

ОСОБЛИВОСТІ ЯДЕРНО-ЯДЕРЦЕВИХ ПОКАЗНИКІВ НАСІННЕВОГО ПОТОМСТВА У РІЗНИХ ЗА РІВНЕМ ГЕТЕРОЗИГОТНОСТІ МАТЕРИНСЬКИХ ДЕРЕВ СОСНИ СТАНКЕВИЧА (*PINUS BRUTIA* VAR. *STANKEWICZII* SUKACZ.)

І.І. КОРШИКОВ^{1,2}, Ю.О. БІЛОНОЖКО^{3,*}, Я.Г. МІЛЬЧЕВСЬКА¹

¹ Донецький ботанічний сад НАН України, Україна, 50089, Кривий Ріг, вул. Маршака, 50

² Криворізький ботанічний сад НАН України, Україна, 50089, Кривий Ріг, вул. Маршака, 50

³ ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України», Україна, 04123, Київ, вул. Осиповського, 2а

E-mail: tkacheva_ua@ukr.net

Проаналізовано ядерно-ядерцеві характеристики насіння *Pinus brutia* var. *stankewiczii* Sukacz. в умовах крайової частини ареалу та рекреаційного навантаження. Виявлено міжпопуляційний поліморфізм кількості ядерцеві та їх розмірів в клітинах проростків насіння *P. brutia* var. *stankewiczii* з південно-східного узбережжя Криму. Для популяції що зазнає рекреаційного навантаження відмічено зростання середньої площі ядерцеві в ядрі та зменшення ядерно-ядерцевого співвідношення, що вказує на підвищення функціональної активності генетичного апарату клітин у відповідь на дію несприятливих умов. Показано зміну ядерно-ядерцевих показників в залежності від рівню гетерозиготності материнських дерев. Для низькогетерозиготних рослин виявлено збільшення розмірів ядерцеві. Виявлені тенденції вказують на комплексний характер змін в клітинах насінневого потомства *P. brutia* var. *stankewiczii*.

Ключові слова: ядро, ядерце, рівень гетерозиготності, *Pinus brutia* var. *stankewiczii* Sukacz.

Вступ. Дослідження варіацій ядерцеутворюючих регіонів у численних групах рослин, комах та хребетних тварин показали мінливість в кількості та хромосомному розташуванні навіть у споріднених видів, припускаючи, що кластери рДНК є високомобільними компонентами геному (Britton-Davidian et al, 2012; Montiel et al, 2012). Показана як природна варіабельність цих характеристик в клітинах одного органу (Zharskaia and Zatsepina, 2007), так і видові відмінності (Korshikov et al, 2014).

У насінневого потомства деревних рослин, що підпадають під вплив екстремальних факторів середовища, природного чи техногенного походження, можуть змінюватись цитогенетичні показники. Встановлено, що у нащадків

рослин, що зазнають стресового впливу, підвищується нестабільність геному, через метилування ДНК і РНК. Такі зміни носять епігенетичний характер та відносяться до елементів адаптації генотипу, однак, клітинні механізми цих процесів ще мало вивчені (De Store and Mason, 2014; Kumar and Singhall, 2016; Velichko et al, 2021). У пророслого насіння таких рослин змінюються кількісно-розмірні показники ядерцеві та їх функціональна активність (Mayer and Grummt, 2005; Derenzini et al, 2006; Olson and Dundr, 2015; Cantwell and Nurse, 2019). З точки зору оцінки адаптивного і еколого-генетичного потенціалу популяцій рослин перспективним є аналіз функціонування ядерцевого організатора. Зокрема, для цього використовують розмірні показники ядерцеві та ядерно-ядерцеве співвідношення (Khrolenko et al, 2012; Chelomina et al, 2020).

В невеличких маргінальних популяціях може відбуватись часткова втрата гетерозиготності у нащадків рослин через інбридинг, як, наприклад, у сосни Станкевича (*Pinus brutia* var. *Stankewiczii* Sukacz.) у Гірському Криму (Korshikov et al, 2015). Зниження гетерозиготності – однієї з фундаментальних характеристик генотипу – може мати негативні наслідки для популяцій у нестабільному середовищі існування через сповільнення росту й розвитку (Altukhov and Moskaleichik, 2006). Хоча, однозначних кореляційних зв'язків між показниками росту і гетерозиготності рослин у видів родини Pinaceae L. наразі не виявлено (Tikhonova, 2015). Сукупність негативного впливу песимальних умов навколишнього середовища на рослини та підвищення інбридності їх насінневого потомства внаслідок самозапилення, можливо, призводить і до зміни цито-

генетичних характеристик нащадків. Використання ядерцевих характеристик пропонується для біотестування середовища їх існування (Severine et al, 2010; Hein et al, 2012). Це має сенс для популяцій, що знаходяться на природній межі розповсюдження виду.

Мета — визначити кількісно-розмірні характеристики ядерця в клітинах проростків насіння сосни Станкевича та можливий зв'язок з гетерозиготністю материнських дерев в популяціях Гірського Криму.

Матеріали та методи. Матеріалом дослідження було насіння з 41 дерева трьох природних субпопуляцій *P. brutia* var. *stankewiczii*, розташованих на гірських схилах між м. Судак та смт Новий Світ (Крим). Субпопуляція 1 (НС-1) — ізольована та малочисельна, розташована на схилі біля моря, через що зазнає значне рекреаційне навантаження. Субпопуляція 2 (НС-2) — розташована на східному склоні гори Сокіл, а субпопуляція 3 (НС-3) — на західному.

Насіння з кожного деревостану змішували, а потім випадкову вибірку пророщували в чашках Петрі на вологому фільтрувальному папері в термостаті за температури 23–25 °С. У дослідженні використовували корінці завдовжки 1,0–1,5 см, які фіксували оцтовим алкоголем (1 : 3). Для забарвлення ядерця використовували 50%-вий розчин азотнокислого срібла. Корінці інкубували 3 години за температури 60 °С. Після забарвлення матеріал промивали та готували препарати. Мікропрепарати переглядали під мікроскопом Carl Zeiss Primo star при збільшенні 40 × 10, фотографували цифровою фотокамерою Canon Power Shot A620. Розміри ядер та ядерця визначали за допомогою програмного забезпечення Axio Vision Rel. 4.7. (Zeiss). Вимірювали умовну площу ядра та ядерця за їхніми проекціями в 50 клітинах з кожної вибірки. Кількість ядерця підраховували на 1000 клітин. Функціональний стан ядерцеутворюючого регіону оцінювали за величиною ядерно-ядерцевого співвідношення в клітинах меристеми корінців проростків. Показник ядерно-ядерцевого співвідношення встановлювали як частку від ділення значень сумарної площі ядер на сумарну площу ядерця.

Для визначення генотипів використовували ізоферменти восьми ферментних систем (DIA,

MDH, GDH, GOT, ACP, LAP, SOD, FDH). Основні етапи процесів виділення ферментів з ендоспермів насіння, електрофорезу у поліакриламідному гелі, фарбування та визначення гетерозиготності наведено в попередніх роботах (Korshikov and Gorlova, 2006; Korshikov et al, 2015).

Результати і обговорення. У клітинах корінців проростків з насіння *P. brutia* var. *stankewiczii* відмічається варіабельність числа ядерця та їх розмірів. У ядрі однієї клітини кількість ядерця варіює від одного до дванадцяти. Переважна більшість проаналізованих клітин в ядрі містила 5–7 ядерця. Доля таких клітин у проростків з насіння трьох субпопуляцій *P. brutia* var. *stankewiczii* становила 57–65,9 %. Значно менша кількість клітин мали 1–4 ядерця у ядрі — 0,2–10 % і 9–12 ядерця — 0,5–10,3 %. В цілому наявність ядерця в ядрі є морфологічним вираженням активності нуклеолярних локусів хромосом. Їх кількість дозволяє оцінити інтенсивність функціонування рибосомальних генів, розташованих в цих локусах (Lafontaine et al, 2021). Оскільки кількість ядерця є генетично детермінованою збільшення цього показника може відбутися за рахунок розділення ядерцеутворюючого регіону. Зміни спостерігаються і при наявності в ньому делецій та дуплікацій. Збільшення кількості ядерця в ядрі прийнято вважати адаптивною реакцією на дію стресових чинників (Boulon et al, 2010; Manzano et al, 2016; Yang et al, 2018). Однак при максимальному збільшенні синтетичної функції клітини ядерця можуть зливатися, що призведе до зменшення їх кількості (Sobol, 2001).

Відмічена в клітинах корінців наявність в ядрі дрібних, середніх і великих ядерця, що суттєво відрізняються за площею. Частіше в ядрах зустрічаються дрібні ядерця, ліміти площі яких змінюються в межах 1,36–9,76 мкм², в той час як у середніх та великих ядерцях варіабельність площі становила 10,27–22,32 мкм². Загальна площа ядерця у ядрі клітини також змінюється в залежності від їх кількості та розмірів. Загалом це звичайне явище, яке характерне для клітин кореневої меристеми інших видів хвойних (Tkacheva and Korshikov, 2012; Korshikov et al, 2013a). Доля клітин у насіння субпопуляції НС-1, що мали площу ядерця

7,01–10,0 мкм², 11,0–12 мкм² і 13,0–14,0 мкм² становила 69 %. У проростків з насіння субпопуляції НС-2 найбільше було клітин з площею ядерець 6,01–10,0 мкм² – 68 %, а у проростків з субпопуляції НС-3 це клітини, ядерець яких мали площу – 5,01–11,0 мкм² – 82 %.

Розміри ядерець при звичайному функціональному навантаженні клітини лишаються постійними, як і їх структура. Зміни у морфології ядерець свідчать про різного роду порушення синтезу рРНК (Ma et al, 2016; Ma et al, 2018; Krasikova and Kulikova, 2019).

Ядерець в клітинах одного проростку відрізнялися не лише за розмірами, а й за інтенсивністю фарбування. Як відомо ступінь аргентофілії ядерець залежить від співвідношення його гранулярних та фібрилярних компонентів, кількості білків та внутрішньоядерцевого хроматину (Derenzini et al, 2006).

У проростків насіння дерев двох субпопуляцій НС-1 і НС-3 ядерно-ядерцеве співвідношення в клітинах корінців було досить близьким, тоді як у НС-2 – суттєво більшим (табл. 1). Це обумовлено тим, що клітини з проростків насіння субпопуляції НС-2 мали суттєво більші за розмірами та площею ядра. Зменшення ядерно-ядерцевого співвідношення вказує на зростання об'єму ядерець в ядрі, зростання активності хромосом та посилення біосинтетичних процесів в клітині.

Також для зародків насіння субпопуляції НС-2 був характерний найнижчий рівень очікуваної (Но) гетерозиготності – 0,167. А найбільша середня площа ядерець у ядрі клітин відмічена у корінцях проростків насіння рослин субпопуляції, що зазнає найбільшого рекреаційного навантаження (НС-1). У зародків

насіння цієї субпопуляції був найвищий рівень очікуваної гетерозиготності Но = 0,216.

Слід зазначити, що у корінців проростків насіння сосни пісундської (*Pinus brutia* var. *pityusa* (Steven) Silba) з популяції у Пісунді (Грузія) середня площа ядра, ядерець у ядрі клітини і ядерно-ядерцеве співвідношення було на рівні *P. stankewiczii* з субпопуляції НС-2 (Korshikov et al, 2013b).

Вивчення залежності кількісно-розмірних характеристик ядерець та ядерно-ядерцевого співвідношення в клітинах корінців проростків насіння в залежності від гетерозиготності материнських дерев *P. stankewiczii* показало, що середня кількість ядерець у ядрі мало пов'язана з наявною гетерозиготністю (табл. 2). Так, у рослин, які були гетерозиготні по 1–2 алелі локусам, 3–4 локусам і 5–6 локусам середня кількість ядерець у ядрі клітини корінців проростків становить відповідно $6,40 \pm 0,9$, $6,26 \pm 0,07$ і $6,27 \pm 0,07$.

У групи низькогетерозиготних рослин (1–2 локуси) відмічена найбільша площа одного ядерець в клітинах, що аналізувались ($7,41 \text{ мкм}^2$), а у середньо- і високогетерозиготних вона була на одному рівні – $6,54\text{--}6,55 \text{ мкм}^2$ (табл. 3). Подібна тенденція простежується у зміні середньої загальної площі ядерець в клітинах в залежності від гетерозиготності материнських дерев – низькогетерозиготні – $36,78 \pm 4,72 \text{ мкм}^2$, середньогетерозиготні – $33,62 \pm 2,11 \text{ мкм}^2$ і високогетерозиготні – $33,48 \pm 2,60 \text{ мкм}^2$. Протилежна тенденція відмічена у середній площі ядер в клітинах корінців проростків. Найменші ядра відмічені у клітинах проростків насіння низькогетерозиготних рослин, середня площа яких становила $149,44 \pm$

Таблиця 1. Середня площа ядра, ядерець та ядерно-ядерцеве співвідношення в клітинах проростків насіння *Pinus brutia* var. *Stankewiczii* Sukacz.

Субпопуляція	Середня площа ядра, мкм ²		Середня площа ядерець в ядрі, мкм ²		Ядерно-ядерцеве співвідношення	
	М ± m	CV, %	М ± m	CV, %	М ± m	CV, %
НС-1	170,33 ± 1,41	26,15	54,34 ± 0,34	19,93	3,17 ± 0,02	23,10
НС-2	210,41 ± 1,62	24,35	47,26 ± 0,42	28,10	4,67 ± 0,04	29,73
НС-3	149,67 ± 1,24	26,11	47,36 ± 0,42	28,34	3,31 ± 0,03	28,16

$\pm 11,45$ ммк², а найбільші ядра були виявлені у клітинах високогетерозиготних рослин – $163,80 \pm 8,84$ ммк². Така ж залежність простежувалась і у ядерно-ядерцевому співвідношенні – мінімальне у низькогетерозиготних рослин – 4,84 і максимальне у високогетерозиготних – 5,45. Зауважимо, що наявна гетерозиготність у зародків насіння низькогетерозиготних дерев була вище або на їх рівні, а у зародків насіння високогетерозиготних рослин у 1,5–2 рази менше (Korshikov et al, 2015).

Необхідно зазначити, що цитогенетичні показники насіння не відтворюються щорічно, про що свідчать їх дослідження у врожаї насіння різних років у сосни крейдяної (*Pinus sylvestris* var. *cretacea* Kalenicz. Ex Kom.). У врожаї двох послідовних років середня площа ядер у клітинах корінців проростків відрізнялась на 49 %, середня загальна площа ядерця у ядрі – на 88 %, ядерно-ядерцеве співвідношення – на 34 % (Korshikov et al, 2014). Таку нестабільність у досліджуваних показниках насіння мож-

Таблиця 2. Кількісно-розмірні характеристики ядерця в клітинах проростків насіння *Pinus brutia* var. *stankewiczii* Sukacz. в залежності від гетерозиготності материнських дерев

№ дерева, (№ субпопуляції)	Наявність гетерозиготності	Середня кількість ядерця в одному ядрі, од.		Середня площа одного ядерця в ядрі, ммк ²	
		M \pm m	CV, %	M \pm m	CV, %
<i>Низький рівень гетерозиготності (1–2 гетерозиготи)</i>					
3(3)	0,056	6,53 \pm 0,06	29,83	8,33 \pm 0,09	34,27
5(3)	0,056	6,61 \pm 0,06	29,83	5,38 \pm 0,07	39,16
4(2)	0,111	6,18 \pm 0,06	28,75	6,18 \pm 0,13	33,91
2(3)	0,111	6,56 \pm 0,06	28,43	8,41 \pm 0,08	29,98
11(2)	0,111	6,11 \pm 0,06	31,57	8,75 \pm 0,09	32,63
<i>Середній рівень гетерозиготності (3–4 гетерозиготи)</i>					
6(1)	0,167	6,16 \pm 0,06	28,28	8,94 \pm 0,07	23,99
2(2)	0,167	6,18 \pm 0,06	29,90	5,53 \pm 0,05	27,07
7(2)	0,167	6,23 \pm 0,06	29,29	6,3 \pm 0,06	31,11
6(3)	0,167	6,67 \pm 0,06	28,57	5,03 \pm 0,05	33,16
9(1)	0,222	6,11 \pm 0,05	28,35	8,67 \pm 0,09	33,49
5(2)	0,222	6,14 \pm 0,06	30,54	6,06 \pm 0,05	26,90
13(2)	0,222	6,11 \pm 0,06	29,83	7,04 \pm 0,06	26,15
8(2)	0,222	6,14 \pm 0,06	30,95	6,19 \pm 0,05	24,04
9(2)	0,222	6,15 \pm 0,06	30,31	5,58 \pm 0,04	24,78
8(3)	0,222	6,67 \pm 0,06	28,95	6,07 \pm 0,04	22,75
<i>Високий рівень гетерозиготності (5–6 гетерозигот)</i>					
1(1)	0,278	6,14 \pm 0,05	28,02	7,80 \pm 0,09	38,40
3(2)	0,278	6,21 \pm 0,06	30,86	5,41 \pm 0,04	22,85
1(3)	0,278	6,55 \pm 0,06	29,50	6,84 \pm 0,09	40,64
7(1)	0,278	6,02 \pm 0,05	27,87	4,19 \pm 0,04	30,12
4(1)	0,333	6,12 \pm 0,06	28,56	9,06 \pm 0,10	33,40
8(1)	0,333	6,12 \pm 0,06	28,81	9,26 \pm 0,10	35,08
3(1)	0,333	6,15 \pm 0,06	28,26	5,48 \pm 0,06	33,50
16(2)	0,333	6,24 \pm 0,06	30,15	5,67 \pm 0,06	31,51
10(3)	0,333	6,60 \pm 0,06	30,00	6,15 \pm 0,06	28,60
12(3)	0,333	6,56 \pm 0,06	28,38	5,65 \pm 0,05	28,31

на пояснити адаптивною відповіддю материнських рослин на сукупність несприятливих умов в період цвітіння та формування плодів.

Нестабільність кількісно-розмірних показників ядерець була також відмічена в клітинах проростків з насіння врожаїв різних років клонів плюсових дерев *Pinus sylvestris* L. (Voutyuk and Andreeva, 2009). Кількість ядерець та їх розміри в ядрі клітин залежать від інтенсивності метаболічних процесів у тканинах, які можуть стимулювати діяльність ядерцевих організаторів, на що також впливають

стресові фактори середовища (Andersen et al, 2005; Severine et al, 2010). Також є свідчення, що дерева, які відзначаються найбільшими гормональними перебудовами у відповідь на зміну умов навколишнього середовища, мають нижчі значення гетерозиготності. Так було показано, що дерева *P. sylvestris*, які мають гетерозиготність 0,125 і 0,375 проявляють найменшу чутливість до несприятливих факторів середовища (Tihonova, 2015).

При вивченні залежності рівня патологій мітозу в клітинах проростків насіння *Picea abies*

Таблиця 3. Середня площа, ядра, ядерця та ядерно-ядерцеве співвідношення в клітинах корінців проростків насіння *Pinus brutia* var. *stankewiczii* Sukacz. в залежності від гетерозиготності материнських дерев

№ дерева, (№ субпопуляції)	Гетерозиготність	Середня площа ядерець в ядрі, мкм ²		Середня площа ядра, мкм ²		Ядерно-ядерцеве співвідношення	
		M ± m	CV, %	M ± m	CV, %	M ± m	CV, %
<i>Низький рівень гетерозиготності (1–2 гетерозиготи)</i>							
3(3)	0,056	48,17 ± 0,50	32,53	159,02 ± 1,16	23,06	3,71 ± 0,03	27,66
5(3)	0,056	18,58 ± 0,27	46,49	103,65 ± 0,85	26,02	7,01 ± 0,15	66,73
4(2)	0,111	34,54 ± 0,40	36,35	156,66 ± 1,48	29,90	4,86 ± 0,05	31,42
2(3)	0,111	36,3 ± 0,50	43,88	146,32 ± 1,68	36,38	4,65 ± 0,09	61,08
11(2)	0,111	46,31 ± 0,45	30,85	181,53 ± 1,76	30,66	3,95 ± 0,03	26,86
<i>Середній рівень гетерозиготності (3–4 гетерозиготи)</i>							
6(1)	0,167	45,73 ± 0,35	24,18	195,15 ± 1,92	31,19	4,42 ± 0,04	31,25
2(2)	0,167	34,30 ± 0,33	30,43	147,83 ± 1,05	22,46	5,00 ± 0,12	76,14
7(2)	0,167	31,57 ± 0,27	27,33	154,96 ± 1,21	24,60	5,24 ± 0,06	37,63
6(3)	0,167	23,24 ± 0,35	47,01	113,46 ± 1,29	35,83	5,24 ± 0,05	31,08
9(1)	0,222	43,94 ± 0,42	30,26	187,94 ± 1,98	33,35	4,38 ± 0,05	38,49
5(2)	0,222	32,55 ± 0,28	26,95	134,77 ± 1,13	25,86	4,42 ± 0,04	27,20
13(2)	0,222	33,95 ± 0,28	26,54	167,41 ± 2,01	37,98	5,11 ± 0,04	27,10
8(2)	0,222	29,83 ± 0,30	32,02	146,08 ± 1,68	36,44	5,47 ± 0,06	32,76
9(2)	0,222	31,58 ± 0,30	30,50	153,25 ± 1,25	25,83	4,86 ± 0,04	23,90
8(3)	0,222	29,5 ± 0,29	30,64	141,5 ± 1,46	32,70	5,58 ± 0,06	34,92
<i>Високий рівень гетерозиготності (5–6 гетерозигот)</i>							
1(1)	0,278	39,81 ± 0,42	33,015	192,52 ± 2,40	39,38	5,13 ± 0,07	41,12
3(2)	0,278	35,36 ± 0,29	26,33	157,64 ± 1,62	32,44	4,60 ± 0,04	25,35
1(3)	0,278	35,26 ± 0,50	44,74	151,98 ± 1,36	28,35	5,15 ± 0,08	48,41
7(1)	0,278	21,44 ± 0,23	33,74	116,35 ± 0,84	22,72	6,16 ± 0,06	33,13
4(1)	0,333	41,52 ± 0,40	30,27	195,05 ± 2,03	32,91	5,00 ± 0,06	37,67
8(1)	0,333	48,39 ± 0,37	24,41	204,94 ± 2,63	39,04	4,08 ± 0,04	29,42
3(1)	0,333	25,36 ± 0,25	31,69	149,29 ± 1,74	36,79	6,35 ± 0,06	28,28
16(2)	0,333	27,77 ± 0,29	33,52	135,11 ± 0,88	20,58	5,72 ± 0,05	27,76
10(3)	0,333	31,8 ± 0,30	29,47	163,07 ± 1,59	30,85	6,28 ± 0,21	103,4
12(3)	0,333	28,04 ± 0,30	33,35	172,06 ± 2,05	37,74	5,98 ± 0,05	28,11

(L.) Karst від гетерозиготності материнських рослин було виявлено тенденцію зниження появи патологічних ефектів при зростанні рівня гетерозиготності. Однак у рослин з насаджень в промисловій зоні та популяцій в зоні з підвищеним радіаційним фоном патології мітозу частіше виникали у низькогетерозиготних рослин (Korshikov et al, 2012).

Висновки. Отже в результаті проведеного дослідження виявлена субпопуляційна мінливість кількості ядерців та їх розмірів в клітинах проростків насіння *P. brutia* var. *stankewiczii* на межі природного розповсюдження на південно-східному узбережжі Криму. Виявлені відмінності можна розглядати як норму реакції в середені виду в умовах крайової частини ареалу.

Для субпопуляції, що зазнає найбільшого рекреаційного навантаження і зростає на нижній межі в горах, відмічена тенденція до збільшення середньої площі ядерців в ядрі та зменшення ядерно-ядерцевого співвідношення. Даний факт вказує на підвищення функціональної активності генетичного апарату клітини і відповідно посилення процесів біосинтезу білку, як адаптивної реакції рослин на більш несприятливий комплекс умов зростання, ніж у субпопуляції, які зростають на верхній межі гір.

Чіткої залежності у змінах ядерно-ядерцевих показників зародків насіння від рівня гетерозиготності материнських дерев встановити не вдалося. Однак були відмічені певні тенденції, що вказують на комплексний характер змін в клітинах насіннєвого потомства, що можуть бути пов'язані з умовами зростання рослин.

Дотримання етичних стандартів. Ця стаття не містить будь-яких досліджень за участю людей і хребетних тварин в якості об'єктів дослідження.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Фінансування. Це дослідження не фінансувалося будь-яким грантом від фінансових установ уряду, комерційного або некомерційного сектору.

FEATURES OF THE NUCLEUS AND NUCLEOLI IN SEEDLINGS FROM MOTHER STANKEVICH PINE TREES (*PINUS BRUTIA* VAR. *STANKEWICZII* SUKACZ.). WITH DIFFERENT HETEROZYGOSITY LEVELS
I.I. Korshikov, Yu.O. Bilonozhko, Ya.G. Milchevskaya

Donetsk Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Ukraine, 50, Marshaka Str., Kryvyi Rih 50089 Ukraine

Kryvyi Rih Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Ukraine, 50, Marshaka Str., Kryvyi Rih 50089 Ukraine

Institute of Food Biotechnology and Genomics of the National Academy of Sciences of Ukraine, 2a, Osypovskoho Str., Kyiv 04123 Ukraine

E-mail: tkacheva_ua@ukr.net

The results of the analysis of the nucleus and nucleoli features in the seeds of *Pinus brutia* var. *stankewiczii* Sukacz under conditions of the marginal part of the distribution and recreational load area are presented. The polymorphism in the number of nucleoli and their size in the cells of seedlings from the south-eastern coast of the Crimea was found between *P. brutia* var. *stankewiczii* populations. An increase in the average area of nucleoli in the nucleus and a decrease in the nucleus-nucleolus ratio were observed for the population under the recreational pressure, which indicates higher functional activity of the genetic apparatus of cells in response to adverse conditions. The change of nucleus-nucleolus parameters depending on the level of heterozygosity of mother trees was shown. The plants with low heterozygosity tended to have larger nucleoli. The identified trends indicate the complex nature of changes in the cells of the seed progeny of *P. brutia* var. *stankewiczii*.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Altukhov YP and Moskaleichik FF. (2006) Allozyme heterozygosity, metabolic rate, sexual maturation rate, and longevity Dokl Biol Sci 410:416–420. doi: 10.1134/S0012496606050218
- Andersen JS, Lam YW, Leung AK et al. (2005) Nucleolar proteome dynamics Nature 433:77–83. doi: 10.1038/nature03207
- Boulon S, Westman BJ, Hutten S et al. (2010) The nucleolus under stress Mol Cell 40:216–227. doi: 10.1016/j.molcel.2010.09.024
- Britton-Davidian J, Cazaux B, Catalan J. (2012) Chromosomal dynamics of nucleolar organizer regions (NORs) in the house mouse: micro-evolutionary insights Heredity 108:68–74. doi: 10.1038/hdy.2011.105
- Cantwell H and Nurse P. (2019) Unravelling nuclear size control Curr Genet 65:1281–1285. doi: 10.1007/s00294-019-00999-3
- Chelomina GN, Rozhkovan KV, Burundukova OL et al. (2020) Age-dependent and tissue-specific alterations in the rDNA clusters of the *Panax ginseng* C. A. Meyer cultivated cell lines Biomolecules 10(10):1410. doi: 10.3390/biom10101410
- Derezini M, Pasquinelli G, O'Donohue M-F et al. (2006) Structural and functional organization of ribosomal genes within the mammalian cell nucleolus

- J Histochem Cytochem 54(2):131–145. doi:10.1369/jhc.5R6780.2005
- De Storme N and Mason A. (2014) Plant speciation through chromosome instability and ploidy change: cellular mechanisms, molecular factors and evolutionary relevance *Curr Plant Biol* 1:10–33. doi: 10.1016/j.cpb.2014.09.002
- Hein N, Sanij E, Quin J. (2012) The nucleolus and ribosomal genes in aging and senescence *Senescence Intech Open access Publisher* 171–208. doi: 10.5772/34581
- Khrolenko YuA, Burundukova OL, Lauve LS et al. (2012) Characterization of the variability of nucleoli in the cells of *Panax ginseng* Meyer in vivo and in vitro *Ginseng Res* 36(3):322–326. doi: 10.5142/jgr.2012.36.3.322
- Korshikov II and Gorlova EM. (2006) Genetic structure, subdivision, and differentiation in Stankewiczii pine (*Pinus stankewiczii* (Sukacz.) Fomin) populations from Mountainous Crimea *Rus J Genet* 42(6):672–680. doi: 10.1134/S1022795406060135
- Korshikov II, Kalafat LA, Milchevskaya YG. (2015) Genetic diversity and mating system of *Pinus brutia* var. *stankewiczii* Sukacz. in small localities of Sudak (Crimea) *Cytol Genet* 49:102–108. doi: 10.3103/S0095452715020048
- Korshikov II, Lapteva OV, Tkachova you. (2013a) Variability of quantitative-dimensional characteristics of nuclei and nucleoli in the cells of seeds of *Pinus pallasiana* D. Don (protected and anthropogenically modified territories of the steppe zone of Ukraine) *Ukr Bot J* 70(6):805–812. (in Ukrainian)
- Korshikov II, Milchevskaya YaG, Tkacheva YuA et al. (2013b) Nuclear-nucleolar polymorphism in the regional populations off our species of conifers *Factors Experim Evol Org* 12:50–54
- Korshikov II, Tkacheva YuA, Privalikhin SN. (2012) Cytogenetic abnormalities in Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) seedlings from natural populations and an introduction plantation *Cytol Genet* 46:280–284. doi: 10.3103/S0095452712050064
- Korshikov II, Tkachova YuA, Lapteva HV et al. (2014) The nucleus-nucleolar variation in seed progeny of *Pinus sylvestris* L. var. *cretacea* Kalenicz. ex Kom. among seed yield of different years from «Melovaya flora» natural reserve. *Factors Experim Evol Org* 15:196–200
- Krasikova A and Kulikova T. (2019) Identification of genomic loci responsible for the formation of nuclear domains using lampbrush chromosomes *Noncoding RNA* 6(1):1. doi: 10.3390/ncrna6010001
- Kumar P and Singhal VK. (2016) Nucleoli migration coupled with cytomixis *Biologia* 71:651–659. doi: 10.1515/biolog-2016-0076
- Lafontaine DLJ, Riback JA, Bascetin R et al. (2021) The nucleolus as a multiphase liquid condensate *Nat Rev Mol Cell Biol* 22:165–182. doi: 10.1038/s41580-020-0272-6
- Ma T-H, Chen P-H, Chin-MingTan B et al. (2018) Size scaling of nucleolus in *Caenorhabditis elegans* embryos *Biomed J* 41(5):333–336. doi: 10.1016/j.bj.2018.07.003
- Ma T-H, Lee L-W, Lee Ch-Chet al. (2016) Genetic control of nucleolar size: an evolutionary perspective *Nucleus* 7(2):112–120. doi: 10.1080/19491034.2016.1166322
- Manzano AI, Herranz R, Manzano A et al. (2016) Early effects of altered gravity environments on plant cell growth and cell proliferation: characterization of morphofunctional nucleolar types in an *Arabidopsis* cell culture system *Front Astron Space Sci* 3:2. doi: 10.3389/fspas.2016.00002
- Mayer C and Grummt I. (2005) Cellular stress and nucleolar function. *Cell Cycle* 4(8):1036–1038. doi: 10.4161/cc.4.8.1925
- Montiel EE, Manrique-Poyato MI, Rocha-Sánchez SM et al. (2012) Nucleolus size varies with sex, ploidy and gene dosage in insects *Physiol Entomol* 37:145–152. doi: 10.1111/j.1365-3032.2011.00822.x
- Olson MO, Dundr M. (2015). Nucleolus: Structure and Function In eLS, John Wiley & Sons, Ltd (Ed.). doi: 10.1002/9780470015902.a0005975.pub3
- Severine B, Westman BJ, Saskia H et al. (2010) The nucleolus under stress *Mol Cell* 40(2):216–227. doi: 10.1016/j.molcel.2010.09.024
- Sobel MA. (2001) Role of the nucleolus in plant cell response to environmental physical factors *Cytol Genet* 35(3):72–84.
- Tikhonova IV. (2015) Correlations of heterozygosity with sexual type and sensitivity of *Pinus sylvestris* L. trees to the influence of environmental factors *Contemp Probl Ecol* 8:457–463. doi: 10.1134/S1995425515040149
- Tkachova YuO, Korshikov II. (2012) Nuclear-nuclear polymorphism of the seed progeny *Picea abies* (L.) Karst. (Pinaceae) in natural populations and introductory stands *Ukr Bot J* 69(6):919–925. (in Ukrainian)
- Velichko AK, Razin SV, Kantidze OL. (2021) DNA damage response in nucleoli *Mol Biol* 55:182–192. doi: 10.1134/S002689332102014X
- Voytyuk V, Andreeva V. (2009) Nucleolus activity in sprout meristem of scotch pine plus trees. *Bull Ukr Assoc Genet Breed* 7(2):177–183. (in Ukrainian)
- Yang K, Yang J, Yi J. (2018) Nucleolar Stress: hallmarks, sensing mechanism and diseases *Cell Stress* 2(6):125–140. doi: 10.15698/cst2018.06.139
- Zharskaia OO and Zatsepina OV. (2007) Dynamics and mechanisms of the nucleolus reorganization during mitosis *Tsitologiya* 49(5):355–369. doi: 10.1134/S190519X07040013

Надійшла в редакцію 26.07.21
Після доопрацювання 29.09.21
Прийнята до друку 18.03.22