушения, содержание ДНК, патологии митоза.

CYTOGENETIC CHARACTERISTICS OF SEED PROGENY OF SCOTS PINE PLUS TREE CLONES IN KARELIA

Roman V. Ignatenko, Candidate of Biology; ResearcherID: [A-7616-2019](https://orcid.org/0000-0001-9608-9465)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9608-9465>

Maria A. Ershova, Postgraduate Student; ResearcherID: [AAP-1610-2020](https://orcid.org/0000-0002-3728-9480)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3728-9480>

Nataliya A. Galibina, Doctor of Biology; ResearcherID: [H-8664-2017](https://orcid.org/0000-0003-1473-3574)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1473-3574>

Boris V. Raevsky, Doctor of Agriculture; ResearcherID: [K-6424-2018](https://orcid.org/0000-0002-1315-8937)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1315-8937>

Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, ul. Pushkinskaya, 11, Petrozavodsk, Republic of Karelia, 185910, Russian Federation; e-mail: ocean-9@mail.ru, maria_ershova_karnc@mail.ru, galibina@krc.karelia.ru, borisraevsky@gmail.com

Original article / Received on April 29, 2020 / Accepted on August 4, 2020

Abstract. The article describes the cytogenetic parameters of seed progeny of *Pinus sylvestris* plus trees growing in the Petrozavodsk seed orchard of the first order. *P. sylvestris* normal trees from the natural pine phytocenosis in the Pryazha region (Karelia) were taken as a control. The following indicators were considered: relative DNA content, number of chromosomes, frequency and types of mitosis pathologies at the metaphase, anaphase and telophase stages (in % of the total number of dividing cells at the same stages). It was found that the root meristem of the *P. sylvestris* seed progeny contains 24 chromosomes in the diploid set. Single aneuploid cells ($2n = 23$; $2n = 25$) were found in the studied plants. The most frequent is monosomy ($2n = 23$). It made up 81 % of the total number of aneuploid cells. The relative DNA content in the young needles of pine seedlings of plus clones and normal trees was 42.07 ± 0.21 and 42.95 ± 0.04 pg, respectively, and the difference between the two was statistically significant (U-test, $p < 0.01$). Cytogenetic analysis revealed 7 types of mitosis pathologies: chromosome fragmentation, chromosome bridges, chromosome overlap, isolation of chromosomes and groups of chromosomes, chromosome lagging, multipolar mitosis and complex abnormalities. Chromosome overlap was the most common pathology in the general mitotic disorders spectrum. Comparison of mitosis pathologies in two general samples of normal trees and

plus tree clones showed that they significantly differ by the following mitosis abnormalities: overlap and isolation of chromosomes in metaphase, fragmentation, lagging, bridges and multipolar mitosis in the anaphase and telophase. The study shows that the proportion of cells with mitosis abnormalities in the seed progeny of normal trees was about 1.5 times higher than of plus tree clones, and is equal 3.44 ± 0.32 and 2.38 ± 0.14 % (U-test, $p = 0.05$), respectively. The data obtained demonstrate the cytogenetic stability of the seed progeny of *P. sylvestris* clones from the Petrozavodsk seed orchard of the first order, which in turn may indicate the high quality of the seed material.

For citation: Ignatenko R.V., Ershova M.A., Galibina N.A., Raevsky B.V. Cytogenetic Characteristics of Seed Progeny of Scots Pine Plus Tree Clones in Karelia. *Lesnoy Zhurnal* [Russian Forestry Journal], 2022, no. 1, pp. 9–22. DOI: 10.37482/0536-1036-2022-1-9-22

Funding: The research was funded from the federal budget to fulfil the state assignment of the Karelian Research Center of the Russian Academy of Sciences (KarRC RAS) No. 0185-2019-0093.

Acknowledgments: We would like to express our gratitude to the staff of the Laboratory for Plant Biotechnology of the KarRC RAS and, in person, Candidate of Agriculture, Deputy Director for Science of the Forest Research Institute of the KarRC RAS S.A. Moshnikov and Researcher of the Laboratory for Boreal Forest Dynamics and Production V.A. Kharitonov for their assistance in collecting the field material. We are grateful to the N. I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources for the provision of *Triticum aestivum* seeds and the Diaem Company for the opportunity to carry out the research on an Attune NxT Flow Cytometer (Thermo Fisher Scientific).

Keywords: *Pinus sylvestris*, forest seed orchards, chromosomal abnormalities, DNA content, mitosis pathologies.

Введение

Сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.) является одной из основных лесообразующих пород бореальной зоны Евразии и имеет высокую хозяйственную ценность. Огромный по площади интразональный непрерывный ареал данного вида, популяции которого произрастают в различных почвенно-климатических условиях, способствует проявлению процессов внутривидовой дифференциации [23]. Сосновые леса занимают почти 65 % площади лесного фонда Республики Карелии и играют в этом регионе важнейшую эколого-экономическую роль [2]. Для обеспечения их искусственного восстановления в последней трети XX столетия в Республике Карелии было создано 6 прививочных лесосеменных плантаций (ЛСП) I порядка общей площадью ~ 365 га [12]. ЛСП закладывали вегетативными (клоновыми) потомствами лучших (плюсовых) деревьев, отобранными в естественных насаждениях сосны обыкновенной по фенотипу. Многолетние исследования вегетативного роста, репродуктивной активности, габитуального и генетического разнообразия плюсовых деревьев (ПД) и плюсовых насаждений (ПН) *P. sylvestris* [10–12, 26, 28] показали, что более 90 % выявляемого генетического разнообразия у сосны обыкновенной концентрируется внутри популяций. Полученный результат подчеркивает важность исследования генетического разнообразия на внутригрупповом (индивидуальном) уровне.

В 2007–2011 гг. была проведена комплексная селекционно-генетическая оценка [26, 27] 72 клоновых потомств сосны обыкновенной (по 5 нормально развитых рамет на каждый клон), которые произрастали в пределах одного

поля Петрозаводской ЛСП I, заложенного в 1982–1984 гг. Отобраны 7 лучших клонов в качестве кандидатов в элитные ПД, пригодных в дальнейшем для создания ЛСП повышенной генетической ценности.

Для выявления на ранних этапах развития растений различных патологий, когда еще отсутствуют их фенотипические проявления, применяют цитогенетический анализ [4] – один из самых эффективных способов оценки влияния неблагоприятных экологических факторов на организм [5, 14]. Считается, что наиболее информативные критерии цитогенетического анализа хвойных растений – число хромосом, хромосомные мутации и патологии митоза [30, 37]. Причем одними из самых чувствительных к воздействию внешней среды являются репродуктивные органы голосеменных растений в связи с длительным циклом развития семян [8].

Многочисленные исследования позволили выявить у вида *P. sylvestris* различные хромосомные нарушения и патологии митоза [3, 4, 7, 13, 14, 16, 17, 19, 29, 32]. Так, у представителей данного вида, произрастающих в экстремальных условиях, зарегистрированы кольцевые и полицентрические хромосомы, делеции, фрагменты и другие аномалии [18, 19]. В ряде исследований отмечаются разнообразные нарушения митоза на стадии ана-телофазы: многополюсность, мосты, забегание, отставание, фрагментация хромосом и др. [14, 17].

Стоит отметить, что на территории Северо-Запада России изучение цитогенетической системы хвойных растений на ЛСП не проводилось. Тогда как исследования данного рода необходимы при отборе ПД, оценке состояния древостоев и качества семян, а также для определения перспектив интродукции видов и создания искусственных насаждений в конкретных почвенно-климатических условиях [4, 30].

В настоящей работе представлены первые результаты цитогенетических исследований (определение относительного содержания ДНК, выявление хромосомных нарушений и патологий митоза) клонов плюсовых деревьев *P. sylvestris*, произрастающих на Петрозаводской ЛСП I порядка. В качестве контроля взяты нормальные деревья (НД) *P. sylvestris* из естественного соснового насаждения в Пряжинском районе Карелии.

Объекты и методы исследования

Исследования проведены в среднетаежной подзоне Карелии. Кандидаты в элитные ПД отобраны в результате комплексной селекционно-генетической оценки [26, 27] на Петрозаводской ЛСП I порядка (61,91972° с. ш.; 34,41389° в. д.). ЛСП (площадь 238 га) основана в 1976 г. [15] и расположена в 15 км от Петрозаводского городского округа вдали от крупных автотранспортных магистралей и окружена сосновыми и еловыми фитоценозами. Поле, на котором произрастают клоны ПД, закладывалось по рендомизированной схеме с расстоянием между деревьями 5×8 м вегетативным потомством ПД, отобранных в популяциях *P. sylvestris* в пределах Южнокарельского лесосеменного района [10]. В исследовании участвовали 5 из 7 кандидатов в элиту. В качестве контроля взяты 2 НД *P. sylvestris* из естественного соснового насаждения в Пряжинском районе Карелии (61,722118° с. ш.; 33,458897° в. д.). НД подбирали таким образом, чтобы по величине основных таксационных

параметров (возраст, высота, диаметр) они были близки к исследуемым клонам ПД (табл. 1).

Сбор семян, получение меристематических тканей. Сбор семян с НД и клонов ПД сосны обыкновенной осуществляли в феврале 2020 г. С верхних веток кроны каждого дерева отбирали по 5–8 шишек, которые в последующем раскладывали в помещении и сушили при комнатной температуре до полного раскрытия.

Для цитогенетического анализа использовали кончики корешков проросших семян, достигших длины 5–15 мм. Семена проращивали в чашках Петри на влажной двухслойной фильтровальной бумаге. Проанализировано не менее 20 проростков для каждого дерева.

Таблица 1

**Таксационные параметры нормальных деревьев и клонов плюсовых деревьев
*Pinus sylvestris***

Селекционные категории	Номер дерева	Возраст, лет	Высота, м	Диаметр ствола на высоте 1,3 м, см
Клоны ПД	516-4	37	13,4	25,1
	835-5	37	13,0	24,7
	856-4	37	13,6	25,4
	864-2	37	13,3	24,4
	876-1	37	13,2	24,6
НД	6	20	8,6	22,3
	7	25	9,3	22,7

Цитогенетические исследования деревьев сосны. Изучали следующие цитогенетические показатели: число хромосом, частоту и типы патологий митоза на стадиях метафазы, анафазы и телофазы (в процентах от общего числа делящихся клеток на тех же стадиях) [7, 17]. Кончики корешков фиксировали в спиртово-уксусной смеси (3 части 96 %-го этилового спирта и 1 часть ледяной уксусной кислоты) в течение суток [24, 25]. Для подсчета числа хромосом перед фиксацией материал обрабатывали 1 %-м водным раствором колхицина в течение 5 ч, окрашивали 1 %-м ацетогематоксилином, перед окрашиванием материал выдерживали 10–15 мин в 4 %-м растворе железоммонийных квасцов. Давленные препараты готовили по стандартным методикам [24]. Просмотр препаратов осуществляли при помощи микроскопа «Микмед-5» («Ломо», Россия).

Исследование содержания ДНК. Данные флюоресценции изолированных ядер детектировали при помощи проточного цитофлуориметра Attune NxT (Thermo Fisher Scientific, США). Молодую хвою семенного потомства измельчали лезвием в 500 мкл охлажденного раствора для окрашивания (FxCycle™ PI/RNase) и инкубировали 10 мин в темноте при комнатной температуре. Образцы фильтровали через нейлоновую мембрану с размером пор 50 мкм [31, 35]. В качестве стандарта для определения относительного содержания ДНК *P. sylvestris* использовали изолированные ядра *Triticum aestivum* L. сорта Chinese spring с известным содержанием ДНК: 2C = 30,9 пг [34].

Статистическую обработку полученных экспериментальных данных осуществляли в программе StatGraphics. Сравнение выборок проводили

с использованием критериев Манна–Уитни и Стьюдента, частные доли в дисперсионном комплексе сопоставляли с применением критерия Фишера [9, 22].

Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования ФИЦ КарНЦ РАН и при поддержке научно-образовательного центра мирового уровня «Российская Арктика: новые материалы, технологии и методы исследования».

Результаты исследования и их обсуждение

Изменения в кариотипе у плюсовых и нормальных деревьев сосны обыкновенной. Представители семейства *Pinaceae* характеризуются одинаковым количеством хромосом ($2n = 24$) и выраженной однородностью кариотипа [36]. Исследование корневой меристемы семенного потомства НД и клонов ПД показало, что в диплоидном наборе содержится 24 хромосомы (рис. 1, *а*). У изученных растений обнаружены единичные анеуплоидные клетки ($2n = 23$; $2n = 25$). Чаще всего регистрировали моносомию ($2n = 23$) – 81 % от общего числа анеуплоидных клеток (рис. 1, *б*). Уменьшение числа хромосом до $2n = 23$ связано с присутствием в клетке дицентрической хромосомы [17, 19].

Анеуплоидные клетки образуются в результате нарушения митотического деления и отличаются по генетическому составу от исходных родительских [7]. Как правило, анеуплоидные клетки не проходят через митоз и быстро погибают. В изученной выборке большинство клеток являлось диплоидными, что свидетельствует о нормальной работе системы элиминации митотических аномалий.



Рис. 1. Метафазные пластинки клеток корневой меристемы проростков *Pinus sylvestris*: *а* – диплоидный набор хромосом ($2n = 24$); *б* – гипоанеуплоидный набор хромосом ($2n = 23$), дицентрическая хромосома. Увеличение: объектив – в 100 раз, окуляр – в 10 раз

Fig. 1. Metaphase plates of root meristem cells of *Pinus sylvestris* seedlings: *a* – diploid chromosome set ($2n = 24$); *b* – hypodiploid chromosome set ($2n = 23$), dicentric chromosome. Magnification: objective 100 \times , ocular 10 \times

Исследование содержания ДНК. Данные проточной цитометрии позволили определить относительное содержание ДНК в молодой хвое проростков *P. sylvestris*. Так, было установлено, что у клонов ПД диплоидные особи имеют средний уровень относительного содержания ДНК $42,07 \pm 0,21$ пг, тогда как НД содержат $42,95 \pm 0,04$ пг (табл. 2). Расчет статистической достоверности выявленного различия осуществлен двумя способами. В первом случае использован алгоритм, предложенный А.Н. Плохинским [22] для определения достоверности

разности при очень малых выборках. Разница между НД и клонами ПД по относительному содержанию ДНК оказалась статистически достоверной ($t_{\text{факт}} = 4,4$; $t_{\text{ст}} = 4,0$ при $p < 0,01$). Во втором случае применен критерий Манна-Уитни (U-test, $p < 0,01$) и подтвержден ранее сделанный вывод.

Полиплоидия в исследуемых образцах не выявлена, верность этого результата подтверждается и классическим методом кариотипирования. Похожие значения получены при исследовании относительного содержания ДНК *P. sylvestris*, произрастающих в лесных сообществах Балканского полуострова [33]. Так, было установлено: данный параметр у рассмотренных растений в среднем составляет $42,51 \pm 1,12$ пг. В работе J.P.T. Valkonen с соавторами [38] показано, что у диплоидных особей *P. sylvestris* в тканях хвои и корня относительное содержание ДНК – 52,25 пг. Однако в качестве внутреннего стандарта ученые использовали ядра, выделенные из листьев *Hordeum vulgare* L. сорта Sultan.

Таблица 2

Относительное содержание ДНК (2С) в молодой хвое проростков из семян *Pinus sylvestris*

Селекционные категории	Количество образцов	Относительное содержание ДНК		
		Минимальное / максимальное значение, пг	Среднее значение, пг	Коэффициент вариации, %
Клоны ПД	15	41,09 / 43,41	$42,09 \pm 0,17$	1,61
НД	6	42,68 / 43,12	$42,93 \pm 0,06$	0,34

Изучение патологий митоза у исследуемых растений. Митотическое деление в большинстве клеток изученных растений проходило нормально с правильной ориентацией хромосом в метафазе и последующим расхождением их к полюсам. Число делящихся клеток на разных стадиях митоза (метафаза, анафаза, телофаза) в корешках проростков из семян клонов ПД в среднем составило $194,7 \pm 6,2$ шт., а у НД – $181,4 \pm 14,3$ шт. В результате анализа числа делящихся клеток в меристемах хвои *P. sylvestris* в «экологически чистом» районе г. Красноярска было установлено, что среднее количество таких клеток – $123,6 \pm 9,5$ шт. [7].

Частота патологий митоза является одним из наиболее информативных параметров, точно отражающим уровень повреждений ДНК и степень воздействия стрессовых факторов на состояние генеративной сферы *P. sylvestris* [1, 5, 20, 21]. Наше исследование показало, что в потомстве НД доля клеток с аномалиями митоза в среднем ~ в 1,5 раза больше, чем в потомстве клонов ПД ($3,44 \pm 0,32$ и $2,38 \pm 0,14$ % (U-test, $p < 0,05$) соответственно). Доля цитогенетических патологий в клетках корневой меристемы проростков *P. sylvestris* низка и не превышает пределов нормальных значений уровня спонтанного мутирования, который, согласно исследованиям Буториной с соавторами [5, 6], равняется 5 %. Примечательно, что растений без патологий митоза в изученной выборке обнаружено не было.

Выявлено 7 типов патологий митоза (табл. 3), которые можно условно разделить на 3 группы [14, 21]. К первой группе относятся структурные нарушения хромосом – фрагментация хромосом в метафазе и анафазе (рис. 2, а), мосты в ана-телофаза (рис. 2, б). Вторая группа – это геномные нарушения: забегание

хромосом в метафазе и анафазе (рис. 2, *в*), обособление хромосом и групп хромосом в метафазе и анафазе (рис. 2, *з*), отставание хромосом в анафазе (рис. 2, *д*), многополосность в ана-телофазе (рис. 2, *е*). Третья группа – сложные нарушения, сочетающие в себе структурные и геномные нарушения – мосты + забегание хромосом в анафазе (рис. 2, *ж*).

Таблица 3

Результаты исследований патологий митоза в соматической ткани *Pinus sylvestris* на стадиях метафазы и ана-телофазы митоза

Тип патологии митоза	Распространенность патологии, % (Fd), для клонов ПД						Суммарные значения, %, для НД
	516-4	876-1	856-4	835-5	864-2	Суммарные значения	
<i>Метафаза</i>							
Забегание	1,27 (2,3)	0,20 (5,6)	0,35 (4,1)	0,26 (4,8)	0,08 (8,9)	0,39 (6,4)	0,83
Фрагментация	0,35 (0,9)	0 (3,0)	0 (3,8)	0 (3,2)	0,08 (1,4)	0,07 (3,2)	0,22
Обособление	0 (5,8)	0 (6,5)	0 (8,2)	0 (7,0)	0 (7,4)	0 (15,0)	0,26
<i>Ана-телофаза</i>							
Забегание	2,79 (4,2)	3,15 (3,4)	4,07 (0,6)	4,47 (0,1)	5,23 (0,6)	4,08 (1,1)	4,64
Фрагментация	0 (3,4)	0 (4,3)	0,16 (0,9)	0 (4,3)	0 (5,0)	0,04 (6,8)	0,26
Обособление	0 (1,0)	0 (1,2)	0 (1,5)	0,21 (1,3)	0 (1,4)	0,04 (1,0)	0,11
Отставание	0,15 (3,1)	0,11 (4,8)	0,08 (6,9)	0 (8,2)	0 (9,5)	0,06 (13,6)	0,47
Мосты	0 (5,3)	0,54 (0)	0,08 (6,1)	0,11 (4,4)	0,34 (1,4)	0,22 (5,6)	0,58
Многополосность	0 (4,0)	0 (5,0)	0 (6,1)	0 (5,0)	0,08 (2,7)	0,02 (9,4)	0,26
Мост + забегание	0 (1,7)	0,11 (0,5)	0,08 (1,0)	0,32 (0,6)	0 (2,5)	0,10 (1,3)	0,21

Примечание: Fd – критерий Фишера для разности сравниваемых долей, при Fd = 3,8, p < 0,05; Fd = 6,6, p < 0,01; Fd = 10,8, p < 0,001. Жирным шрифтом выделены варианты, статистически достоверно отличающиеся от суммарных значений НД.

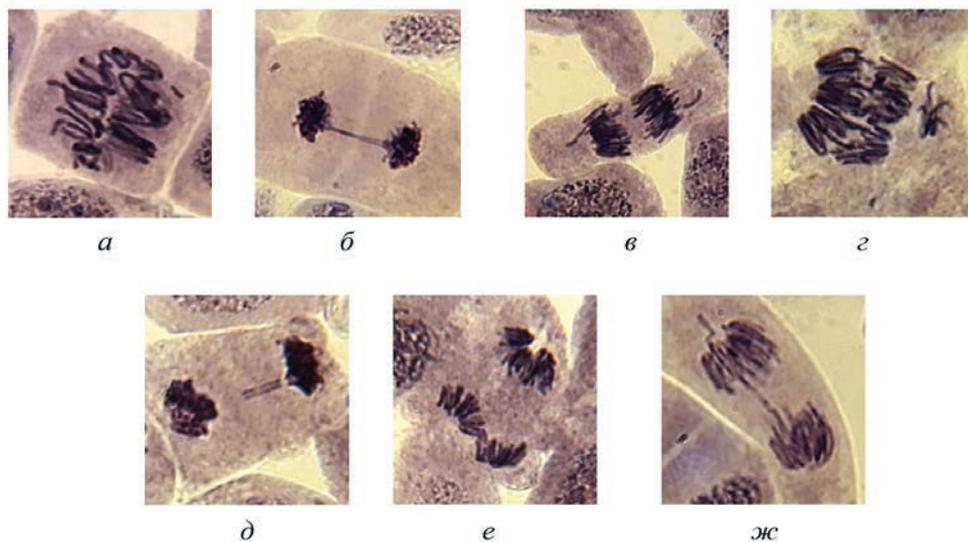


Рис. 2. Цитогенетические аномалии в клетках корневой меристемы проростков *Pinus sylvestris*: а – фрагментация хромосом; б – мост; в – забегание хромосом; г – обособление хромосом; д – отставание хромосом; е – многополюсный митоз; ж – мост + забегание хромосом. Увеличение: объектив – в 100 раз, окуляр – в 10 раз

Fig. 2. Cytogenetic abnormalities in root meristem cells of *Pinus sylvestris* seedlings: а – chromosome fragmentation; б – chromosome bridge; в – chromosome overlap; г – chromosome isolation; д – chromosome lagging; е – multipolar mitosis; ж – chromosome bridge + chromosome overlap. Magnification: objective 100 \times , ocular 10 \times

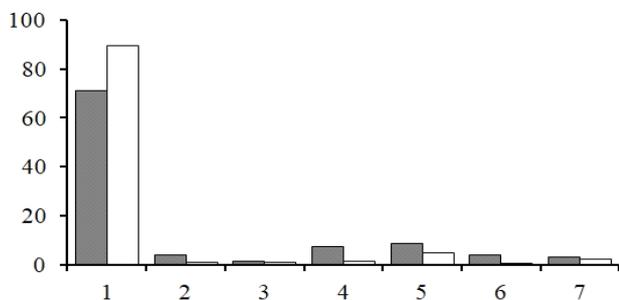


Рис. 3. Спектр нарушений митоза (%) на стадиях ана-телофазы у семенного потомства НД (серые столбики) и клонов ПД (белые столбики) сосны обыкновенной: 1 – забегание; 2 – фрагментация; 3 – обособление; 4 – отставание; 5 – мосты; 6 – многополюсность; 7 – сложные

Fig. 3. Spectrum of mitosis disorders (%) at the anaphase and telophase stages in the seed progeny of normal trees (gray columns) and clones of plus trees (white columns) of Scots pine: 1 – chromosome overlap; 2 – chromosome fragmentation; 3 – chromosome isolation; 4 – chromosome lagging; 5 – chromosome bridges; 6 – multipolar mitosis; 7 – complex abnormalities

Установлено, что на стадии ана-телофазы спектр патологий был значительно шире в отличие от стадии метафазы (см. табл. 3). При этом у большинства особей наиболее распространенной патологией являлось забегание хромосом, ее доля в общем спектре патологий митоза НД составляла 71 %, а у клонов ПД – 89 % (рис. 3). Такие изменения в клетке могут обуславливаться повреждением центромерного участка хромосомы [7] и приводить к потере части хромосомного материала у делящейся клетки [14]. Похожие данные получены в результате исследования семенного потомства *P. sylvestris* из Усманского бора (средний возраст насаждений – 80 лет) Воронежской области, где на долю данного типа патологий из общего спектра приходилось 49 % [17]. Частота патологий митоза у этих растений в среднем составляет 0,8 %. Исследователи отмечают, что лесорастительные условия Усманского бора можно считать оптимальными для нормального роста и развития *P. sylvestris*.

Сравнение частных долей [22] различных типов патологий митоза между двумя общими выборками НД и клонов ПД показало, что они значительно отличаются по следующим аномалиям митоза: забегание и обособление хромосом в метафазе, фрагментация, отставание, мосты и многополюсность в ана-телофазе (см. табл. 3).

Заключение

Полученные данные дополняют и расширяют сведения о цитогенетической системе *Pinus sylvestris* в таежных экосистемах европейской части России. В результате проведенных исследований стало очевидно, что в большинстве клеток сосны митоз протекает нормально, а основным типом патологий является забегание хромосом. Низкая доля клеток, имеющих аномалии митоза, присутствие в изученном материале единичных анеуплоидных клеток и стабильное значение относительного содержания ДНК свидетельствуют о нормальной работе системы элиминаций митотических аномалий. Поскольку система репарации защищает геном только до определенного уровня воздействия мутагенного фактора, можно предположить, что антропогенная нагрузка на экосистемы изученных районов невысока.

В корневой меристеме семенного потомства клонов плюсовых деревьев доля аномальных клеток и частота встреч разнообразных типов патологий меньше, чем у нормальных деревьев. Таким образом, изученные семена *P. sylvestris* с Петрозаводской ЛСП I порядка являются цитогенетически стабильными и могут служить посадочным материалом, а 5 клонов – плюсовыми деревьями для создания ЛСП полуторного и II порядков.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Аминева Е.Ю. Индивидуальная изменчивость сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) по признаку засухоустойчивости: автореф. дис. ...канд. с.-х. наук. Воронеж, 2018. 22 с. Amineva E.Yu. *Individual Variability of Scots Pine (Pinus sylvestris L.) by Drought Resistance*: Cand. Agric. Sci. Diss. Abs. Voronezh, 2018. 22 p.

2. Ананьев В.А., Мошников С.А. Структура и динамика лесного фонда Республики Карелия // Изв. вузов. Лесн. журн. 2016. № 4. С. 19–29. Anan'ev V.A., Moshnikov S.A. Structure and Dynamics of the Forest Reserves of the Republic of Karelia. *Lesnoy Zhurnal* [Russian Forestry Journal], 2016, no. 4, pp. 19–29. DOI: <https://doi.org/10.17238/issn0536-1036.2016.4.19>

3. Буторина А.К., Мозгалина И.Г. Особенности цитогенетических показателей сосны меловой и сосны обыкновенной // Экология. 2004. № 3. С. 185–189. Butorina A.K., Mozgalina I.G. Specific Cytogenetic Characteristics of *Pinus cretaceae* and *Pinus sylvestris*. *Ekologia* [Russian Journal of Ecology], 2004, no. 3, pp. 185–189. DOI: <https://doi.org/10.1023/B:RUSE.0000025965.49968.1f>

4. Буторина А.К., Мурая Л.С., Исаков Ю.Н. Спонтанный мутагенез у сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.). Первый случай обнаружения мутанта с кольцевой и добавочной хромосомами // Докл. Акад. наук СССР. 1979. Т. 248, № 4. С. 977–979. Butorina A.K., Muraya L.S., Isakov Yu.N. Spontaneous Mutagenesis in Scots Pine (*Pinus sylvestris* L.). The First Case of Mutant Detection with Ring and Additive Chromosomes. *Doklady Akademii nauk SSSR*, 1979, vol. 248, no. 4, pp. 977–979.

5. 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. 196–201. Butorina A.K., Kalayev V.N., Vostrikova T.V., Myagkova O.E. Cytogenetic Characteristics of Seed Progeny of Some Woody Plant Species under Anthropogenic Pollution in Voronezh. *Tsitologiya*, 2000, vol. 42, no. 2, pp. 196–201.

6. Буторина А.К., Черкашина О.Н., Ермолаева О.В., Чернодубов А.И., Авдеева И.А. Цитогенетический мониторинг аутохтонных лесов Усманского и Хреновского боров // Изв. РАН. Сер.: Биологическая. 2007. № 4. С. 508–512. Butorina A.K., Cherkashina O.N., Ermolaeva O.V., Chernodubov A.I., Avdeeva I.A. Cytogenetic Monitoring of the Usmansky and Khrenovskoy Autochthonic Pine Stands. *Izvestiya Rossiyskoy akademii nauk. Seriya biologicheskaya* [Biology Bulletin], 2007, no. 4, pp. 508–512. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1062359007040152>

7. Горячкина О.В., Сизых О.А. Цитогенетические реакции хвойных растений в антропогенно нарушенных районах г. Красноярска и его окрестностей // Хвойные бореальной зоны. 2012. Т. 30, № 1-2. С. 46–51. Goryachkina O.V., Sizykh O.A. Cytogenetic Responses of Coniferous Plants in Anthropogenically Disturbed Areas of Krasnoyarsk and Its Surroundings. *Hvojnye boreal'noj zony* [Conifers of the boreal area], 2012, vol. 30, no. 1-2, pp. 46–51.

8. Егоркина Г.И., Валетова Е.А. Цитогенетическое изучение сосны обыкновенной в городских лесах г. Бийска // Ползуновский вестн. 2004. № 2. С. 110–115. Egorkina G.I., Valetova E.A. Cytogenetic Study of Scots Pine in Urban Forests of Biysk. *Polzunovskiy vestnik*, 2004, no. 2, pp. 110–115.

9. Ивантер Э.В., Коросов А.В. Введение в количественную биологию. Петрозаводск: ПетрГУ, 2011. 304 с. Ivanter E.V., Korosov A.V. *Introduction to Quantitative Biology*. Petrozavodsk, PetrSU Publ., 2011. 304 p.

10. Ильинов А.А., Раевский Б.В. Сравнительная оценка генетического разнообразия естественных популяций и клоновых плантаций сосны обыкновенной и ели финской в Карелии // Экол. генетика. 2015. Т. XIII, № 4. С. 55–67. Ilinov A.A., Raevskiy B.V. Genetic Diversity Comparative Evaluation of *Pinus sylvestris* L. and *Picea × Fennica* (Regel) Kom. Native Populations and Clonal Seed Orchards in Russian Karelia. *Ekologicheskaya genetika* [Ecological genetics], 2015, vol. XIII, no. 4, pp. 55–67. DOI: <https://doi.org/10.17816/ecogen13455-67>

11. Ильинов А.А., Раевский Б.В. Состояние генофонда сосны обыкновенной *Pinus sylvestris* L. в Карелии // Сиб. лесн. журн. 2016. № 5. С. 45–54. Ilyinov A.A., Raevsky B.V. The Current State of *Pinus sylvestris* L. Gene Pool in Karelia. *Sibirskij Lesnoj Zhurnal* [Siberian Journal of Forest Science], 2016, no. 5, pp. 45–54. DOI: <https://doi.org/10.15372/SJFS20160504>

12. Ильинов А.А., Раевский Б.В. Использование микросателлитных локусов в изучении плюсового генофонда сосны обыкновенной *Pinus sylvestris* L. в Карелии // Тр. КарНЦ РАН. 2018. № 6. С. 124–134. Ilinov A.A., Raevsky B.V. Analysis of the *Pinus sylvestris* L. Plus Tree Gene Pool in Karelia Using Microsatellite Loci. *Trudy KarNTs RAN* [Transactions of KarRC RAS], 2018, no. 6, pp. 124–134. DOI: <https://doi.org/10.17076/eb840>

13. Калаев В.Н., Артюхов В.Г., Попов В.Н., Игнатова И.В. Цитогенетический полиморфизм семенного потомства сосны обыкновенной на востоке Воронежской области // Лесоведение. 2010. № 4. С. 56–65. Kalaev V.N., Artyukhov V.G., Popov V.N., Ignatova I.V. Cytogenetic Polymorphism of Pine Seeds in Eastern Voronezh Region. *Lesovedenie* [Russian Journal of Forest Science], 2010, no. 4, pp. 56–65.

14. Калашиник Н.А. Хромосомные нарушения как индикатор оценки степени техногенного воздействия на хвойные насаждения // Экология. 2008. № 4. С. 276–286. Kalashnik N.A. Chromosome Aberrations as Indicator of Technogenic Impact on Conifer Stands. *Ekologia* [Russian Journal of Ecology], 2008, no. 4, pp. 276–286. DOI: <https://doi.org/10.1134/S106741360804005X>

15. Лаур Н.В., Царев А.П. Лесосеменные плантации Карелии // Леса России: политика, промышленность, наука, образование: материалы IV науч.-техн. конф. СПб: ПОЛИТЕХ-ПРЕСС, 2019. С. 123–126. Laur N.V., Tsarev A.P. Forest Seed Plantations of Karelia. *Proceedings of the IV Scientific and Technical Conference "Forests of Russia: Policy, Industry, Science and Education"*. Saint Petersburg, POLITEKh-PRESS Publ., 2019, pp. 123–126.

16. Машкина О.С., Калаев В.Н., Мурая Л.С., Леликова Е.С. Цитогенетические реакции семенного потомства сосны обыкновенной на комбинированное антропогенное загрязнение в районе Новолипецкого металлургического комбината // Экол. генетика. 2009. Т. VII, № 3. С. 17–29. Mashkina O.S., Kalaev V.N., Muraya L.S., Lelikova E.S. Cytogenetic Response of Seed Progeny of Scots Pine to Combined Anthropogenic Pollution in the Area of Novolipetsk Metallurgical Combine. *Ekologicheskaya genetika* [Ecological genetics], 2009, vol. VII, no. 3, pp. 17–29. DOI: <https://doi.org/10.17816/ecogen7317-29>

17. 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. 30, № 1-2. С. 127–135. Mashkina O.S., Tikhonova I.V., Muratova E.N., Muraya L.S. Cytogenetic Features of Seed Progeny of Dwarf Pines in Southern Eastern Siberia. *Hvojnye boreal'noj zony* [Conifers of the boreal area], 2012, vol. 30, no. 1-2, pp. 127–135.

18. Милютин Л.И., Муратова Е.Н., Ларионова А.Я. Развитие лесной генетики в России // Сиб. лесн. журн. 2018. № 1. С. 3–15. Milyutin L.I., Muratova E.N., Larionova A.Ya. Development of Forest Genetics in Russia. *Sibirskij Lesnoj Zhurnal* [Siberian Journal of Forest Science], 2018, no. 1, pp. 3–15. DOI: <https://doi.org/10.15372/SJFS20180101>

19. Муратова Е.Н., Седельникова Т.С. Геномные и хромосомные мутации у сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в экстремальных условиях произрастания // Хвойные бореальной зоны. 2004. Вып. 2. С. 128–140. Muratova E.N., Sedel'nikova T.S. Genome and Chromosomal Mutations in Scots Pine (*Pinus sylvestris* L.) under Extreme Environmental Conditions. *Hvojnye boreal'noj zony* [Conifers of the boreal area], 2004, iss. 2, pp. 128–140.

20. Пардаева Е.Ю., Машкина О.С., Кузнецова Н.Ф. Состояние генеративной сферы сосны обыкновенной как биоиндикатора устойчивости лесов на территории Центрально-Черноземного района в связи с глобальным изменением климата // Тр. СПбНИИЛХ. 2013. № 2. С. 16–21. Pardayeva E.Yu., Mashkina O.S., Kuznetsova N.F. State of Generative Sphere of Scots Pine as a Bioindicator of Forest Stability in the Central Black Earth Region in Connection with Global Climate Change. *Trudy Sankt-Peterburgskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta lesnogo khozyaystva* [Proceedings of the Saint Petersburg Forestry Research Institute], 2013, no. 2, pp. 16–21.

21. Пардаева Е.Ю., Машкина О.С., Кузнецова Н.Ф., Попов В.Н. Оценка чувствительности цитогенетических показателей к воздействию погодного и техногенного факторов стресса на примере *Pinus sylvestris* L. // Организация и регуляция физиолого-биохимических процессов. Воронеж: Централ.-чернозем. кн. изд-во, 2013. С. 148–155.

Pardayeva E.Yu., Mashkina O.S., Kuznetsova N.F., Popov V.N. Assessment of Sensitivity of Cytogenetic Indices to Weather and Anthropogenic Stress Factors on the Example of *Pinus sylvestris* L. *Organization and Regulation of Physiological and Biochemical Processes*. Voronezh, Tsentral'no-chernozemnoye knizhnoye izdatel'stvo, 2013, pp. 148–155.

22. Плохинский Н.А. Биометрия. М.: МГУ, 1970. 367 с. Plokhinskiy N.A. *Biometrics*. Moscow, MGU Publ., 1970. 367 p.

23. Правдин Л.Ф. Сосна обыкновенная. Изменчивость, внутривидовая систематика и селекция. М.: Наука, 1964. 192 с. Pravdin L.F. *Scots Pine. Variability, Intraspecific Systematics and Selection*. Moscow, Nauka Publ., 1964. 192 p.

24. Правдин Л.Ф., Бударагин В.А., Круклис М.В., Шершукова О.П. Методика кариологического изучения хвойных пород // Лесоведение. 1972. № 2. С. 67–75. Pravdin L.F., Budaragin V.A., Krukliis M.V., Shershukova O.P. Methodology of Karyological Study of Conifers. *Lesovedenie* [Russian Journal of Forest Science], 1972, no. 2, pp. 67–75.

25. Пухальский В.А., Соловьев А.А., Бадаева Е.Д., Юрцев В.Н. Практикум по цитологии и цитогенетике растений. М.: КолосС, 2007. 198 с. Pukhal'skiy V.A., Solov'yev A.A., Badayeva E.D., Yurtsev V.N. *Workshop on Plant Cytology and Cytogenetics*. Moscow, KolosS Publ., 2007. 198 p.

26. Раевский Б.В. Селекция и семеноводство сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) и сосны скрученной (*Pinus contorta* Dougl. ex Loud. var. *latifolia* Engelm) на северо-западе таежной зоны России: автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук. Петрозаводск, 2015. 43 с. Raevsky B.V. *Breeding and Seed Production of Scots Pine (Pinus sylvestris L.) and Twisted Pine (Pinus contorta Dougl. ex Loud. var. latifolia Engelm) in the North-West of the Russian Taiga Zone*: Dr. Agric. Sci. Diss. Abs. Petrozavodsk, 2015. 43 p.

27. Раевский Б.В., Щурова М.Л. Методика селекционно-генетической оценки клонов сосны обыкновенной на лесосеменных плантациях // Сиб. лесн. журн. 2016. № 5. С. 91–98. Raevsky B.V., Schurova M.L. The Method for Breeding and Genetic Assessment of Scotch Pine Clones at Forest Seed Orchards. *Sibirskij Lesnoj Zhurnal* [Siberian Journal of Forest Science], 2016, no. 5, pp. 91–98. DOI: <https://doi.org/10.15372/SJFS20160509>

28. Раевский Б.В., Куклина К.К., Щурова М.Л. Селекционно-генетическая оценка плюсовых деревьев сосны обыкновенной в Карелии // Тр. КарНЦ РАН. № 3. 2020. С. 45–59. Raevsky B.V., Kuklina K.K., Schurova M.L. Genetic and Breeding Assessment of Scots Pine Plus Trees in Karelia. *Trudy KarNTs RAN* [Transactions of KarRC RAS], 2020, no. 3, pp. 45–59. DOI: <https://doi.org/10.17076/eb1163>

29. Седельникова Т.С. Дифференциация болотных и суходольных популяций видов семейства *Pinaceae* Lindl. (репродуктивные и кариотипические особенности): автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Томск., 2008. 35 с. Sedel'nikova T.S. *Differentiation of Swamp and Dry Meadow Populations of the Pinaceae Lindl. Family Species. (Reproductive and Karyotypic Features)*: Dr. Biol. Sci. Diss. Abs. Tomsk, 2008. 35 p.

30. Седельникова Т.С. Цитогенетический мониторинг хвойных как индикатор уровня экстремальности экосистем // Промышленная ботаника. 2014. Вып. 14. С. 54–60. Sedel'nikova T.S. Cytogenetic Monitoring of Populations of Conifers as an Indicator of Ecosystems Extreme Level. *Promy'shlennaya botanika* [Industrial Botany], 2014, iss. 14, pp. 54–60.

31. Скапцов М.В., Смирнов С.В., Куцев М.Г. Содержание ядерной ДНК в некоторых сортах растений, используемых в качестве внешних стандартов в проточной цитометрии // Turczaninowia. 2014. Т. 17, № 3. С. 72–78. Skaptsov M.V., Smirnov S.V., Kutsev M.G. Nuclear DNA Content in Some Plant Kinds Used as an External Standard in Flow Cytometry. *Turczaninowia*, 2014, vol. 17, no. 3, pp. 72–78. DOI: <https://doi.org/10.14258/turczaninowia.17.3.8>

32. Шафикова Л.М., Калашник Н.А. Характеристика кариотипа сосны обыкновенной при промышленном загрязнении // Лесоведение. 2000. № 2. С. 30–36.

Shafikova L.M., Kalashnik N.A. Characteristics of the Karyotype of Scots Pine under Industrial Pollution. *Lesovedenie* [Russian Journal of Forest Science], 2000, no. 2, pp. 30–36. DOI: <https://doi.org/10.1002/jppr200030136>

33. Bogunic F., Muratovic E., Brown S.C., Siljak-Yakovlev S. Genome Size and Base Composition of Five *Pinus* Species from the Balkan Region. *Plant Cell Reports*, 2003, vol. 22, iss. 1, pp. 59–63. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00299-003-0653-2>

34. Bogunić F., Siljak-Yakovlev S., Muratović E., Pustahija F., Medjedović S. Molecular Cytogenetics and Flow Cytometry Reveal Conserved Genome Organization in *Pinus mugo* and *P. uncinata*. *Annals of Forest Science*, 2011, vol. 68, iss. 1, pp. 179–187. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13595-011-0019-9>

35. Doležel J., Greilhuber J., Lucretti S., Meister A., Lysák M.A., Nardi L., Obermayer R. Plant Genome Size Estimation by Flow Cytometry: Inter-Laboratory Comparison. *Annals of Botany*, 1998, vol. 82, iss. suppl_1, pp. 17–26. DOI: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a010312>

36. Hizume M. Karyomorphological Studies in the Family *Pinaceae*. *Memoirs of the Faculty of Education, Ehime University. Series III, Natural science*, 1988, vol. 8, no. 2, pp. 1–108.

37. Sedel'nikova T.S., Muratova E.N., Pimenov A.V. Variability of Chromosome Numbers in Gymnosperms. *Biology Bulletin Reviews*, 2011, vol. 1, iss. 2, pp. 100–109. DOI: <https://doi.org/10.1134/S2079086411020083>

38. Valkonen J.P.T., Nygren M., Ylönen A., Mannonen L. Nuclear DNA Content of *Pinus sylvestris* (L.) as Determined by Laser Flow Cytometry. *Genetica*, 1994, vol. 92, iss. 3, pp. 203–207. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00132539>