

УДК: 576.315.45

Г. Т. Криницький – доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри лісівництва Національного лісотехнічного університету України, м. Львів;

В. П. Войтюк – кандидат сільськогосподарських наук, доцент кафедри ботаніки і садово-паркового господарства Волинського національного університету імені Лесі Українки;

В. В. Андреева – асистент кафедри ботаніки і садово-паркового господарства Волинського національного університету імені Лесі Українки

Нові підходи в розробці методу ранньої діагностики росту потомств плюсових дерев сосни звичайної

Роботу виконано на кафедрі лісівництва НЛУУ та кафедрі ботаніки і садово-паркового господарства ВНУ ім. Лесі Українки

Досліджено лісівничо-таксаційні показники клонів і півсібсових родин сосни звичайної Волинської області та встановлено успадкування господарсько цінних ознак вегетативним і насінним потомством. Охарактеризовано цитогенетичну мінливість ядерцевої активності меристеми проростків плюсових дерев сосни звичайної. Запропоновано нові підходи в розробці методу ранньої діагностики росту потомств плюсових дерев сосни звичайної.

Ключові слова: клони, випробні культури, показник швидкості росту, ядерце, ядерцева активність, цитогенетична оцінка.

Криницький Г. Т., Войтюк В. П., Андреева В. В. Новые подходы в разработке метода ранней диагностики роста потомств плюсовых деревьев сосны обыкновенной. Исследованы лесоводственно-таксационные показатели клонов и полусибсовых потомств сосны обыкновенной Волынской области и установлено наследование хозяйственно ценных признаков вегетативным и семенным потомством. Охарактеризована цитогенетическая изменчивость ядрышковой активности меристемы проростков плюсовых деревьев сосны обыкновенной. Предложены новые подходы в разработке метода ранней диагностики роста потомств плюсовых деревьев сосны обыкновенной.

Ключевые слова: клоны, испытательные культуры, показатель скорости роста, ядрышко, ядрышковая активность, цитогенетическая оценка.

Krynytskiy G., Voytyuk V., Andreyeva V. New Approaches in Groundwork of Early Diagnostic Method of Growth of Posterities of Plus Trees of Scotch Pine. Forestry-taxation indexes of clones and half sibs posterities of Scotch Pine in Volyn region is research and the inheritance of economic value characteristics of vegetative and seed posterities is established. The cytogenetic variation of nucleolus activity of root meristem of sprouts of plus trees of Scotch Pine is characterized. New methodic possibilities of early diagnostic of growth posterities of plus trees of Scotch Pine is indicated.

Key words: clones, progeny test, index of speed of growth, nucleolus, nucleolus activity, cytogenetic estimation.

Постановка наукової проблеми та її значення. Важливим фактором прискорення селекційного процесу є можливість ранньої діагностики росту гібридів деревних рослин [17]. Сьогодні вже з'ясовано ряд ознак, за якими можна встановити кореляцію позитивних властивостей між материнськими деревами і їх потомством.

Аналіз останніх досліджень із цієї проблеми. Рання діагностика спадкових властивостей, які ґрунтуються на закономірностях розщеплення потомства сосни за кількістю сім'ядолей, рості різносім'ядолних особин і їх стійкості до несприятливих факторів середовища, дає змогу вже в перший урожайний рік оцінити спадкові властивості плюсових дерев сосни, не закладаючи випробні культури, і створити такі лісонасінні плантації, потомство яких буде на 15 % продуктивніше за потомство природних насаджень [23]. С. Д. Смирнов [30] виявив певні структурні відмінності між камбіальними клітинами з інтенсивною і обмеженою проліферацією, що стосується будови елементів ендоплазматичного ретикулума і пластид, ступеня розвитку апарату Гольджі й завантаженості клітин різними включеннями у дерев швидкого й повільного росту. О. О. Юркевич [35] виявив кореляційні зв'язки деяких анатомо-морфологічних і цитологічних особливостей будови

бруньок клонів та їх потомств з інтенсивністю росту у висоту. Згідно з іншими даними, ознаками для прогнозу інтенсивного росту і стійкості деревних рослин є вузька крона [19].

В останні десятиліття поряд із класичними методами аналізу деревних порід актуальним є вивчення фізіолого-біохімічних ознак [15; 16; 18; 33]. На рівні анатомо-гістохімічних, імуноелектрофоретичних і біофізичних досліджень уточнюється зв'язок морфологічних ознак генеративних органів сосни (будова апофізу, колір насіння, крилаток, шишок) з прямими селекційними господарсько цінними ознаками (діаметр, висота) [12].

З'ясовано, що швидкість росту тісно корелює з кількістю і розміром верхівкової бруньки, забарвленням насінини, кількістю сім'ядолей у сходів, наявністю не менше 10 трихвойних пучків на центральному прирості останнього року, складом ізоферментів і активністю ферментів (цит. за [34]). Можливе також використання біоелектричних реакцій проростків сосни на спеціальні біоелектричні тести для ранньої діагностики й відбору високопродуктивних форм. Г. Т. Криницький [13; 14] розробив шкалу фізіолого-біохімічних маркерів для виявлення високопродуктивних дерев.

У комплексі методів генетичних досліджень важливе місце належить цитогенетичному. Це обумовлено ключовою роллю хромосом у реалізації спадковості й мінливості. Найбільше значення цитогенетичного методу в селекції лісових деревних порід убачається в можливості використання його для прискореної генетичної оцінки вихідного матеріалу. Попередня цитологічна характеристика відібраних дерев у ряді випадків дає змогу, минаючи польові дослідження потомства, отримати їх пряму генетичну оцінку.

Аналіз морфологічних характеристик ядерць (кількості та розмірів) дає кількісну оцінку активності генів рибосомної РНК [3, 31]. Критерій оцінки роботи кластерів р-ДНК за якісними характеристиками їх продуктів має ряд переваг. Головне, що і кількість, і розміри ядерць, а отже й активність рибосомних генів можуть бути оцінені конкретними числами [4].

У сосни звичайної в клітинах наявні від одного до 12 ядерць; відмічено, що їхня кількість збільшується в екстремальних умовах зростання [7; 21; 22]. У типових екологічно сприятливих умовах середовища кількість постійно активних ядерць сосни звичайної становить три–шість [32]. У сосни звичайної найбільша кількість ядерць (12) перевищує кількість пар хромосом із регулярними вторинними перетяжками (5), оскільки пара перетяжок, які належать до нерегулярних, може також бути носієм ядерцевих організаторів. Найбільш ефективним для сосни з енергетичної точки зору є одночасне функціонування не більше трьох пар хромосом із ядерцевими організаторами [8]. Відповідно до зростання географічної широти спостерігається зменшення їх кількості й об'ємів як результат адаптивної мінливості [7; 20; 26; 27; 28].

Виявлено достовірну відмінність ядерцевої активності у представників чотирьох популяцій сосни крейдяної, а також широку норму реакції ознаки ядерцевої активності для сосни звичайної [10].

Отже, використання різних методів ранньої діагностики (морфологічних, морфофізіологічних, анатомічних, цитогенетичних) для проведення попередньої оцінки плюсових дерев призводить до неоднозначних результатів. У зв'язку з цим виникає необхідність подальших досліджень у цьому напрямі.

Формулювання мети та завдань статті. Мета – встановити можливість використання цитогенетичних показників для ранньої діагностики росту потомств плюсових дерев сосни звичайної. Для досягнення мети поставлено такі завдання: 1) дати лісівничо-селекційну оцінку насінному і вегетативному потомству плюсових дерев сосни звичайної, 2) дослідити ядерцеву активність проростків.

Матеріали й методи. У наших дослідженнях були використані вегетативні й насінні потомства плюсових дерев сосни звичайної на архівно-маточних плантаціях і випробних культурах Волинської області, а також проростки клонів сосни звичайної Володимир-Волинської (ВВ-3), Львівської (Л-1, Л-4, Л-5) та Цуманської ценопопуляцій (Ц-4 і Ц-8) урожаю 2008 року.

Усі досліджувані клони є лідерами серед вегетативних потомств, крім Ц-8. За попередніми коротко- та середньостроковими оцінками випробних культур швидкорослістю відзначились усі потомства, крім Ц-8, яке на ранніх етапах онтогенезу характеризується середньою швидкістю росту.

Висоту дерев у потомствах віком до 10 років вимірювали лінійкою з точністю до 0,01 м, а старшого віку – висотоміром ВКН-1 з точністю до 0,1 м. Діаметр дерев визначали на висоті 1,3 м з точністю до 0,01 м. Якісна оцінка клонів здійснювалася за наявністю/відсутністю дерев із двійчатками, а культур – за наявністю/відсутністю дерев із двійчатками, вилок у кроні та кривизни стовбура.

Для характеристики швидкості росту визначали показник швидкості росту (ПШР) за Н. І. Давидовою [11], який оцінює потомства одночасно за висотою та діаметром і визначається як частка добутку висоти та діаметра досліджуваного потомства до добутку висоти й діаметра контролю та виражається в процентах.

Аналіз на виявлення частки швидкорослих дерев у потомствах було проведено за рекомендаціями С. Н. Багаєва [5] і за допомогою критерію “норма” Ю. Є. Булигіна [6].

Головним завданням генетичного аналізу є обґрунтування ефективності відбору, який визначається двома величинами: коефіцієнтом успадкування та диференціалом [24]. Коефіцієнт успадкування у широкому розумінні (H^2) визначали за методикою В. М. Роне [25].

Насіння клонів сосни звичайної пророщували на вологому фільтрувальному папері в чашках Петрі при температурі $+25\text{ }^\circ\text{C}$, оптимальній для більшості деревних рослин. Потім після досягнення корінцями сосни довжини 1–1,5 см фіксували їх розчином Карнуа (три частини 96 % етилового спирту й одна частина льодяної оцтової кислоти) протягом 12–24 год [1, 29].

Час фіксації встановлено дослідним шляхом. Фіксацію проводили об 11^{30} год. Після цього матеріал зберігали при температурі $+4\text{ }^\circ\text{C}$ в холодильнику [2].

Для вивчення цитогенетичних характеристик об'єктів готувалися давлені тимчасові мікропрепарати апікальної меристеми кореневих проростків насіння для їх фотографування і наступного аналізу.

Перший етап приготування препаратів – їх зафарбовування. Перед зафарбовуванням проводили гідроліз тканини корінців в 1н НСІ при $+60\text{ }^\circ\text{C}$ і трикратно прополіскували дистильованою водою.

Фарбування проростків здійснювалось азотнокислим сріблом за методикою Плотона та ін. [36]. Розчин має бути свіжоприготовлений. Необхідно розчинити желатин у концентрації 2 г/дл у 1 г/дл водної мурашиної кислоти. Цей розчин додати до 50 г/дл водного розчину AgNO_3 (у співвідношенні 1 : 2, v/v). Оскільки ядрець є найщільнішою структурою клітини з найвищою концентрацією РНК, а також містить білки кількох типів – кислі фосфопротеїни й основні білки негістонового типу, воно зафарбовується досить інтенсивно.

Час фарбування підбирався емпірично. Встановлено, що при кімнатній температурі найкраще фарбування ядрець сосни відбувається за 50 хв. Після зафарбування проростки трикратно промивали у дистильованій воді й готували давлені препарати.

Для приготування тимчасових мікропрепаратів лезом відрізували кінчик корінця завдовжки не менше 1–1,5 мм і поміщали його на предметне скельце в краплю дистильованої води. Корінець злегка роздавлювали препарувальною голкою і накривали покривним скельцем. Препарат підігрівали над електричною плиткою для найбільшого розм'якшення тканин і легким надавлюванням на покривне скло отримували рівномірне розташування клітин на скельці. Перегляд виготовлених мікропрепаратів проводили на мікроскопі “ЕС Люмам-РПО11” при збільшенні 40 x 10 [1].

Всього переглянуто понад 400 препаратів (корінців), із яких проаналізовано 136 по 100 клітин у кожному в 10 полях зору. Ядрецьову активність проростків визначали за допомогою процентного співвідношення клітин із певною кількістю ядрець в ядрі (від одного до 12). Додатково визначали середню кількість та об'єм ядрець у клітині та відношення сумарної площі ядрець в ядрі до площі клітини.

Виклад основного матеріалу й обґрунтування отриманих результатів дослідження. Порівняльний аналіз ростових показників 116 клонів виявив, що за висотою достовірно кращими є 21,2 % всіх потомств із перевищенням відповідного середнього значення по плантаціях у середньому на 8,4 %, за діаметром – 18,6 % потомств із перевищенням на 12,4 % і за об'ємом стовбурів – 18,8 % потомств із перевищенням на 29,4 %. За показником швидкості росту кращими є 25 % усіх потомств. Коефіцієнт успадкування (H^2) вегетативного потомства, за В. М. Роне [25], становить по висоті 0,50–0,69, за діаметром 0,50–0,65. Швидкорослі клони забезпечують генетичний зсув по висоті в середньому 19,1 %, за діаметром стовбурів 23,1 %.

Дослідженнями випробних культур встановлено, що у жердняковому віці (27 років) 44,4 % півсібсів визначається підвищеною енергією росту у висоту, 5,6 % – зниженою і 50 % ростуть на рівні контролю.

Вивчення динаміки ростових процесів півсібсів в онтогенезі показало, що вже з дворічного віку культур вирізняються потомства швидкого, середнього й повільного росту. З віком відбуваються

поступові переходи потомств за інтенсивністю росту у висоту в сусідні ранги. Кількість півсібсів, які зберігають стабільно високі темпи росту з ранніх етапів онтогенезу (з двох–п’яти років), з віком зменшується. У 18-річному віці частка таких швидкорослих півсібсів становить 33,3 %, а в 27 років – 22,2 %.

Біометричні показники вегетативних і насінних потомств, проростки яких використані у цитогенетичних дослідженнях, наведено в таблиці 1.

При вивченні меристематичної тканини проростків клону ВВ-3 було виявлено, що середня кількість ядерць у клітині становить 5,9. Слід відзначити, що кількість ядерць у клітині характеризується високим рівнем мінливості ($V = 30,9 \%$). Значна частина клітин має в ядрі п’ять–шість добре виражених ядерць. Такі клітини становлять 44,7 % популяції меристем (табл. 2). Крім того, у 32,2 % меристематичних клітин в ядрі присутні понад шість ядерць.

Крім цих типів клітин, у 62,5 % досліджуваних проростків також траплялися клітини з одним–двома ядерцями (2,7 % популяції клітин). Клітини з трьома–чотирма ядерцями складають 20,3 % всіх клітин.

За розмірами ядерця всі вивчені генотипи значно відрізняються між собою. Середній об’єм ядерць клітини меристеми клону ВВ-3 становить 30,1 $\mu\text{м}^3$ (при лімітах 5,7–97,3 $\mu\text{м}^3$). Проростки в межах клону ВВ-3, як і в усіх інших досліджуваних клонів, достовірно відрізняються за об’ємами ядерць. Установлено істотну різницю за середнім об’ємом ядерця в ядрі між клонами ВВ-3 і Л-1, Л-4, Ц-4 і Ц-8.

Таблиця 1

Ростові показники вегетативних і насінних потомств сосни звичайної

Ознака / Варіант	ВВ-3	Л-1	Л-4	Л-5	Ц-4	Ц-8
33-річне вегетативне потомство						
Висота, м	18,4	17,0	18,8	19,1	19,7	16,5
Діаметр, см	30,1	32,6	29,0	31,7	33,0	25,2
Об’єм стовбура, м^3	0,768	0,771	0,575	0,734	0,789	0,409
Перевищення за висотою, %	-0,1	-7,7	2,1	3,9	6,9	-10,4
Перевищення за діаметром, %	7,0	16,1	3,3	12,9	17,6	-10,4
П Ш Р, %	107,0	107,2	105,5	117,2	125,7	80,3
Коефіцієнт успадкування (H^2) висоти	0,8	0,9	0,8	0,6	0,3	0,4
Коефіцієнт успадкування (H^2) діаметра	0,8	0,8	0,8	0,6	0,3	0,6
Швидкорослі дерева, %	20,0	50,0	40,0	16,7	10,0	30,0
27-річне насінне потомство						
Висота, м	15,9	–	15,4	16,5	15,4	13,1
Діаметр, см	19,0	–	17,8	18,9	19,9	16,4
Об’єм стовбура, м^3	0,231	–	0,199	0,239	0,249	0,146
Перевищення за висотою, %	8,2	–	4,8	12,2	4,8	-10,9
Перевищення за діаметром, %	5,6	–	-1,1	5,0	10,6	-8,9
П Ш Р, %	114,0	–	104,0	118,0	116,0	81,0
Швидкорослі дерева, %	30,2	–	40,0	17,9	34,4	20,0

Таблиця 2

Мінливість кількості та розміру ядерць у клітинах кореневої меристеми клонів сосни звичайної урожаю 2008 р.

Клони	Частка клітин (%) із кількістю ядерць						Середня кількість ядерць у клітині, шт.	Середній об’єм ядерця, $\mu\text{м}^3$
	1–2	3–4	5–6	7–8	9–10	11–12		
ВВ-3	2,7	20,3	44,7	22,9	6,7	2,6	$5,9 \pm 0,2$	$30,1 \pm 4,0$
Л-1	4,8	29,1	47,1	16,4	3,5	1,0	$5,4 \pm 0,2$	$13,3 \pm 1,1$
Л-4	5,8	19,9	36,5	24,2	9,8	3,9	$6,0 \pm 0,2$	$40,3 \pm 3,3$
Л-5	3,5	16,6	44,1	26,5	7,2	2,0	$6,0 \pm 0,2$	$10,9 \pm 0,9$
Ц-4	2,3	23,7	42,3	23,1	6,8	1,8	$5,8 \pm 0,2$	$12,2 \pm 0,9$

Ц-8	1,1	15,9	40,7	29,7	8,1	4,4	6,4 ± 0,2	16,3 ± 1,0
-----	-----	------	------	------	-----	-----	-----------	------------

Для встановлення активної площі взаємодії ядерець із цитоплазмою клітини, в цитологічний аналіз було введено показник відношення сумарної площі ядерець в ядрі до площі клітини [9]. Дослідженнями встановлено, що для проростків клону ВВ-3 середнє значення цього показника становить 0,06 (рис. 1). У 75 % досліджуваних проростків трапляються клітини з відносним показником більше 0,11 (1–41,9 % популяції меристем).

За показником відношення сумарної площі ядерець у ядрі до площі клітини клони ВВ-3 і Л-4, Л-5, Ц-4 і Ц-8 достовірно різняться.

При вивченні меристематичної тканини проростків клону Л-4 встановлено, що середня кількість ядерець на клітину становить шість. Також виявлено достовірну різницю за цим показником між проростками в межах клону. Клітини з п'ятьма–шістьма ядерець в ядрі складають 36,5 % популяції меристем. У 74 % клітин у ядрі є 7–12 ядерець. У 63,6 % проростків є клітини з одним–двома ядерець (5,8 % усіх клітин).

Середній об'єм ядерець проростків клону Л-4 становить 40,3 мкм³ (ліміти 9,9–91,6 мкм³). Проростки клону Л-4 за середнім об'ємом ядерець в ядрі істотно відрізняються від корінців Л-1, Л-5, Ц-4 і Ц-8.

Для проростків клону Л-4 середній показник відношення сумарної площі ядерець до площі клітини становить 0,08. У 56 % популяції клітин цей показник більше 0,06. Відмічено достовірну різницю за показником відношення сумарної площі ядерець у ядрі до площі клітини між клонами Л-4 і ВВ-3, Л-4 і Л-5.

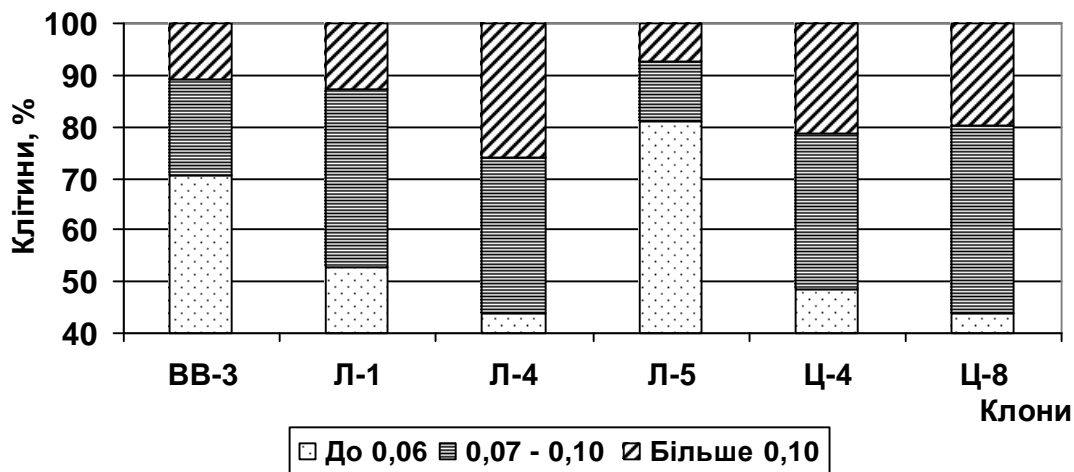


Рис. 1. Мінливість показника відношення сумарної площі ядерець у ядрі до площі клітини кореневої меристеми клонів сосни звичайної

Під час вивчення меристеми клону Л-1 проростків з'ясовано, що кількість постійно активних ядерець дорівнює 5,4. У межах клону корінці за цією ознакою достовірно відрізняються. Клітини з кількістю ядерець у ядрі 11–12 наявні у 55 % проростків. Їх середня частка становить 1 % популяції меристем. Клітини, ядра яких мають один–два ядерець, становлять 4,8 % популяції меристем, і вони властиві 60 % досліджуваних корінців.

За середньою кількістю ядерець у ядрі встановлено істотну різницю між проростками клонів Л-1, з одного боку, та Л-4, Л-5 і Ц-8, – з іншого боку.

Морфометричне вивчення розмірів ядерець проростків клону Л-1 показало, що його середній об'єм становить 13,3 мкм³ (при лімітах 2,1–28,6 мкм³).

Середній показник відношення площі ядерець до площі клітини дорівнює 0,07. Частка клітин, які мають найвищі значення цього показника, становить 12,8 %.

Дослідженням проліферуючої меристематичної тканини проростків клону Л-5 установлено, що значна частка клітин (44 % популяції меристем) має шість ядерець. За цим показником проростки в

межах клону істотно різняться. У 50 % досліджуваних корінців виявлено клітини з 11–12 ядерцями в ядрі (2 % популяції клітин), а у 80 % проростків є клітини, що мають один–два ядерця (3,5 % популяції клітин). За кількістю ядерць у ядрі виявлено достовірні відмінності між клонами Л-1 та Л-5.

Проведений морфометричний аналіз ядерць показав, що середній об'єм ядерця проростків клону Л-5 дорівнює $10,9 \text{ мкм}^3$ (при лімітах $4,5\text{--}36,8 \text{ мкм}^3$). Виявлено істотну різницю за об'ємом ядерць між клонами Л-5 і ВВ-3, Л-5 і Ц-8.

Середнє значення показника відношення сумарної площі ядерць до площі клітини для проростків клону Л-5 становить 0,05. У 50 % досліджуваних корінців клітини мають високе значення цього показника. Виявлено істотну різницю за показником відношення сумарної площі ядерць до площі клітини між клоном Л-5 та Л-1, Л-4, Ц-4 і Ц-8.

Під час вивчення кореневої меристеми проростків клону Ц-4 виявлено, що кількість активних ядерць у клітині становить 5,8. У 72,2 % досліджених корінців є клітини, які мають 11–12 ядерць у ядрі (1,8 % популяції меристем) та стільки ж проростків мають клітини з одним–двома ядерцями (2,3 % популяції клітин).

Середній об'єм ядерця для проростків клону Ц-4 становить $12,2 \text{ мкм}^3$ (при лімітах $4,4\text{--}31,4 \text{ мкм}^3$). За розмірами ядерць клон Ц-4 достовірно відрізняється від Ц-8 та Л-4.

Середнє значення показника відношення сумарної площі ядерць до площі клітини для проростків клону Ц-4 дорівнює 0,08. У 88,9 % корінців є клітини з високим значенням цього показника.

Дослідження меристеми проростків клону Ц-8 показало, що середня кількість ядерць у ядрі становить 6,4. Клітини з такою кількістю ядерць становлять 40,7 % популяції меристем. Крім цього типу клітин, у 25 % досліджуваних проростків також траплялися клітини з 11–12 ядерцями (4,5 % популяції клітин). У 50 % проростків є клітини з одним–двома ядерцями (1,1 % популяції клітин).

Середній об'єм ядерця проростків клону Ц-8 становить $16,3 \text{ мкм}^3$ (при лімітах $3,5\text{--}31,9 \text{ мкм}^3$). Середнє значення показника відношення площі ядерць до площі клітини дорівнює 0,07. У 16,7 % проростків немає клітин із високим значенням цього показника.

Як видно з рис. 2, максимальні розміри ядерця характерні для меристеми проростків клону Л-4 ($40,3 \text{ мкм}^3$). Трохи менші розміри ядерця (30 мкм^3) властиві проросткам клону ВВ-3. Для клітин проростків клонів Л-1, Л-5, Ц-4 і Ц-8 характерні середні розміри ядерця в межах $11\text{--}16 \text{ мкм}^3$.

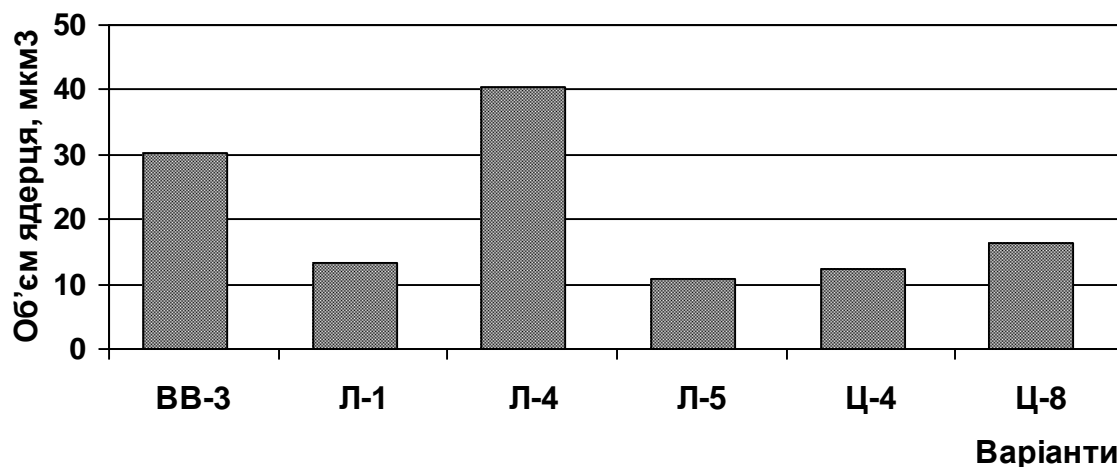


Рис. 2. Середній об'єм ядерця проростків клонів сосни

На основі одержаних даних визначено тісний позитивний зв'язок між відсотком клітин із великою кількістю ядерць (9–10) в ядрі й: 1) висотою 33-річного вегетативного потомства ($r_s = 0,89$, $p = 0,02$, $r_G = 0,73$, $p = 0,04$, $r_K = 0,73$, $p = 0,03$); 2) відсотком перевищення за висотою 33-річного вегетативного потомства ($r_s = 0,89$, $p = 0,02$, $r_G = 0,73$, $p = 0,04$, $r_K = 0,73$, $p = 0,03$); 3) об'ємом стовбурів 27-річного насінного потомства ($r_s = 0,90$, $p = 0,04$, $r_K = 0,80$, $p = 0,04$); 4) відсотком

перевищення за висотою 27-річного насінного потомства ($r = 0,96$, $p = 0,01$); 5) показником швидкості росту (ПШР) 27-річного насінного потомства ($r = 0,96$, $p = 0,01$), а також між відсотком клітин із трьома–чотирма ядрцями в ядрі й відсотком швидкорослих дерев 27-річного насінного потомства ($r = 0,96$, $p = 0,01$).

Серед усіх досліджуваних варіантів найменша кількість проростків (50 %), клітини яких мають один–два ядрця в ядрі, характерна для клону Ц-8 (рис. 3).

Особливістю клону Ц-8 є також наявність найбільшої кількості проростків (75 %), клітини яких мають максимальну (11–12 шт.) кількість ядрець у ядрі (рис. 4).

Характерною рисою клону Л-4 є те, що всі проростки мають клітини, у яких ядрця займають понад 10 % площі клітини (показник відношення сумарної площі ядрець у ядрі до площі клітини становить 0,10 і більше) (рис. 5).

Встановлено тісний кореляційний зв'язок між відсотком проростків, які мають один–два ядрця в ядрі, і: 1) відсотком перевищення за висотою вегетативного потомства ($r = 0,85$, $p = 0,03$, $r_s = 0,94$, $p = 0,01$); 2) показником швидкості росту клонів ($r = 0,87$, $p = 0,02$); 2) показником швидкості росту півсібсів ($r = 0,88$, $p = 0,05$, $r_s = 0,90$, $p = 0,04$, $r_k = 0,80$, $p = 0,05$), між відсотком проростків, які мають 11–12 ядрець у ядрі, і: 1) показником швидкості росту плюсових дерев ($r = 0,87$, $p = 0,02$); 2) відсотком перевищення за діаметром плюсових дерев ($r_s = 0,84$, $p = 0,04$, $r_G = 0,85$, $p = 0,03$, $r_k = 0,79$, $p = 0,03$), а також між відсотком проростків, які характеризуються максимальним значенням показника відношення сумарної площі ядрець у ядрі до площі клітини (більше 0,10), і відсотком швидкорослих дерев у півсібсів ($r_s = 0,90$, $p = 0,04$, $r_k = 0,80$, $p = 0,05$).

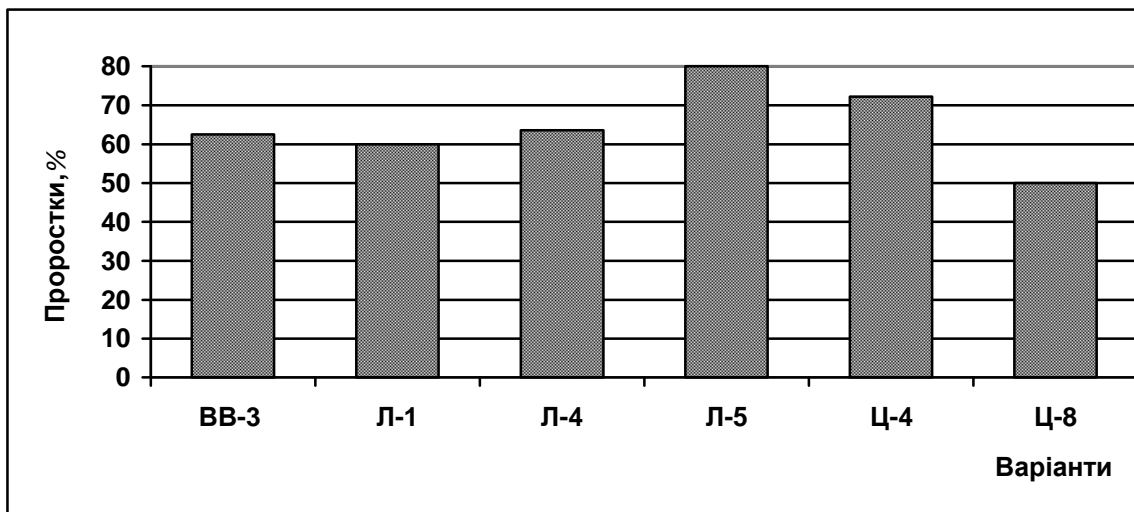


Рис. 3. Проростки клонів, клітини яких мають один–два ядрця в ядрі

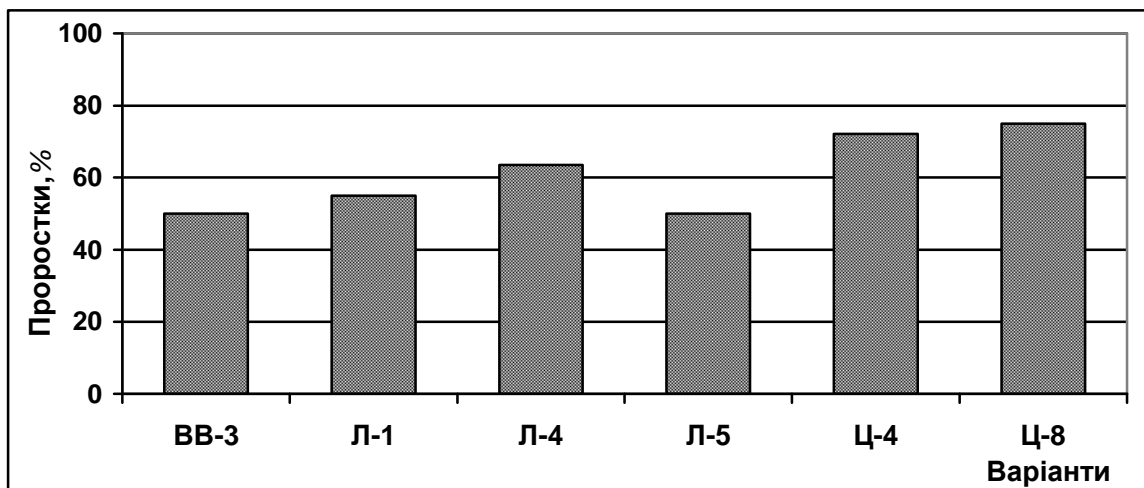


Рис. 4. Проростки клонів, клітини яких мають 11–12 ядерцець у ядрі

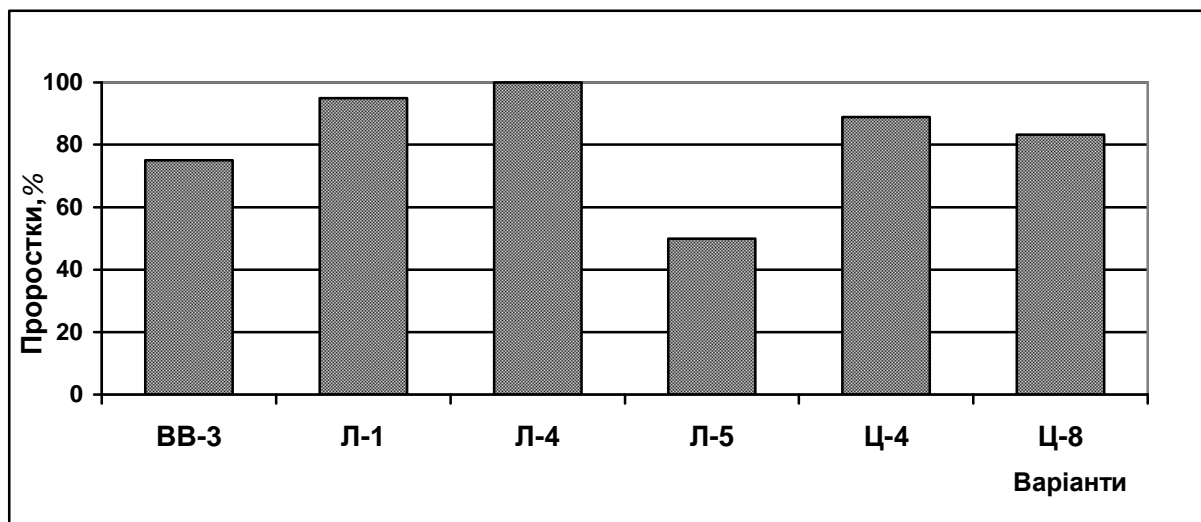


Рис. 5. Проростки клонів, клітини яких характеризуються максимальним значенням показника відношення сумарної площі ядерцець у ядрі до площі клітини (більше 0,10)

Для встановлення ядерцевої активності клонів усі досліджувані цитогенетичні ознаки (середній об'єм та кількість ядерцець у клітині, частка клітин, що мають більше п'яти ядерцець, середній показник відношення сумарної площі ядерцець до площі клітини та частка клітин із середнім і високим відносним показником) були використані в ранжируванні.

Згідно з комплексною оцінкою, виконаною методом координат, найвище рангове положення займає клон Л-4, проростки якого характеризуються найвищою ядерцевою активністю. Найнижча ядерцева активність притаманна проросткам клону Л-5 (табл. 3).

Таблиця 3

Ранги проростків клонів сосни звичайної за комплексною оцінкою

Клони	Номер ознаки					Сумарний ранг	Місце за сумарним рангом
	1*	2	3	4	5		
Л-4	1,00	0,88	0,80	1,00	1,00	4,68	1
Ц-4	0,16	1,00	1,00	1,00	0,77	3,93	2
Ц-8	0,09	0,82	0,80	0,84	1,00	3,55	3
ВВ-3	0,56	0,85	0,86	0,28	0,56	3,11	4
Л-1	0,11	0,71	0,67	0,71	0,77	2,97	5
Л-5	0,07	0,88	0,93	0,11	0,35	2,34	6

*1 – ранг за середнім об'ємом ядра; 2 – ранг за середньою кількістю ядерць у клітині; 3 – ранг за часткою клітин, що мають більше п'яти ядерць; 4 – ранг за часткою клітин із середнім і високим відносним показником; 5 – ранг за середнім показником відношення сумарної площі ядерць до площі клітини

Таким чином, результати вивчення кількості та розмірів ядра в меристемі проростків клонів сосни звичайної показали, що досліджені генотипи сосни звичайної відрізняються між собою за цими показниками.

Крім того, кластерний аналіз підтвердив, що клон Л-4 є специфічним за досліджуваними цитогенетичними ознаками (рис. 6).

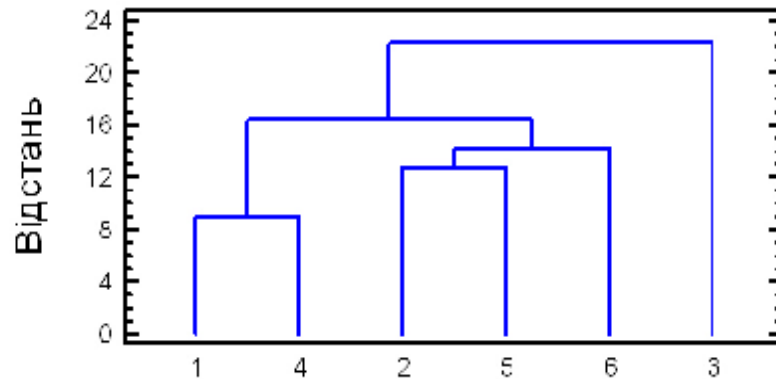


Рис. 6. Дендрограма проростків клонів урожаю 2008 р.: 1 – ВВ-3, 2 – Л-1, 3 – Л-4, 4 – Л-5, 5 – Ц-4, 6 – Ц-8

Висновки та перспективи подальших досліджень. Кількість активних ядерць у клонів сосни звичайної становить переважно п'ять–шість, при мінімальному значенні один і максимальному – 12.

Клони сосни характеризуються специфічністю за цитогенетичними ознаками: розподілом популяції клітин за кількістю ядерць, розподілом популяції клітин за показником відношення сумарної площі ядерць до площі клітини та середнім об'ємом ядра. Найвищою ядерцевою активністю за комплексною оцінкою цитогенетичних ознак характеризуються швидкорослі клони.

Визначено тісні кореляційні зв'язки (в середньому $r = 0,897$) показників ядерцевої активності проростків із ростовими показниками плюсових дерев і їхніх потомств, що дає змогу використовувати їх для розробки нового методу ранньої діагностики росту. Вбачаємо сенс вивчити питання взаємозв'язків ядерцевої активності проростків із їх діелектричними показниками.

Література

1. Абрамова З. В. Практикум по генетике / Абрамова З. В. – Л. : Агропромиздат, 1992. – 225 с.
2. Александров В. Я. Руководство по цитологии / В. Я. Александров [и др.]. – М. ; Л. : Наука, 1965. – Т. 1. – 572 с.
3. Архипчук В. В. Взаимосвязь между количеством и размерами ядрышек в клетках карповых рыб / В. В. Архипчук // Цитология и генетика. – 1991. – Т. 25, № 4. – С. 8–13.
4. Архипчук В. В. Особенности функции ядрышкообразования у клеточных линий *Nicotiana chinensis*, *Atropa belladonna* и их соматических гибридов / В. В. Архипчук // Генетика. – 1989. – Т. 22, № 6. – С. 1002–1009.
5. Багаев С. Н. Способ предварительной оценки плюсовых деревьев по потомству / С. Н. Багаев // Лесное хозяйство. – 1983. – № 2. – С. 34–35.
6. Булыгин Ю. Е. Улучшенная математическая модель комплексной оценки экотипов древесных пород / Ю. Е. Булыгин // Лесное хозяйство. – 1985. – № 11. – С. 41–43.
7. Буторина А. К. Адаптивные реакции на клеточном уровне на антропогенный стресс у древесных растений / А. К. Буторина [и др.] // Современные проблемы генетики и селекции плодовых и ягодных культур и пути их решения : сб. докл. и сообщ. 19 Мичуринских чтений. – Мичуринск : ВНИИ генетики и селекции плодовых растений им. И. В. Мичурина, 1999. – С. 12–14.
8. Буторина А. К. Цитогенетическая изменчивость в популяциях сосны обыкновенной / А. К. Буторина [и др.] // Экология. – 2001. – Т. 32, № 3. – С. 198–202.

9. Войтюк В. П. Ядерцева активність у меристемі проростків плюсових дерев сосни звичайної / В. П. Войтюк, В. В. Андреева // Вісн. Укр. т-ва генетиків і селекціонерів. – 2009. – Т. 2. – № 2. – С. 177–183.
10. Гришаева И. Г. Цитогенетика сосны меловой (в связи с вопросами экологии и таксономии): дис. ... канд. биол. наук : 03.00.16 / Гришаева Ирина Геннадьевна. – Воронеж, 2004. – 124 с.
11. Давыдова Н. И. К вопросу селекции дуба на Украине / Н. И. Давыдова // Лесное хозяйство. – 1978. – № 2. – С. 67–68.
12. Ковалев П. В. Деятельность ВНПО “Союзлесселекция” по переводу лесного семеноводства на селекционную основу / П. В. Ковалев // Селекция, генетика и семеноводство древесных пород как основа создания высокопродуктивных лесов : тез. докл. – М., 1980. – Ч. 1. – С. 35–42.
13. Криницкий Г. Т. Морфофизиологические исследования сосны обыкновенной в связи с селекцией на интенсивность роста / Г. Т. Криницкий, Г. М. Козубов, М. П. Горошко // Лесная генетика, селекция и физиология древесных растений : материалы междунар. симп., г. Воронеж, 25–30 окт. 1989 г. – М., 1989. – С. 158–160.
14. Криницкий Г. Т. Морфофизиологическое направление в лесной селекции, его задачи и перспективы развития / Г. Т. Криницкий // Анатомия, физиология и экология лесных растений : материалы XXVI сессии Комиссии им. Л. А. Иванова. – Петрозаводск, 1992. – С. 77–78.
15. Криницький Г. Т. Морфологічні основи селекції деревних рослин : автореф. дис. ... д-ра біол. наук : 06.03.01, 03.00.12 / Г. Т. Криницький ; Укр. держ. аграр. ун-т. – К., 1993. – 46 с.
16. Мамаев С. А. Оценка генетической дифференциации популяций сосны обыкновенной по изоферментному составу пероксидазы / С. А. Мамаев, Л. А. Семкина // Вопросы генетики и селекции на Урале и Зауралье. – Свердловск : Ин-т экологии животных и растений УНЦ АН СССР, 1979. – С. 126–127.
17. Методы ранней диагностики при оценке наследственных свойств плюсовых деревьев. – М : [б. и.], 1971. – 47 с.
18. Милютин Л. И. О некоторых физиологических признаках лиственниц сибирской и даурской / Л. И. Милютин // Изменчивость древесных растений Сибири. – Красноярск : Ин-т леса и древесины СО АН СРСР, 1974. – С. 35–45.
19. Мосин В. И. Полиморфизм, отбор и испытание сосны в Казахстане / В. И. Мосин, В. В. Шульга, А. И. Бруслова // Всесоюз. совещ. по лесн. генетике, селекции и семеноводству. – Петрозаводск : Карел. фил. АН СРСР, 1983. – С. 27–29.
20. Муратова Е. Н. Кариологические особенности пихты сибирской *Abies sibirica* Ledeb. в различных условиях произрастания / Е. Н. Муратова, М. В. Матвеева // Экология. – 1996. – № 2. – С. 96–103.
21. Муратова Е. Н. Особенности структуры хромосом сосен по числу и локализации вторичных перетяжек / Е. Н. Муратова // Тез. VII Всесоюз. симп. по структуре и функциям клеточного ядра (28–30 мая 1980 г.). – Харьков, 1980. – С. 114.
22. Муратова Е. Н. Полиморфизм природных популяций хвойных по кариологическим признакам / Е. Н. Муратова // Развитие генетики и селекции в лесохозяйственном производстве. – М., 1988. – С. 37–39.
23. Попов В. Я. Селекционные основы семеноводства сосны на европейском севере / В. Я. Попов // Селекция, генетика и семеноводство древесных пород как основа создания высокопродуктивных лесов : тез. докл. – М., 1980. – Ч. 1. – С. 54–59.
24. Райт Д. Введение в лесную генетику : пер. с англ. / Райт Д. – М. : Лесн. пром-сть, 1978. – 470 с.
25. Роне В. М. Генетический анализ лесных популяций / Роне В. М. – М. : Наука, 1980. – 160 с.
26. Седельникова Т. С. Генеративные органы и кариотип сосны обыкновенной на олиготрофных болотах Западной Сибири / Т. С. Седельникова, Е. Н. Муратова // Лесоведение. – 1991. – Вып. 3. – С. 34–44.
27. Седельникова Т. С. Кариологические особенности видов хвойных на болотах и суходолах Западной Сибири / Т. С. Седельникова, Е. Н. Муратова, С. П. Ефремов // Krilovia. – 2000. – Т. 2, № 1. – С. 73–80.
28. Седельникова Т. С. Хромосомные перестройки у кедра сибирского (*Pinus sibirica* du Tour) в экстремальных условиях произрастания / Т. С. Седельникова, Е. Н. Муратова, Н. Ф. Бартницкая // Цитология и генетика. – 1999. – Т. 33, № 1. – С. 10–14.
29. Смирнов В. Г. Цитогенетика / В. Г. Смирнов. – М. : Высш. шк., 1991. – 247 с.
30. Смирнов С. Д. Состояние и перспективы развития лесной селекции и семеноводства на северо-западе РСФСР / С. Д. Смирнов // Селекция, генетика и семеноводство древесных пород как основа создания высокопродуктивных лесов : тез. докл. – М., 1980. – Ч. 1. – С. 60–64.
31. Челидзе П. В. Ультраструктура и функции ядрышка интерфазной клетки / П. В. Челидзе. – Тбилиси : Мецинереба, 1985. – 119 с.
32. Черкашина О. Н. Цитогенетический мониторинг насаждений сосны обыкновенной в условиях Хреновского и Усманского боров : автореф. дис. ... канд. биол. наук : спец. 03.00.16 / О. Н. Черкашина. – Воронеж, 2007. – 22 с.
33. Чудный А. В. Состав терпентинных масел и таксономия лиственницы в СРСР / А. В. Чудный // Лесоведение. – 1982. – № 3. – С. 32–40.

34. Шейкина О. В. Селекционно-генетическая оценка плюсового генофонда сосны обыкновенной Чувашской Республики : дис. ... канд. с.-х. наук : 06.03.01 / Шейкина Ольга Викторовна. – М., 2006. – 203 с.
35. Юркевич О. О. Селекційні основи підвищення продуктивності соснових насаджень Рівненщини : автореф. дис. ... канд. с.-г. наук : 06.03.01. / О. О. Юркевич. – Х., 2003. – 18 с.
36. Ploton D. Improvement in the staining and in the visualization of the argyrophilic proteins of the nucleolar organizer region at the optical level / D. Ploton [et al] // Histochemical Journal. – 1986. – V. 18. – P. 5–14.

Адреса для листування:

43025, м. Луцьк, просп. Волі, 13,
Волинський національний університет імені Лесі Українки,
біологічний факультет

Статтю подано до редколегії
26.06.2010 р.