

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЧИСЛА ХРОМОСОМ И ХРОМОСОМНЫЕ ПЕРЕСТРОЙКИ У *PINUS SYLVESTRIS* (PINACEAE) В ЗАСУШЛИВЫХ УСЛОВИЯХ НИЖНЕГО ПОВОЛЖЬЯ И ЮЖНОЙ СИБИРИ

© 2021 г. Т. С. Седельникова^{1,*}, А. В. Пименов^{1,**}

¹ Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН,
Федеральный исследовательский центр “Красноярский научный центр СО РАН”
Академгородок, 50/28, Красноярск, 660036, Россия

*e-mail: tss@ksc.krasn.ru,

**e-mail: pimenov@ksc.krasn.ru

Поступила в редакцию 03.08.2020 г.

После доработки 14.12.2020 г.

Принята к публикации 22.12.2020 г.

Исследованы основные критерии хромосомного полиморфизма — изменчивость числа хромосом, встречаемость и спектр хромосомных перестроек — в естественных популяциях и искусственных насаждениях сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*), произрастающих на юге ареала в степной зоне Нижнего Поволжья (Волгоградская область) и Южной Сибири (Республика Тыва, Республика Хакасия). В семенном потомстве всех исследованных деревьев выявлена миксоплоидия, уровень распространения которой возрастает по мере усиления засушливости и ухудшения эдафических условий произрастания. В семенном потомстве *P. sylvestris* в Волгоградской области и Хакасии обнаружены хромосомные перестройки, представленные кольцевыми хромосомами, полицентрическими хромосомами, фрагментами, множественными нарушениями. Существенное увеличение встречаемости хромосомных перестроек и расширение их спектра отмечается в проростках семян из изолированного происхождения *P. sylvestris* в каменистой степи Хакасии. Уровень встречаемости миксоплоидии и хромосомных перестроек у внутривидовых форм деревьев *P. sylvestris* неодинаков, что связано с различиями условий их произрастания. Выявленная цитологическая нестабильность семенного потомства деревьев в насаждениях *P. sylvestris*, произрастающих в степных экотопах, может свидетельствовать об активизации микроэволюционных процессов, что очевидно, сопровождается естественным отбором устойчивых генотипов и форм, адаптированных к засушливым лесорастительным условиям.

Ключевые слова: *Pinus sylvestris*, внутривидовые формы, засушливые условия, Нижнее Поволжье, Южная Сибирь, миксоплоидия, хромосомные перестройки, цитологическая нестабильность

10.31857/S0006813621040116

На южной границе своего распространения сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.) произрастает в виде разобщенных между собой боров, отстоящих друг от друга на большие расстояния. Изолированный, или островной, характер расположения популяций *P. sylvestris* на юге ареала определяется лимитирующим влиянием неблагоприятных почвенно-климатических факторов — контрастностью температур, недостатком влаги, сухостью и бедностью почвы (Pravdin, 1964). К изолированным популяциям *P. sylvestris* относятся боры в Воронежской и Оренбургской областях, боровые массивы в Северном Казахстане, ленточные боры в Приобье и на юге Красноярского края, островные боры в Хакасии и Туве. Степные

и лесостепные автохтонные боры имеют средообразующее, а в ряде случаев — сырьевое значение, обладают значительным селекционно-генетическим потенциалом (Milyutin et al., 2013). За пределами южной границы ареала, в степных и пустынных районах Волгоградской, Астраханской областей и Калмыкии, где насаждения *P. sylvestris* созданы искусственно, они выполняют защитную и рекреационную функции (Bogun, Tsembelev, 2012; Manaenkov, Kulik, 2017; Semenyutina, Noyanova, 2019).

Популяции *P. sylvestris* на юге ареала отличаются биологическим разнообразием, выражающимся в наличии широкого спектра экотипов и форм

деревьев: *P. sylvestris* subsp. *kulundensis* Sukaczew в остепненных борах азиатской части ареала, *P. sylvestris* var. *cretaceae* Kalinicz. на меловых обнажениях юга Европейской России и Украины (Pravdin, 1964). Степной экотип сосны (*P. sylvestris* var. *stepposa* Sukachev) описан для условий засушливого климата, каменистых почв и сильных ветров Казахского мелкосопочника (Petrov, 1961). Формы деревьев с нарушениями габитуса и развития — “ведьмиными метлами”, наростами, плакучей кроной, карликовые формы — встречаются в степных борах юга Сибири, Казахстана и Алтая. Количество таких деревьев возрастает по мере увеличения сухости лесорастительных условий (Shul’ga, 1979; Sosna..., 1988; Korovin et al., 2003; Tikhonova, Semerikov, 2010).

Работы, посвященные исследованию генетических факторов, контролирующих процесс формообразования у *P. sylvestris* на юге ареала и за его пределами, немногочисленны. В них показано, что в засушливых условиях произрастания популяции сосны обыкновенной характеризуются повышенной частотой встречаемости хромосомных мутаций, а также редких аллелей, присутствием в клетках проростков семян микроядер (Sosna..., 1988; Sedel’nikova, 2003; Butorina et al., 2007; Tikhonova, Semerikov, 2010; Mashkina et al., 2012).

Целью настоящего исследования является анализ основных критериев хромосомного полиморфизма — изменчивости числа хромосом, спектра и уровня хромосомных перестроек в насаждениях *P. sylvestris*, произрастающих в засушливых условиях Нижнего Поволжья и Южной Сибири. Оценка данных критериев позволяет выявлять не только морфо-фенотипическое, но и генетическое разнообразие популяций сосны обыкновенной, диагностировать качество семенного потомства деревьев и их устойчивость.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Материалами для исследования послужили естественные популяции и искусственные лесонасаждения *P. sylvestris* в пределах Волгоградской области, Республики Тыва и Республики Хакасия.

Волгоградская область. Сбор семенного материала проводился в 2019 г. в искусственных насаждениях *P. sylvestris*, созданных в 1960–70-х гг. на территории Калачевского и Суровикинского районов. К настоящему времени эти лесные массивы достигли предельного для условий степной зоны возраста — 50–60 лет. Их естественное старение и сокращение площади усугубляются недостаточностью ухода и воздействием ряда негативных факторов, связанных с нарастающей засушливостью климата и ухудшением лесопожарной обстановки. Климатические условия исследован-

ных районов отличаются континентальностью, сухим жарким летом, дефицитом осадков, периодическими сильными юго-восточными ветрами. Почвенный покров со светло-каштановыми почвами в комплексе с солонцами имеет низкие показатели содержания гумуса, активной влаги и общей пористости (Latkina, Latkin, 2018; Semenyutina, Noyanova, 2019).

Было сформировано 4 выборки семян (каждая — с 30 деревьев), собранных в окрестности г. Калач-на-Дону в “зеленом кольце” вокруг города (48°42'17" с.ш. 43°30'33" в.д.), х. Рюмино-Красноярский в 2 км от ландшафтного памятника природы “Голубинский песчаный массив” (48°48'03" с.ш. 43°35'43" в.д.), пос. Пятиморск (48°39'25" с.ш. 43°36'32" в.д.) и г. Суровикино (48°37'53" с.ш. 42°52'45" в.д.) вдоль федеральной автотрассы А-260. В последних двух точках семенной материал собирался с деревьев, растущих в глубине лесных массивов, в 100–200 м от проезжей части.

Исследованные насаждения представляют собой сухие боры (состав — 10С, класс бонитета — III, возраст деревьев — 40–50 лет, высота — 17–21 м, диаметр — 18–22 см). Деревья характеризуются многовершинностью, их семенная продуктивность очень низкая (выход жизнеспособных семян на одну шишку составляет 0.1–3.2 шт.).

Республика Тыва. Сбор семян проводился в 2019 г. на территории Тандинского района в естественных популяциях в Балгазынском бору в зоне Государственного природного заказника “Балгазынский” (51°02'43" с.ш. 95°07'20" в.д.). Климат района полусухой резко-континентальный, характеризующийся недостатком влаги, низкими зимними температурами воздуха и почв, глубоко промерзающих зимой. Балгазынский бор расположен на древних эоловых песках возвышенности Саргалык-тайга и занимает периферийные участки песчаного массива на границе с полынно-дерновинно-злаковой степью (Sosna..., 1988; Milyutin et al., 2013). Была сформирована одна общепопуляционная выборка семян (с 40 деревьев) в сосновых насаждениях, представляющих собой остепненный разнотравно-злаковый тип леса, характеризующихся разновозрастностью и низко опущенными кронами деревьев. Состав насаждений — 10С, классы бонитета — III–V. Возраст деревьев — 50–170 лет, высота — 18–22 м, диаметр — 26–44 см.

Республика Хакасия. Сбор семян проводился в 2013 г. в естественных популяциях и искусственных насаждениях *P. sylvestris* на территории Ширинского (“Ширинская степь”) и Бейского (“Койбальская степь”) районов. Климат исследованных районов резко континентальный, засушливый, с большими температурными контрастами, жарким летом и продолжительной малоснеж-

ной зимой. “Койбальская” и “Ширинская” степи представляют собой сухие территории с южными черноземами, местами темно-каштановыми почвами с солонцами и солончаками, в предгорьях и низкогорьях распространены каменные почвы с неразвитым профилем (Rastitel'nyu..., 1976).

В “Ширинской степи” нами исследованы два местонахождения *P. sylvestris*. 1. “Карыш” — в естественной популяции на склоне горного обрамления долины р. Карыш (54°24'33" с.ш. 89°59'11" в.д.), тип леса — сосняк низкотравно-мшистый пятнисто-мертвопокровный V класса бонитета, средние возраст, высота и диаметр деревьев соответственно — 109 лет, 15.0 м и 21.2 см. 2. “Шира” — в искусственном насаждении на прибрежных склонах вокруг озера Шира (54°30'53" с.ш. 90°08'35" в.д.), тип леса — сосняк вейниково-польнно-разнотравный IV класса бонитета, средние возраст, высота и диаметр деревьев соответственно — 52 года, 10.8 м и 21.9 см. В “Койбальской степи” изучено искусственное насаждение *P. sylvestris*, расположенное в зоне охраняемой территории регионального значения “Смирновский бор” (53°22'08" с.ш. 91°22'20" в.д.), тип леса — сосняк зеленомошно-разнотравно-кустарниковый мозаично-остепненный III класса бонитета, средние возраст, высота и диаметр деревьев соответственно — 68 лет, 17.6 м и 28.8 см. Популяция *P. sylvestris* “Карыш”, произрастающая в каменистой степи, представляет собой петрофитное редкостойное разновозрастное насаждение с преобладанием световых форм деревьев с низкой кроной. Насаждения *P. sylvestris* в “Ширинской” и “Койбальской” степях заложены в 50–60-е гг. XX в. (в “Ширинской степи” они сильно пострадали от пожаров). Были сформированы популяционные выборки семян внутривидовых форм (каждая — с 30–40 деревьев), выделенных по окраске микростробилов: краснопыльничковая (f. *erythrantera* Sanio) и желтопыльничковая (f. *sulfurantera* Kozubow) в происхождениях “Карыш” и “Шира” и окраске семенной кожуры: коричневосемянная (f. *phaeosperma* Kurdiani) и черносемянная (f. *melanosperma* Kurdiani) в происхождении “Смирновский бор”.

Семена проращивали в год их сбора в чашках Петри, проростки обрабатывали 1% р-ром колхицина в течение 4–6 часов, после промывания производили их фиксацию спиртово-уксусной смесью (3:1), хранили в холодильнике при постоянной температуре от +3 до +5°. Для исследования использовали меристематические ткани кончиков корешков проросших семян. Материал окрашивали 1% р-ром железозацетогематоксилина. Для просмотра использовали “давленные” препараты, приготовленные стандартным способом. Подсчет числа хромосом и анализ хромосомных перестроек производили на стадии метафазы митоза. Препараты просматривали под микроско-

пом Axiostar plus (Carl Zeiss) с применением системы формирования изображений AxioVision (окуляр ×10, объектив ×90).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Выявлено, что в диплоидном хромосомном наборе *P. sylvestris*, произрастающей в исследованных насаждениях, содержится 24 хромосомы ($2n = 2x = 24$). В семенном потомстве деревьев обнаружена миксоплоидия, при которой в клетках проростков, наряду с диплоидными, содержатся триплоидные ($2n = 3x = 36$) и тетраплоидные ($2n = 4x = 48$) клетки (рис. 1). Наиболее часто наблюдаются хромосомные расы, содержащие тетраплоидные клетки ($2n = 24, 48$), менее часто — триплоидные ($2n = 24, 36$), а также одновременно тетраплоидные и триплоидные ($2n = 24, 36, 48$). При этом уровень полиплоидизации диплоидных тканей проростков семян существенно варьирует (табл. 1).

Встречаемость миксоплоидных проростков в семенном потомстве деревьев различна. Минимальное их количество выявлено в популяциях “Смирновский бор” и “Суровикино”, максимальное — в насаждениях “Карыш” и “Рюмино-Красноярский” (табл. 1). Насаждения сосны в происхождениях “Карыш” и “Рюмино-Красноярский” являются территориально и репродуктивно изолированными от смежных сосновых массивов и произрастают в жестких лесорастительных условиях, первое — на сухой каменистой почве, второе — в аридных условиях окрестностей Голубинских песков, представляющих собой фрагмент пустыни в сухой степи. Тот факт, что практически все проростки в насаждениях “Карыш” и “Рюмино-Красноярский” являются миксоплоидами, может свидетельствовать о влиянии экстремальных условий произрастания деревьев на повышение гетерогенности клеточных линий, что, вероятно, способствует лучшей выживаемости семенного потомства. Для происхождений “Рюмино-Красноярский” и особенно “Карыш” характерным является разнообразие морфологических типов деревьев и наличие особей, несущих “ведьмины метлы”, что также может обуславливать высокую частоту встречаемости миксоплоидии у таких растений.

Доля миксоплоидов в проростках семян внутривидовых форм деревьев также варьирует. В локалитете “Смирновский бор” у f. *phaeosperma* она значительно выше, чем у f. *melanosperma*, а у f. *erythrantera* и f. *sulfurantera* в происхождениях “Карыш” и “Шира” имеет близкие значения. При этом сохраняется сходный баланс уровня полиплоидизации корневых меристем как между экземплярами f. *phaeosperma* и f. *melanosperma*, так и между f. *erythrantera* и f. *sulfurantera* (табл. 1). Вероятно, в засушливых степных условиях в насаж-



Рис. 1. Метафазные пластинки с различным числом хромосом в происхождениях *P. sylvestris*: а) $2n = 24$ (“Балгазынский бор”), б) $2n = 24, 36$ (“Балгазынский бор”), в) $2n = 24, 36$ (“Пятиморск”), д) $2n = 36$ (“Смирновский бор”, *f. phaeosperma*), е) $2n = 24, 48$ (“Карыш”, *f. erythranthera*), ф) $2n = 48$ (“Калач-на-Дону”), г) $2n = 48$ (“Пятиморск”), h) $2n = 48$ (“Рюмино-Красноярский”), и) $2n = 48$ (“Смирновский бор”, *f. phaeosperma*). Масштабная линейка – $10\ \mu\text{m}$.

Fig. 1. Metaphase plates with different chromosome numbers in provenances of *P. sylvestris*: а) $2n = 24$ (“Balgazynskiy Bor”), б) $2n = 24, 36$ (“Balgazynskiy Bor”), в) $2n = 24, 36$ (“Pyatimorsk”), д) $2n = 36$ (“Smirnovskiy Bor”, *f. phaeosperma*), е) $2n = 24, 48$ (“Karysh”, *f. erythranthera*), ф) $2n = 48$ (“Kalach-na-Donu”), г) $2n = 48$ (“Pyatimorsk”), h) $2n = 48$ (“Ryumino-Krasnoyarsk”), и) $2n = 48$ (“Smirnovskiy Bor”, *f. phaeosperma*). Scale bar – $10\ \mu\text{m}$.

дениях *P. sylvestris* отдельные формы деревьев являются более адаптированными и имеют преимущество, определяемое, в том числе, количеством полиплоидных клеток в соматических тканях проростков семян.

По данным предыдущих лет, доля миксоплоидов среди проростков семян из насаждений в Волгоградской области не превышала 4.8% (Sedel'nikova, 2003). В степных борах Южной Сибири встречаемость миксоплоидов в семенном потомстве деревьев составляла 3.0–25.0%, возрастая у особей с аномалиями развития и в годы с сухой и жаркой погодой (Sosna..., 1988; Mashkina et al., 2012). Сопоставление полученных нами результатов с опубликованными ранее данными показывает, что в сосновых насаждениях Волгоградской области, Тывы и Хакасии количество миксоплоидов в семенном потомстве деревьев

существенно выше. Очевидно, что миксоплоидия как общий феномен характерна для южных степных насаждений сосны обыкновенной.

Одновременное присутствие клеток разного уровня ploidy в тканях обуславливается соматической редукцией хромосом, их неразъединением, элиминацией, удвоением и другими причинами. Миксоплоидия рассматривается некоторыми авторами в качестве фактора, обеспечивающего устойчивость растений, в том числе древесных, к экстремальным условиям среды. Предполагается, что сочетание клеток разной ploidy усиливает пластичность растения в целом, обеспечивает генетическое и фенотипическое разнообразие потомства. У таких растений возникают формы хромосомного полиморфизма, связанного с повышенной геномной нестабильностью. Полиплоидные и миксоплоидные фор-

Таблица 1. Изменчивость числа хромосом у *Pinus sylvestris*
Table 1. The variability of the chromosome number in *Pinus sylvestris*

Происхождение Provenance	Число изученных корневых меристем/клеток, шт. Number of studied root meristems/cells, pcs.	Число корневых меристем с измененным числом хромосом, шт./% Number of root meristems with a changed chromosome number, pcs./%	Число клеток с измененным числом хромосом, шт./% Number of cells with a changed chromosome number, pcs./%	Хромосомный набор корневых меристем, шт./% Chromosome set of root meristems, pcs./%			
				2n = 24	2n = 24; 36	2n = 24; 48	2n = 24; 36; 48
“Калач-на-Дону” “Kalach-na-Donu”	12/263	4/33.3	9/3.4	8/66.7	1/8.3	3/25.0	–
“Суровикино” “Surovikino”	15/241	3/20.1	4/1.7	12/79.9	1/6.7	1/6.7	1/6.7
“Пятиморск” “Pyatimorsk”	15/474	11/73.7	29/6.1	4/26.7	3/20.0	5/33.3	3/20.0
“Рюмино-Красноярский” “Ryumino-Krasnoyarskiy”	3/165	3/100	14/8.5	–	–	1/33.3	2/66.7
“Балгазынский бор” “Balgazynskiy Bor”	15/443	11/73.7	24/5.4	4/26.7	2/13.3	2/13.3	7/46.7
“Смирновский бор”, f. <i>melanosperma</i> “Smirnovskiy Bor”, f. <i>melanosperma</i>	10/213	2/20.0	4/1.9	8/80.0	–	1/10.0	1/10.0
“Смирновский бор”, f. <i>phaeosperma</i> “Smirnovskiy Bor”, f. <i>phaeosperma</i>	8/289	4/50.0	6/2.1	4/50.0	1/12.5	2/25.0	1/12.5
“Шира”, f. <i>erythranthera</i> “Shira”, f. <i>erythranthera</i>	12/333	8/66.7	17/5.1	4/33.3	1/8.3	7/58.4	–
“Шира”, f. <i>sulfuranthera</i> “Shira”, f. <i>sulfuranthera</i>	12/341	7/58.3	23/6.7	5/41.7	–	4/33.3	3/25.0
“Карыш”, f. <i>erythranthera</i> “Karysh”, f. <i>erythranthera</i>	12/306	12/100	31/10.1	–	–	10/83.3	2/16.7
“Карыш”, f. <i>sulfuranthera</i> “Karysh”, f. <i>sulfuranthera</i>	12/325	11/91.7	37/11.4	1/8.3	–	9/75.0	2/16.7

мы растений чаще встречаются в неблагоприятных эдафических условиях, высокогорьях, пустынях, арктической зоне и прибрежной Антарктике (Butorina, 1989; Kunakh, 2011; Navrotska et al., 2014).

Показано, что миксоплоиды преобладают в группе устойчивых форм вяза приземистого (*Ulmus pumila* L.), отобранных в массово усыхающих в условиях острого дефицита влаги насаждениях в Астраханской области и Калмыкии. Значительная доля миксоплоидов выявлена среди высокосмолопродуктивных форм деревьев сосны обыкновенной, отличающихся устойчивостью к вредителям и болезням (Butorina, 1989). Явления миксоплоидии и анеуплоидии наблюдаются в популяциях большинства видов хвойных, в том числе *P. sylvestris*, в условиях экологического экстре-

му. При этом прослеживается связь степени экстремальности условий произрастания с уровнем изменчивости хромосомных чисел в семенном потомстве деревьев (Sedel'nikova, 2016).

В корневых меристемах проростков семян в большинстве исследованных происхождений *P. sylvestris* обнаружены структурные перестройки хромосом (табл. 2). Количество проростков и число метафазных клеток с хромосомными мутациями минимально в популяции “Смирновский бор”, максимально – в популяции “Карыш”, где высокая встречаемость и широкий спектр хромосомных мутаций в семенном потомстве деревьев, вероятно, может объясняться эффектом инбридинга вследствие высокого уровня самоопыления, свойственного изолированным популяциям. Самоопыление выявлено практически у всех де-

Таблица 2. Встречаемость и спектр хромосомных перестроек у *Pinus sylvestris*
Table 2. Occurrence and spectrum of chromosomal rearrangements in *Pinus sylvestris*

Происхождение Provenances	Число корневых меристем с хромосомными перестройками шт./% Number of root meristems with chromosomal rearrangements pcs./%	Число и спектр хромосомных перестроек в метафазных клетках, шт./% Number and spectrum of chromosomal rearrangements in metaphase cells, pcs./%				
		Всего Total	В том числе/Including			
			I	II	III	IV
“Калач-на-Дону” “Kalach-na-Donu”	2/16.7	2/0.8	1/0.4	—	1/0.4	—
“Сузовикино” “Surovikino”	2/13.3	2/0.8	1/0.4	1/0.4	—	—
“Пятиморск” “Pyatimorsk”	2/13.3	2/0.8	—	—	2/0.8	—
“Рюмино-Красноярский” “Ryumino-Krasnoyarskiy”	—	—	—	—	—	—
“Балгазынский бор” “Balgazynskiy Bor”	—	—	—	—	—	—
“Смирновский бор”, f. <i>melanosperma</i> “Smirnovskiy Bor”, f. <i>melanosperma</i>	1/10.0	1/0.5	1/0.5	—	—	—
“Смирновский бор”, f. <i>phaeosperma</i> “Smirnovskiy Bor”, f. <i>phaeosperma</i>	1/12.5	1/0.3	1/0.3	—	—	—
“Шира”, f. <i>erythranthera</i> “Shira”, f. <i>erythranthera</i>	2/16.7	2/0.6	2/0.6	—	—	—
“Шира”, f. <i>sulfuranthera</i> “Shira”, f. <i>sulfuranthera</i>	4/33.3	6/1.8	3/0.9	2/0.6	—	1/0.3
“Карыш”, f. <i>erythranthera</i> “Karysh”, f. <i>erythranthera</i>	9/75.0	27/8.8	18/5.9	1/0.3	4/1.3	4/1.3
“Карыш”, f. <i>sulfuranthera</i> “Karysh”, f. <i>sulfuranthera</i>	9/75.0	33/10.1	20/6.1	1/0.3	3/0.9	9/2.8

Примечание. Число изученных корневых меристем/клеток, шт. представлено в табл. 1. I — кольцевые структуры; II — полицентрические хромосомы; III — фрагменты; IV — множественные нарушения.

Note. The number of studied root meristems/cells, pcs. is presented in Table 1. I — ring structures; II — polycentric chromosomes; III — fragments; IV — multiple disturbances.

ревьев в изолированных борах Южной Сибири (Sosna..., 1988). В метонахождениях “Балгазынский бор” и “Рюмино-Красноярский” хромосомных перестроек в проростках не зафиксировано, что в последнем случае может быть связано с малым количеством семян, вовлеченных в исследование вследствие их крайне низкого качества. Установлено также, что частота возникновения хромосомных перестроек в семенном потомстве внутривидовых форм деревьев неодинакова (табл. 2). Если встречаемость мутаций в проростках f. *erythranthera* по сравнению с f. *sulfuranthera* (“Карыш”) характеризуется близкими значениями, то в местонахождении “Шира” — различными. В обоих случаях частота встречаемости хромосомных перестроек в корневых меристемах f. *erythranthera* и f. *sulfuranthera* также существенно

различается. Встречаемость мутаций в проростках f. *phaeosperma* и f. *melanosperma* в популяции “Смирновский бор” имеет сходные значения.

Необходимо отметить, что встречаемость хромосомных перестроек в проростках семян *P. sylvestris*, расположенных в непосредственной близости от автотрассы, не повышается по сравнению с другими изученными местонахождениями. Вероятно, выхлопные газы автотранспорта не оказывают влияния на уровень мутабельности клеток семенного потомства *P. sylvestris*, поскольку рассеиваются в атмосфере вследствие постоянных сильных ветров, “продувающих” сосновые насаждения в данных районах. Исследование уровня цитогенетических нарушений у древесных растений, в том числе *P. sylvestris*, произрастающих в условиях антропогенного загрязнения,

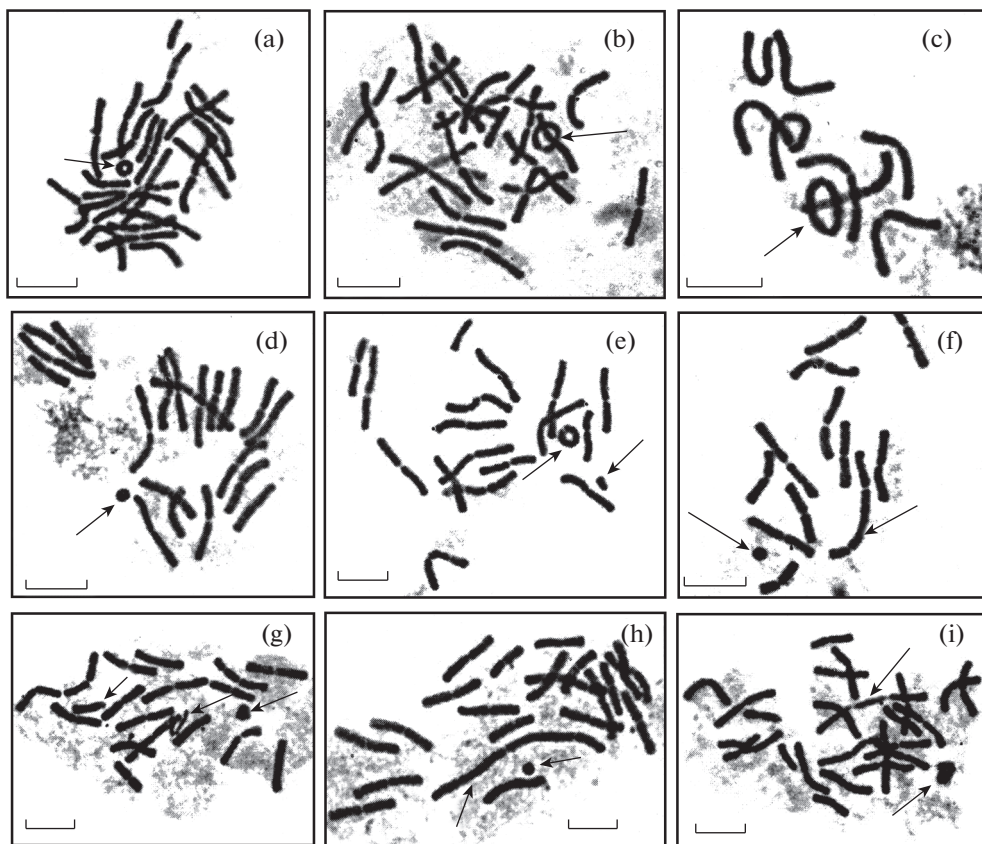


Рис. 2. Метафазные пластинки или части метафазных пластинок с хромосомными перестройками в происхождениях *P. sylvestris*: а) кольцевая хромосома (“Шира”, *f. sulfuranthera*), б-с) кольцевые хромосомы, “надетые” на палочковидные хромосомы (“Шира”, *f. erythranthera* – б), “Калач-на-Дону” – с)), д) ацентрическое кольцо (“Карыш”, *f. erythranthera*), е) кольцевая хромосома и хроматиновый фрагмент (“Карыш”, *f. sulfuranthera*), ф) дицентрическая хромосома с перичентрической инверсией и ацентрическое кольцо (“Карыш”, *f. erythranthera*), г) множественные мутации одной хромосомы: хромосома с укороченным плечом, разошедшиеся хроматиды и хроматиновый фрагмент (“Пятиморск”), h) терминальная ассоциация “конец в конец” двух хромосом с перичентрической инверсией и ацентрическое кольцо (“Карыш”, *f. erythranthera*), и) дицентрическая хромосома и хроматиновый фрагмент (“Шира”, *f. sulfuranthera*). Масштабная линейка – 10 μm . Хромосомные перестройки указаны стрелками.

Fig. 2. Metaphase plates or parts of metaphase plates with chromosomal rearrangements in the provenances of *P. sylvestris*: a) ring chromosome (“Shira”, *f. sulfuranthera*), b–c) ring chromosomes “clipped” on the rod ones (“Shira”, *f. erythranthera* – b, “Kalach-na-Donu” – c), d) acentric ring (“Karysh”, *f. erythranthera*), e) ring chromosome and chromatid fragment (“Karysh”, *f. sulfuranthera*), f) dicentric chromosome with pericentric inversion and acentric ring (“Karysh”, *f. erythranthera*), g) multiple mutations of one chromosome: the chromosome with a shortened arm, diverging chromatids and chromatid fragment (“Pyatimorsk”), h) terminal association “end-to-end” of two chromosomes with pericentric inversion and acentric ring (“Karysh”, *f. erythranthera*), i) dicentric chromosome and chromatid fragment (“Shira”, *f. sulfuranthera*). Scale bar – 10 μm . Chromosomal rearrangements are indicated by arrows.

включающего фоновые выбросы автотранспорта, показало, что его существенное увеличение происходит лишь при высоких концентрациях поллютантов (Butorina, Kalaeв, 2000; Butorina et al., 2000; Goryachkina, Sizykh, 2012).

Во всех проростках семян, содержащих клетки с хромосомными перестройками, наиболее часто выявляются кольцевые хромосомы, ацентрические кольца, а также кольцевые хромосомы, “надетые” на палочковидные хромосомы (рис. 2). В проростках из местонахождений “Сурикино”, “Шира” и “Карыш” обнаружены полицентрические хромосомы, имеющие несколько центромер – дицентрические и трицентрические. Некоторые

полицентрические хромосомы имеют сдвиг центромеры, диагностирующий перичентрическую инверсию. В проростках популяции “Карыш” найдена терминальная ассоциация “конец в конец” двух хромосом с перичентрической инверсией. Хроматиновые фрагменты обнаружены в проростках из насаждений “Калач-на-Дону”, “Пятиморск” и “Карыш”. В популяциях “Шира” и, особенно, “Карыш” в корневых меристемах проростков выявлены множественные хромосомные нарушения, включающие одновременно несколько типов хромосомных перестроек, которые наблюдаются в одной клетке.

Кольцевые хромосомы, имеющие центромеру, образуются в результате делеций теломерных участков и последующего соединения плеч хромосомы в кольцо. При этом формируются дистальные ацентрические фрагменты. Полицентрические хромосомы появляются в результате транслокаций, представляющих собой обмен участками между гомологичными и негомологичными хромосомами. Перипоцентрическая инверсия является поворотом участка хромосомы на 180° с захватом центромеры, с точками разрыва в разных плечах. Ассоциация “конец в конец” образуется при концевом соединении хромосом вследствие стремления к конъюгации терминальных гетерохроматиновых участков (Koryakov, Zhimulyov, 2009; Kartel' et al., 2011).

Ранее у сосны обыкновенной из засушливых местопроизрастаний Нижнего Поволжья и Южной Сибири выявлялись аналогичные хромосомные нарушения, а также другие патологии митоза. При этом доля клеток с хромосомными перестройками в проростках семян, собранных в насаждениях в Волгоградской области, составляла 6.9%, Хакасии и Тывы — 2.0–7.7%, увеличиваясь до 10.3% у карликовых и полукарликовых деревьев и в годы с длительной засухой (Sedel'nikova, 2003; Sosna..., 1988; Mashkina et al., 2012). Сравнивая полученные нами результаты с опубликованными данными, можно заключить, что в исследованных насаждениях *P. sylvestris* уровень мутабельности клеток и разнообразие типов хромосомных перестроек в семенном потомстве деревьев достаточно высоки. Установлено, что экстремальные факторы среды, провоцирующие геномную нестабильность, приводят к усилению мутационных процессов в популяциях хвойных растений (Sedel'nikova, 2016). Возможно, что высокий уровень и широкий спектр хромосомных перестроек в семенном потомстве деревьев в степных насаждениях *P. sylvestris* связаны с фактором влияния засушливых условий произрастания.

ВЫВОДЫ

1. В естественных популяциях и искусственных насаждениях сосны обыкновенной, произрастающих на юге ареала в степной зоне Нижнего Поволжья (Волгоградская область) и Южной Сибири (Республика Тыва, Республика Хакасия), выявлен хромосомный полиморфизм, выражающийся в наличии изменчивости числа хромосом — миксоплоидии, а также хромосомных перестроек в семенном потомстве деревьев.

2. Миксоплоидия ($2n = 24, 36; 2n = 24, 48; 2n = 24, 36, 48$) обнаружена в семенном потомстве деревьев из всех исследованных степных популяций *P. sylvestris*. Установлено, что уровень распространения миксоплоидии возрастает по мере усиления засушливости и ухудшения эдафических

условий произрастания деревьев. Максимальный уровень встречаемости миксоплоидии отмечается в проростках семян из изолированных местонахождений *P. sylvestris* — каменистой степи Хакасии и участка пустыни в сухой степи Волгоградской области. Встречаемость миксоплоидных проростков семян варьирует у семенного потомства внутривидовых форм деревьев.

3. Хромосомные перестройки обнаружены в семенном потомстве деревьев из Волгоградской области и Хакасии. Встречаемость хромосомных перестроек различается в проростках семян внутривидовых форм деревьев. Существенное увеличение уровня встречаемости хромосомных мутаций и расширение их спектра наблюдаются в проростках семян в изолированном местообитании *P. sylvestris* в каменистой степи Хакасии.

4. Выявленная цитологическая нестабильность семенного потомства деревьев в насаждениях *P. sylvestris*, произрастающих в засушливых условиях, вероятно, свидетельствует об активизации микроэволюционных процессов, что очевидно, сопровождается естественным отбором устойчивых генотипов и форм, адаптированных к засушливым лесорастительным условиям.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят А.Н. Ратушного, к.б.н. С.С. Кулакова, д.б.н. Т.Т. Ефремову за помощь в сборе семенного материала, д.б.н. Е.Н. Муратову за консультации при обсуждении статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [Bogun, Tsembelev] Богун А.П., Цембелев М.А. 2012. Пути лесохозяйственного освоения аридных ландшафтов Калмыкии. — Вестник ИКИАТ. 24 (1): 25–31.
- [Butorina] Буторина А.К. 1989. Факторы эволюции карриотипов древесных. — Успехи современной биологии. 108 (3): 342–357.
- [Butorina, Kalaev] Буторина А.К., Калаев В.Н. 2000. Анализ чувствительности различных критериев цитогенетического мониторинга. — Экология. 3: 206–210.
- [Butorina et al.] Буторина А.К., Калаев В.Н., Вострикова Т.В., Мягкова О.Е. 2000. Цитогенетические характеристики семенного потомства некоторых видов древесных растений в условиях антропогенного загрязнения г. Воронежа. — Цитология. 42 (2): 196–201.
- [Butorina et al.] Буторина А.К., Черкашина О.Н., Ермолаева О.В., Чернодубов А.И., Авдеева И.А. 2007. Цитогенетический мониторинг аутохтонных лесов Усманского и Хреновского боров. — Изв. РАН. Сер. биол. 4: 508–512.
- [Goryachkina, Sizykh] Горячкина О.В., Сизых О.А. 2012. Цитогенетические реакции хвойных растений в антропогенно нарушенных районах г. Красноярск и его окрестностей. — Хвойные бореальной зоны. 30 (1–2): 46–51.

- [Kartel' et al.] Картель Н.А., Макеева Е.Н., Мезенко А.М. 2011. Генетика: Энциклопедический словарь. Минск. 992 с.
- [Kogovin et al.] Коровин В.В., Новицкая Л.Л., Курносов Г.А. 2003. Структурные аномалии стебля древесных растений. М. 280 с.
- [Kogyakov, Zhimulyov] Коряков Д.Е., Жимулев И.Ф. 2009. Хромосомы. Структура и функции. Новосибирск. 258 с.
- [Kunakh] Кунах В.А. 2011. Пластичность генома соматических клеток и адаптивность растений. — Молекулярная и прикладная генетика. 12: 7–14.
- [Latkina, Latkin] Латкина Т.В., Латкин В.Н. 2018. Состояние лесозащитных полос в Волгоградской области. — Успехи современного естествознания. 9: 93–100.
- [Manaenkov, Kulik] Манаенков А.С., Кулик А.К. 2017. Водно-минеральные особенности субстрата и засухоустойчивость деревьев сосны. — Лесохозяйственная информация. 2: 46–56. <https://doi.org/10.24419/LHI.2304-3083.2017.2.05>
- [Mashkina et al.] Машкина О.С., Тихонова И.В., Муратова Е.Н., Мурая Л.С. 2012. Цитогенетические особенности семенного потомства карликовых сосен на юге Восточной Сибири. — Хвойные бореальной зоны. 30 (1–2): 127–135.
- [Milyutin et al.] Милютин Л.И., Новикова Т.Н., Тараканов В.В., Тихонова И.В. 2013. Сосна степных и лесостепных боров Сибири. Новосибирск. 127 с.
- Navrotska D.O., Twardovska M.O., Andreev I.O., Parnikova I.Yu., Betekhtin A.A., Zahrychuk O.M., Drobyk N.M., Hasterok R., Kunakh V.A. 2014. New forms of chromosome polymorphism in *Deschampsia antarctica* Desv. from the Argentine Islands of the Maritime Antarctic region. — *Ukrainian Antarctic J.* 13: 185–191.
- [Petrov] Петров С.А. 1961. Плодоношение и качество семян сосны обыкновенной в нагорных борах Северного Казахстана. — *Вестник с.-х. наук.* 9: 70–81.
- [Pravdin] Правдин Л.Ф. 1964. Сосна обыкновенная. М. 190 с.
- [Rastitel'nyi...] Растительный покров Хакасии. 1976. Новосибирск. 423 с.
- [Sedel'nikova] Седельникова Т.С. 2003. Хромосомные и геномные мутации у сосны обыкновенной в Нижнем Поволжье. — *Лесоведение.* 6: 28–33.
- Sedel'nikova T.S. 2016. Variability of genome size in conifers under extreme environmental conditions. — *Biol. Bull. Rev.* 6 (2): 177–188. <https://doi.org/10.1134/S2079086416020079>
- [Semenyutina, Noyanova] Семенютина А.В., Ноянова Н.Г. 2019. Региональная специфика озеленения малых городов южной сухостепной зоны. — *Известия высших учебных заведений. Лесной журнал.* 6: 146–159. <https://doi.org/10.17238/issn0536-1036.2019.6.146>
- [Shul'ga] Шульга В.В. 1979. О карликовой форме сосны и “ведьминой метле”. — *Лесоведение.* 3: 82–86.
- [Sosna...] Сосна обыкновенная в Южной Сибири. 1988. Красноярск. 150 с.
- [Tikhonova, Semerikov] Тихонова И.В., Семериков В.Л. 2010. Генетический полиморфизм карликовых сосен на юге Средней Сибири. — *Экология.* 5: 330–335.

VARIABILITY OF CHROMOSOME NUMBER AND CHROMOSOMAL REARRANGEMENTS IN *PINUS SYLVESTRIS* (PINACEAE) IN ARID CONDITIONS OF THE LOWER VOLGA AND SOUTHERN SIBERIA

T. S. Sedel'nikova^{a,#} and A. V. Pimenov^{a,##}

^a V. N. Sukachev Institute of Forest SB RAS, Federal Research Center “Krasnoyarsk Science Center SB RAS” Akademgorodok, 50/28, Krasnoyarsk, 660036, Russia

[#]e-mail: tss@ksc.krasn.ru

^{##}e-mail: pimenov@ksc.krasn.ru

The main criteria of chromosomal polymorphism, namely the variability of the chromosome number, the level and spectrum of chromosomal rearrangements, were studied in natural populations and artificial plantations of Scots pine (*Pinus sylvestris*) growing in the south of its range in the steppe provenances of the Lower Volga and Southern Siberia (Volograd Region, Republic of Tyva, Republic of Khakassia). The analysis of chromosomes was performed in the cells of the root meristems of seedlings at the stage of metaphase of mitosis. In the seed progeny of *P. sylvestris* trees from all the studied provenances, a disturbance of the chromosome number, mixoploidy, was detected, the level of its distribution increasing with increase of aridity and deterioration of edaphic growth conditions. In the seed progeny of *P. sylvestris* in the Volograd Region and Khakassia, chromosome rearrangements represented by ring chromosomes, polycentric chromosomes, fragments, and multiple disturbances were found. A significant increase in the occurrence of chromosomal rearrangements and the expansion of their set is noted in the seedlings from an isolated provenance of *P. sylvestris* in rocky steppe of Khakassia. The frequency of mixoploidy and chromosomal rearrangements occurrence in the intraspecific forms of *P. sylvestris* trees is not the same, which is associated with differences in the conditions of their growth. The revealed cytological instability of seed progeny of trees in the plantations of *P. sylvestris* growing in steppe ecotopes may indicate the activation of microevolutionary processes, apparently accompanied by natural selection of resistant genotypes and forms adapted to arid conditions.

Keywords: *Pinus sylvestris*, intraspecific forms, steppe ecotopes, arid conditions, Lower Volga region, Southern Siberia, mixoploidy, chromosomal rearrangements, cytological instability

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to A.N. Ratushny, Ph.D. S.S. Ratushny, D.Sc. T.T. Efremova for their help in collection of seed material, and D.Sc. E.N. Muratova for advice when discussing the article.

REFERENCES

- Bogun A.P., Tsembelev M.A. 2012. Puti lesoagrarnogo osvoeniya aridnykh landshaftov Kalmykii [Ways of forest agrarian development of arid landscapes in Kalmykia]. – Vestnik IKIAT. 24 (1): 25–31 (In Russ.).
- Butorina A.K. 1989. Faktory evolyutsii kariotipov drevesnykh [Factors in the evolution of tree karyotypes]. – Uspekhi sovremennoy biologii. 108 (3): 342–357 (In Russ.).
- Butorina A.K., Kalaev V.N. 2000. Analysis of sensitivity of different criteria in cytogenetic monitoring. – Russian J. Ecol. 31 (3): 186–189.
- Butorina A.K., Kalaev V.N., Vostrikova T.V., Myagkova O.Ye. 2000. Tsitogeneticheskiye kharakteristiki semennogo potomstva nekotorykh vidov drevesnykh rasteniy v usloviyakh antropogennoy zagryazneniya g. Voronezha [Cytogenetic characteristics of seed progeny of some species of woody plants under conditions of anthropogenic pollution of Voronezh]. – Tsitologiya. 42 (2): 196–201 (In Russ.).
- Butorina A.K., Cherkashina O.N., Yermolayeva O.V., Chernodubov A.I., Avdeyeva I.A. 2007. Tsitogeneticheskiy monitoring avtokhtonnykh lesov Usmanskogo i Khrenovskogo borov [Cytogenetic monitoring of autochthonous forests of Usmansky and Khrenovsky pine forests]. – Izv. RAN. Ser. biol. 4: 508–512 (In Russ.).
- Goryachkina O.V., Sizykh O.A. 2012. Tsitogeneticheskiye reaktsii khvoynnykh rasteniy v antropogenno narushennykh rayonakh g. Krasnoyarska i yego okrestnostey [Cytogenetic reactions of conifers in anthropogenically disturbed areas of Krasnoyarsk and its environs]. – Khvoynnye boreal'noy zony. 30 (1–2): 46–51 (In Russ.). Kartel' N.A., Makeyeva Ye.N., Mezenko A.M. 2011. Genetika: Entsiklopedicheskii slovar' [Genetics: An encyclopedic dictionary]. Minsk. 992 p. (In Russ.).
- Korovin V.V., Novitskaya L.L., Kurnosov G.A. 2003. Strukturnyye anomalii steblya drevesnykh rasteniy [Structural anomalies of the stem of woody plants]. Moscow. 280 p. (In Russ.).
- Koryakov D.Ye., Zhimulev I.F. 2009. Khromosomy. Struktura i funktsii [Chromosomes. Structure and function]. Novosibirsk. 258 p. (In Russ.).
- Kunakh V.A. 2011. Genome plasticity of somatic cells and plant adaptability. – Molekulyarnaya i prikladnaya genetika. 12: 7–14 (In Russ.).
- Latkina T.V., Latkin V.N. 2018. Condition of forest-preserving belts in Volgograd region. – Uspekhi sovremennoy yestestvoznaniya. 9: 93–100 (In Russ.).
- Manayenkov A.S., Kulik A.K. 2017. Water and mineral features of the substrate and drought resistance of pine plantations. – Lesokhozyaystvennaya informatsiya. 2: 46–56 (In Russ.). <https://doi.org/10.24419/LHI.2304-3083.2017.2.05>
- Mashkina O.S., Tikhonova I.V., Muratova Ye.N., Muraya L.S. 2012. Tsitogeneticheskiye osobennosti semennogo potomstva karlikovykh sosen na yuge Vostochnoy Sibiri [Cytogenetic features of seed progeny of dwarf pines in the south of Eastern Siberia]. – Khvoynnye boreal'noi zony. 30 (1–2): 127–135 (In Russ.).
- Milyutin L.I., Novikova T.N., Tarakanov V.V., Tikhonova I.V. 2013. Sosna stepnykh i lesostepnykh borov Sibiri [Pine of the steppe and forest-steppe forests of Siberia]. Novosibirsk. 127 p. (In Russ.).
- Navrotska D.O., Twardovska M.O., Andreev I.O., Parnikova I.Yu., Betekhtin A.A., Zahrychuk O.M., Drobyk N.M., Hasterok R., Kunakh V.A. 2014. New forms of chromosome polymorphism in *Deschampsia antarctica* Desv. from the Argentine Islands of the Maritime Antarctic region – Ukrainian Antarctic J. 13: 185–191.
- Petrov S.A. 1961. Plodonosheniye i kachestvo semyan sosny obyknovennoy v nagornyykh borakh Severnogo Kazakhstana [Fruiting and seed quality of Scots pine in the upland forests of Northern Kazakhstan]. – Vestnik s.-kh. nauk. 9: 70–81 (In Russ.).
- Pravdin L.F. 1964. Sosna obyknovennaya [Scots pine]. Moscow. 190 p. (In Russ.).
- Rastitel'nyy pokrov Khakasii [Vegetation cover of Khakassia]. 1976. Novosibirsk. 423 p. (In Russ.).
- Sedel'nikova T.S. 2003. Chromosomal and genome mutations in Scots pine in the Lower Volga river basin. – Lesovedeniye. 6: 28–33 (In Russ.).
- Sedel'nikova T.S. 2016. Variability of genome size in conifers under extreme environmental conditions. – Biol. Bull. Rev. 6 (2): 177–188. <https://doi.org/10.1134/S2079086416020079>
- Semenyutina A.V., Noyanova N.G. 2019. Regional specificity of urban greening at the residential areas of the southern dry steppe zone. – IVUZ. Lesnoi zhurnal. 6: 146–159 (In Russ.). <https://doi.org/10.17238/issn0536-1036.2019.6.146>
- Shul'ga V.V. 1979. O karlikovoy forme sosny i "ved'minoi metle" [About the dwarf form of a pine and the "witch's broom"]. – Lesovedeniye. 3: 82–86 (In Russ.).
- Sosna obyknovennaya v Yuzhnoi Sibiri [Scots pine in Southern Siberia]. 1988. Krasnoyarsk. 150 p. (In Russ.).
- Tikhonova I.V., Semerikov V.L. 2010. Geneticheskiy polimorfizm karlikovykh sosen na yuge Srednei Sibiri [Genetic polymorphism of dwarf pines in the south of Central Siberia]. – Ekologiya. 5: 330–335 (In Russ.).