

СЕЛЕКЦІЯ, ДЕНДРОЛОГІЯ

УДК 630.174.175:630.181.36: 630.181.525

<https://doi.org/10.33220/1026-3365.141.2022.52>



В. А. ДИШКО, І. М. УСЦЬКИЙ, Л. О. ТОРОСОВА

РАННЯ ДІАГНОСТИКА СТІЙКОСТІ ДЕРЕВ СОСНИ ЗВИЧАЙНОЇ ДО УРАЖЕННЯ КОРЕНЕВОЮ ГУБКОЮ

Український науково-дослідний інститут лісового господарства та агролісомеліорації ім. Г. М. Висоцького

Висвітлено результати морфологічних і цитологічних досліджень насінного матеріалу дерев сосни звичайної різного санітарного стану в осередках всихання насаджень, уражених кореневою губкою («умовно стійких», «хворих», контрольних) у ДП «Харківська ЛНДС». Визначено масу насіння та його схожість, мітотичну активність клітин апікальних меристем корінців і кількість сім'ядолей проростків. Насіння «умовно стійких» дерев, як порівняти з насінням «хворих», характеризується більшою середньою масою (на 18,5 %) і не поступається енергією проростання (65 і 64 % відповідно). Підтверджено стабільність рівня мітотичної активності клітин та її більшу інтенсивність у корінцях проростків із насіння «умовно стійких» дерев, порівнюючи з «хворими». Для «умовно стійких» дерев зафіксовано більшу, ніж в інших варіантах, сумарну частку проростків із шістьма і більше сім'ядолями. Отримані результати свідчать про можливість використання застосованих методів для ранньої діагностики молодих дерев сосни звичайної, які досягли фази репродукції, щодо стійкості до ураження кореневою губкою.

Ключові слова: проростки, мітотична активність клітин, кількість сім'ядолей, коренева губка.

Вступ. Сосна звичайна (*Pinus sylvestris* L.) є одним з основних лісоутворювальних видів України; вона розповсюджена в різних природно-кліматичних зонах і характеризується високою екологічною пластичністю. Використання для створення лісових культур насінного матеріалу зі спадково зумовленими заданими корисними властивостями зможе суттєво підвищити ефективність штучного лісовідновлення. Селекціонери тривалий час намагаються виділяти та випробувати сорти сосни звичайної, переважно за ознаками продуктивності, швидкості росту, якості деревини тощо (Tereshchenko et al. 2011). Водночас вирішенню проблем, пов'язаних із підвищенням стійкості створюваних насаджень, може допомогти використання насінного матеріалу, зібраного з дерев, що характеризуються підвищеною резистентністю (Ulusan & Bilir 2008). Особливої актуальності проблема підвищення стійкості лісів набуває у зв'язку з глобальним потеплінням, яке є сприятливим для поширення хвороб, спричинених патогенними грибами, та загрожує збереженню біорізноманіття. Останнім часом в УкрНДІЛГА приділяють увагу пошуку шляхів відбору та оцінювання селекційного матеріалу сосни звичайної, стійкого до патогенів, зокрема збудників кореневої губки (Ustskiy 2017, Dyshko et al. 2019, Ustskiy et al. 2019).

Коренева губка (*Heterobasidion annosum* s.l.) є найнебезпечнішою хворобою, що спричиняє окоренкову гниль і призводить до зниження захисних властивостей соснових насаджень, всихання та загибелі дерев (Negrutsky 1986). Із літературних джерел відомо (Chernykh 1965, Dyshko & Torosova 2016, Marčiulynas et al. 2019, Skipars 2011), що в осередках всихання насаджень, уражених цією хворобою, трапляються дерева, які протягом тривалого часу на високому інфекційному фоні зберігають життєздатність і не виявляють зовнішніх ознак захворювання. Такі дерева вважають «умовно стійкими», а їхню підвищену резистентність пов'язують із генетичними особливостями (Asiegbu et al. 2003, Adomas et al. 2007, Skipars 2011), метаболізмом (Chemeris & Voyko 2008), морфологічною (Poplavskaya and Rebko 2013, Dyshko et al. 2015) та анатомічною (Nagy et al. 2006) будовою тощо. Щоб довести існування стійких біологічних форм сосни звичайної, вчені мають виявити певні ознаки, які б свідчили про її резистентність до тих чи інших чинників. Наразі майже відсутні нескладні та ефективні методи, які б дали можливість визначати потенціал продуктивності та резистентності дерев на ранніх етапах розвитку.

Нині актуальним є розроблення методів ранньої діагностики спадкових властивостей, які б дали змогу визначати потенційно стійкі до ураження кореневою губкою дерева після

початку репродуктивної фази та виявляти можливість використовувати їхній насінний матеріал для створення стійких і продуктивних насаджень (Popov & Zharikov 1973, Orlenko & Podzharova 1980, Castoldi & Molina 2014). Наприклад, наразі відомо, що особливості росту й розвитку сосни певною мірою визначаються кількістю сім'ядолей у проростків насіння. Доведено, що інтенсивність росту проростків підвищується в ранжованому ряду від особин з чотирма сім'ядолями до восьми. Особини, які мають 6–8 сім'ядолей, на відміну від тих, які мають меншу кількість сім'ядолей, є густіше охоєними, мають краще розвинені провідну та смолоносну системи, а після 20-річного віку мають переваги перед особинами з меншою кількістю сім'ядолей за об'ємом стовбура на 12–38 % (Popov & Zharikov 1977, Popov et al. 2002). Інші дослідження (Romanovskii & Morozov 2019) дещо спростовують зв'язок між кількістю сім'ядолей і ростом рослин, але не заперечують, що сіянці з мінімальною кількістю сім'ядолей є зазвичай низькорослими, розміри сіянців пов'язують більше з активністю апікальної меристеми проростка. Зі свого боку, основною характеристикою апікальних меристем є їхня здатність до активного поділу, тобто рівень мітотичної активності клітин, який раніше дуже обмежено вивчали стосовно деревних рослин. Результати наших попередніх досліджень, які підтверджують висновки інших вчених (Poplavskaya & Rebko 2013, Ustskiy 2017), свідчать, що особини з підвищеною резистентністю можуть поступатися сприйнятливим до хвороби особинам за інтенсивністю росту (Dyshko et al. 2015). Зважаючи на це, метою дослідження був аналіз можливості застосування ознак мітотичної активності клітин апікальних меристем корінців і кількості сім'ядолей проростків насіння сосни звичайної для прогнозування стійкості дерев до ураження кореневою губкою.

Матеріали й методи. У дослідженні використовували насіння сосни звичайної, зібране в насадженні, ураженому кореневою губкою, на території державного підприємства «Харківська лісова науково-дослідна станція» (ДП «Харківська ЛНДС»). Шишки збирали з дерев, які в осередках всихання мали різний санітарний стан: без зовнішніх ознак всихання («умовно стійкі» – 13 дерев) та з ознаками всихання («хворі» – 7 дерев). Як контроль використовували насіння дерев без патологічних ознак, що росли в тих самих насадженнях, але за межами осередків усихання (5 дерев). Стан дерев оцінювали за шкалою, рекомендованою «Санітарними правилами в лісах України» (Sanitary Forests Regulations in Ukraine 2016).

Масу насіння та його посівні властивості (схожість, життєздатність) оцінювали згідно із ДСТУ 8558:2015 (Seeds of trees and shrubs 2017). Для цього з кожного дерева відбирали зразки насіння в кількості 100 шт., зважували на електронних вагах «AXIS», отриманий показник інтерполювали для розрахунку маси 1 000 насінин (m_{1000}) і розподіляли за категоріями: дрібне ($m_{1000 \text{ шт}} \leq 6$ г), середнє ($7 \text{ г} < m_{1000 \text{ шт}} < 9$ г) і велике ($m_{1000 \text{ шт}} \geq 9$ г). Перед пророщуванням насіння протягом двох годин стерилізували слабким розчином KMnO_4 (0,5 г KMnO_4 на 100 мл дистильованої H_2O), потім промивали під струменем води та висушували до сипучості на фільтрувальному папері. У простерилізовані в сухожаровій шафі (протягом 1 год. за температури 100°C) чашки Петрі з фільтрувальним папером висівали просушене насіння, змочували стерилізованою дистильованою H_2O (3 мл) і накривали кришкою. Пророщували зразки за температури $+20^\circ\text{C}$ (Seeds of trees and shrubs 2017).

Для дослідження мітотичної активності проростків після появи корінців завдовжки 1,0–1,5 см відбирали по 20 шт. проростків від кожного дерева та фіксували у розчині Карнуа (три частини 96 %-го етилового спирту й одна частина крижаної оцтової кислоти) протягом 18–24 год., а потім зберігали в етиловому спирті за температури $+4^\circ\text{C}$ в холодильнику для подальших досліджень (Torosova 2012). З кожного зразка виготовляли тиснені мікропрепарати за схемою: 1 – корінці проростків вміщували у 3N розчин соляної кислоти на 15 хвилин для мацерації тканин; 2 – зразки занурювали у 45 %-й розчин оцтової кислоти зі слідами хлорного заліза й витримували 15 хвилин; 3 – корінці занурювали у розчин ацетозалізогематоксиліну (Shoferistova 1973) та витримували для забарвлення протягом двох

годин за кімнатної температури; 4 – забарвлений матеріал для часткового відмивання витримували 5 хвилин у 45%-му розчині оцтової кислоти та переносили в насичений розчин хлоралгідрату; 5 – із корінців препарувальною голкою відокремлювали конус наростання з меристемними клітинами й розташовували на предметному склі у краплині суміші Гойєра, покривали покривним склом і легким натисканням досягали розташування клітин тонким шаром (Togosoва 2008). Виготовлені тиснені препарати вивчали та фотографували за допомогою мікроскопу AxioStar Plus. Аналізували фотографії в програмі AxioVision Rel.4.6. На кожному мікропрепараті визначали кількість клітин у кожній фазі мітозу (профазі, метафазі, анафазі, телофазі) та їхню загальну кількість. Мітотичну активність клітин визначали через мітотичний індекс (МІ) – виражене у відсотках відношення кількості клітин, які перебувають у мітозі, до загальної кількості клітин тканини: $MI = (I + P + M + A + T) / (I + P + M + A + T) \cdot 100 \%$, де буквами позначена кількість клітин у відповідній фазі мітозу (I – інтерфаза, P – профаза, M – метафаза, A – анафаза, T – телофаза). Також за відношенням кількості клітин у кожній фазі до загальної кількості клітин підраховували коефіцієнт кожної фази (Кф), а за відношенням кількості клітин у фазі до кількості клітин, що діляться – індекс фази (Іф).

Загалом переглянуто 132 препарати та проаналізовано 22 071 клітину.

На 21-шу добу проростання, після чіткого розходження сім'ядолей проростків (рис. 1), підраховували їхню кількість. У всіх зразках проаналізували розподіл частот трапляння проростків із різною кількістю сім'ядолей.

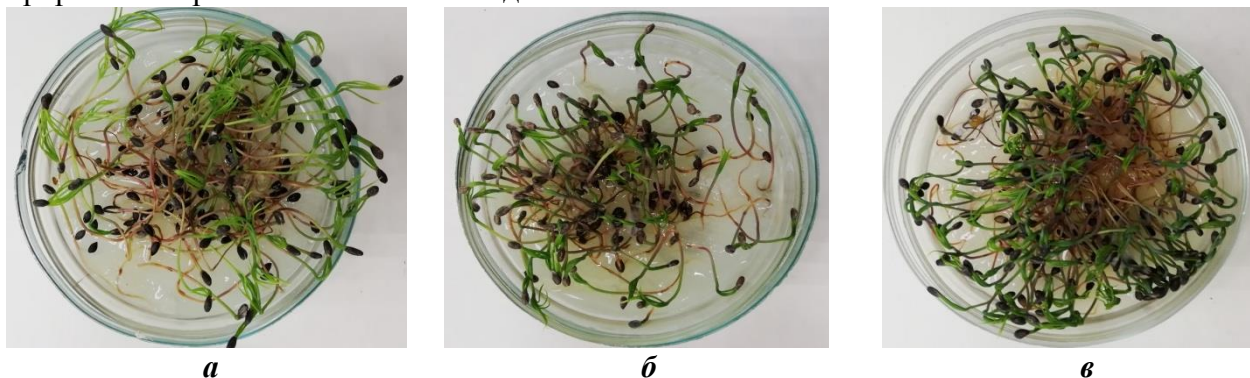


Рис. 1 – Проростки сосни звичайної, вирощені з насіння дерев, які характеризуються різною стійкістю в осередках всихання насаджень, уражених кореневою губкою (а – «стійкі», б – «хворі»), та контроль (в)

Для всіх кількісних характеристик за допомогою пакету програм Excel розраховували основні статистичні показники та аналізували методами описової статистики.

Результати та обговорення. За результатами дослідження маса насіння (m_{1000} шт.), отриманого від «умовно стійких» дерев, варіювала від 5,3 до 11,5 г ($m_{\text{сер}1000 \text{ шт}} = 8,5$ г, $Cv = 19,2 \%$), «хворих» – від 5,3 до 8,0 г ($m_{\text{сер}1000 \text{ шт}} = 6,9$ г; $Cv = 16,5 \%$), а від контрольних – від 6,7 до 9,5 г ($m_{\text{сер}1000 \text{ шт}} = 8,1$ г; $Cv = 14,3 \%$). Середній показник маси насіння «умовно стійких» дерев на 18,5 % перевершував показник «хворих» і на 5 % – контроль. За категоріями маси (рис. 2) серед «умовно стійких» дерев переважало середнє (54 %) і велике (38 %) насіння, а у «хворих» – дрібне (29 %) і середнє (71 %). Маса насіння всіх зразків контрольних дерев була середньою.

Результати дослідження мітотичного індексу клітин апікальних меристем корінців проростків, вирощених із насіння «умовно стійких» і «хворих» дерев, наведено в таблиці 1. Підрахунок кількості клітин в окремих фазах мітозу засвідчив, що проліферативна активність клітин апікальних меристем «умовно стійких» дерев є вищою, ніж у «хворих». Це підтверджують як загальний рівень мітотичного індексу (МІ), так і коефіцієнти окремих фаз мітозу, розраховані стосовно всіх груп дерев. Варіація середніх значень МІ серед зразків «умовно стійких» дерев була меншою, порівнюючи з «хворими», що свідчить про відносну стабільність дослідженого показника в перших.

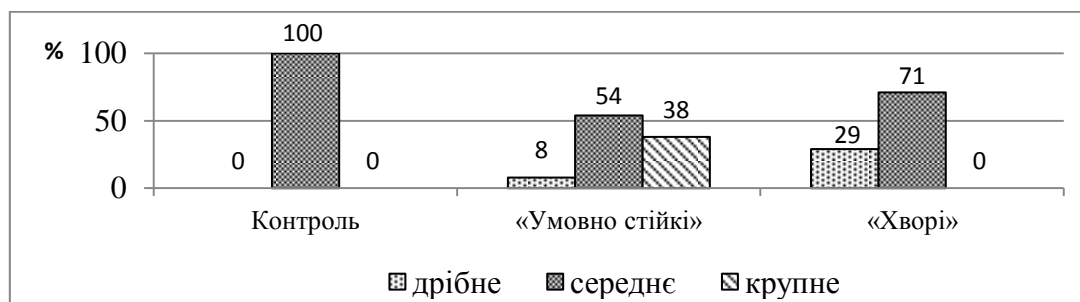


Рис. 2 – Розподіл насіння сосни звичайної (%) за категоріями маси в дерев із різною стійкістю до ураження кореневою губкою

Відмінності між середнім МІ «умовно стійких» і «хворих» дерев ($t_{Cr} = 8,5$; $t_{0,01} = 4,0$) та «умовно стійких» і «контрольних» $t_{Cr} = 5,1$; $t_{0,01} = 4,0$) доведено статистично.

Таблиця 1

Мітогична активність клітин апікальних меристем проростків насіння дерев сосни звичайної різного стану

Група дерев	Фаза мітозу*				Разом	Загальна кількість клітин, шт.	МІ, %
	Профаза	Метафаза	Анафаза	Телофаза			
Контроль	$\frac{77}{2,6}$	$\frac{70}{2,3}$	$\frac{52}{1,7}$	$\frac{32}{1,1}$	231	3 000	7,7
«Умовно стійкі»	$\frac{273}{3,9}$	$\frac{243}{3,5}$	$\frac{134}{1,9}$	$\frac{94}{1,3}$	744	6 980	10,7
«Хворі»	$\frac{285}{2,4}$	$\frac{174}{1,4}$	$\frac{126}{1,0}$	$\frac{93}{0,8}$	678	12 091	5,6

*Чисельник – кількість клітин, шт., знаменник – коефіцієнт фази, %.

Аналіз розподілу клітин за фазами мітозу – індексом фаз (рис. 3) свідчить про найбільші відмінності між проростками, вирощеними з насіння «умовно стійких» і «хворих» дерев, за частками профаз (36,7 і 42,0 % відповідно) та метафаз (32,7 і 25,7 % відповідно).

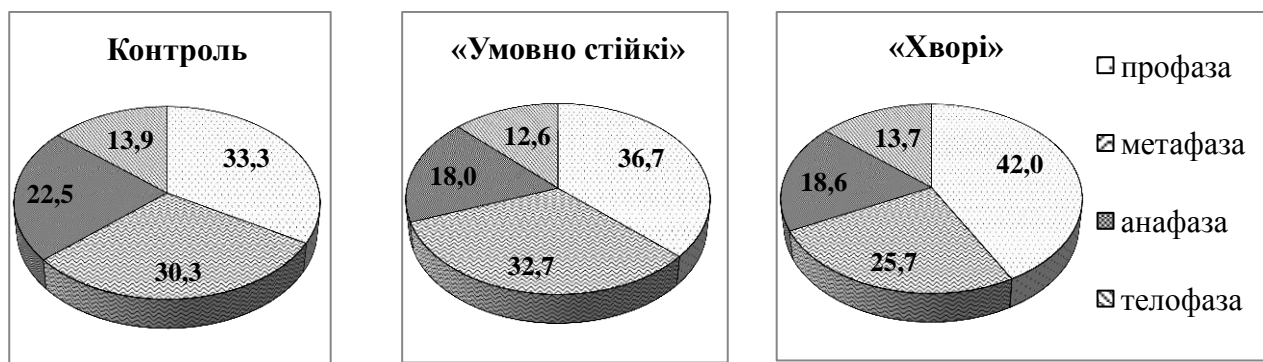


Рис. 3 – Розподіл клітин за фазами мітозу в апікальних меристемах проростків насіння дерев різної стійкості до ураження кореневою губкою

Частки клітин, які перебувають в анафазі та телофазі, різняться в межах 1 %. Причиною таких незначних відмінностей клітин проростків із насіння «стійких» і «хворих» рослин у профазі та метафазі може бути сповільнене утворення веретена поділу в клітинах проростків, вирощених із насіння «хворих» дерев, або наявність хромосомних мутацій і порушень нормального перебігу мітозу.

Дослідження енергії проростання та інтенсивності росту проростків, вирощених із насіння «умовно стійких» і «хворих» дерев, свідчать, що насіння, відібране з перших, перевершує другі за енергією проростання та всіма дослідженими ознаками. Мінливість енергії проростання насіння «умовно стійких» дерев є більшою, ніж «хворих» ($Cv = 34,7\%$), а схожості – меншою ($Cv = 16,3\%$).

Згідно з результатами дослідження кількість сім'ядолей у проростках (табл. 2) варіює від 3 до 9 шт. У проростках «умовно стійких» дерев зафіксовано 4–9 сім'ядолей, у «хворих» – 3–8, а на контролі – 4–7 шт. Такі особливості, напевно, пов'язані як із адаптивністю до умов вирощування, так і зі стійкістю до ураження кореневою губкою.

Таблиця 2

Особливості проростання насіння та характеристики проростків сосни звичайної з різною стійкістю до ураження кореневою губкою

№ дерева	Енергія проростання насіння, %		Частота трапляння різної кількості сім'ядолей у проростках, %						
	на 7-му добу	на 14-ту добу	3	4	5	6	7	8	9
Контроль									
1	15	32	–	–	23,7	65,8	10,5	–	–
2	40	62	–	–	17,2	65,5	17,3	–	–
3	47	70	–	–	16,4	72,7	10,9	–	–
4	41	85	–	–	20,5	61,4	18,1	–	–
5	58	90	–	2,1	16,6	74,0	7,3	–	–
Середнє	40	68	0,0	0,4	18,9	67,9	12,8	0,0	0,0
«Умовно стійкі»									
1	14	40	–	–	12,0	56,0	32,0	–	–
2	17	20	–	–	5,6	77,7	16,7	–	–
3	18	80	–	2,2	24,4	57,8	15,6	–	–
4	15	33	–	–	35,6	51,1	13,3	–	–
5	47	80	–	2,4	30,1	59,1	8,4	–	–
6	20	90	–	–	–	48,7	41,0	7,7	2,6
7	38	80	–	–	10,5	77,6	11,9	–	–
8	50	90	–	–	20,9	63,9	14,0	1,2	–
9	15	35	–	–	9,5	71,4	19,1	–	–
10	10	12	–	–	5,3	57,9	36,8	–	–
11	19	90	–	1,9	22,2	63,0	11,1	1,9	–
12	56	100	–	–	14,3	62,5	23,2	–	–
13	49	100	–	–	3,0	69,7	27,3	–	–
Середнє	28	65	0,0	0,5	14,9	62,8	20,8	0,8	0,2
«Хворі»									
1	0	14	–	–	27,8	66,7	5,6	–	–
2	39	60	–	–	19,2	57,7	21,2	1,9	–
3	47	70	–	3,1	35,4	56,3	4,2	1,0	–
4	37	80	–	–	11,4	67,1	21,4	–	–
5	41	100	–	3,6	23,6	63,6	9,1	–	–
6	20	26	–	–	22,5	72,5	5,0	–	–
7	67	100	0,7	–	21,6	66,2	11,5	–	–
Середнє	35	64	0,1	1,0	23,1	64,3	11,1	0,4	0,0

Найчастіше в зразках траплялися проростки, що мали 6 сім'ядолей. В «умовно стійких» дерев їх було 62,8 %, у «хворих» – 64,3 %, а на контролі – 67,9 %. Сумарна частка насіння, в якого зафіксовано 6 та більше сім'ядолей, в «умовно стійких» дерев становила 84,6 %, у «хворих» та на контролі – менше (75,9 і 80,7 % відповідно). Слід також відзначити, що в «умовно стійких» дерев, як і на контролі, не зафіксовано проростків насіння із 3 сім'ядолями, тоді як у «хворих» не виявлено насіння, в якого було 9 сім'ядолей. Аналіз отриманих результатів може свідчити про те, що потенціал стійкості проростків, вирощених із насіння «умовно стійких» і контрольних дерев, є вищим, ніж у «хворих».

Висновки. Насіння «умовно стійких» дерев характеризується на 18,5 % більшою середньою масою 1 000 шт., ніж насіння «хворих». Водночас «умовно стійкі» дерева

поступалися «хворим» за енергією проростання насіння у перші дні росту (на 7-му добу пророщування – 28 та 35 % відповідно), але з часом (на 14-ту добу) показники майже вирівнялись (65 і 64 % відповідно).

Цитологічні дослідження апікальних меристем проростків насіння засвідчили, що проліферативна активність клітин «умовно стійких» дерев була вищою, ніж у «хворих» (мітотичний індекс становив 10,7 і 5,6 % відповідно). Показники мітотичної активності клітин апікальних меристем можна використовувати для ранньої діагностики дерев на стійкість до ураження кореневою губкою.

У зразках «умовно стійких» дерев переважають проростки з більшою кількістю сім'ядолей. Найбільшу сумарну частку проростків, які мали 6 і більше сім'ядолей, зафіксовано в зразках, вирощених з насіння «умовно стійких» дерев (84,6 %); у «хворих» та на контролі частка таких проростків була меншою (75,9 і 80,7 % відповідно). Найчастіше в зразках траплялися проростки, що мали 6 сім'ядолей (в «умовно стійких» – 62,8 %, «хворих» – 64,3 %, на контролі – 67,9 %). Отримані результати дають змогу попередньо рекомендувати використання цієї ознаки для діагностики молодих дерев, які досягли фази репродукції, на стійкість до кореневої губки. Для остаточного підтвердження або спростування нашого припущення необхідні подальші дослідження.

Використання показників мітотичної активності клітин апікальних меристем і кількості сім'ядолей проростків для раннього оцінювання дерев сосни звичайної на стійкість до ураження кореневою губкою може підвищити ефективність відбору за цією ознакою. Особливо актуальним застосування цитологічних методів може бути у випробних культурах, які необхідно створювати для вивчення успадкування ознак стійкості.

ПОСИЛАННЯ –REFERENCES

Adomas, A., Heller, G., Li, G., Olson, A., Chu, T. M., Osborne, J., Dean, R. A. 2007. Transcript profiling of a conifer pathosystem: response of *Pinus sylvestris* root tissues to pathogen (*Heterobasidion annosum*) invasion. *Tree Physiology*, 27 (10): 1441–1458.

Asiegbu, F. O., Choi, W., Li, G., Nahalkova, J., Dean, R. A. 2003. Isolation of a novel antimicrobial peptide gene (Sp-AMP) homologue from *Pinus sylvestris* (Scots pine) following infection with the root rot fungus *Heterobasidion annosum*. *FEMS microbiology letters*, 228 (1): 27–31.

Castoldi, E., and Molina, J. A. 2014. Effect of seed mass and number of cotyledons on seed germination after heat treatment in *Pinus sylvestris* L. var. *iberica* Svob. *Forest Systems*, 23(3): 483–489. <https://doi.org/10.5424/fs/2014233-05480>

Chemeris, O. V. and Boyko, M. I. 2008. Content of phenolic compounds in seedlings of *Pinus sylvestris* L. and *Pinus pallasiana* D. Don infected by *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. *Problems of ecology and nature protection of technogenic region*, 8: 267–272 (in Ukrainian).

Chernykh, A. G. 1965. Anatomical features of wood of pine individuals that survived in the foci of the annosum root rot]. *Forestry and Forest Melioration*, 7: 121–125 (in Russian).

Dyshko, V. A. and Torosova, L. O. 2016. Osoblyvosti rostovykh protsesiv sosny zvychnoyi u nasadzhenni, urazhenomu korenevoyu hubkoyu [Features of growth processes of Scots pine in plantation affected by annosum root rot]. *Lisivnytstvo i ahrolisomelioratsiya* [Forestry and Forest Melioration], 128: 134–142 (in Ukrainian).

Dyshko, V. A., Ustskyy, I. M., Mykhaylichenko O. A. 2015. Morphological and biochemical differences of trees with different resistance to annosum root rot. *Forestry and Forest Melioration*, 126: 218–224 (in Ukrainian).

Dyshko V. A., Ustsky I. M., Mykhaylichenko O. A. 2019. Features of morphological and biometric characteristics of reproductive organs of Scots pine trees with different resistance in stands affected by *Heterobasidion annosum*. *Forestry and Forest Melioration*, 135: 58–67 (in Ukrainian). <https://doi.org/10.33220/1026-3365.135.2019.58>

Marčiulynas, A., Sirgedaitė-Šėžienė, V., Žemaitis, P., Baliuckas, V. 2019. The resistance of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) half-sib families to *Heterobasidion annosum*. *Forests*, 10(3): 287.

Nagy, N. E., Krokene, P., Solheim, H. 2006. Anatomical-based defense responses of Scots pine (*Pinus sylvestris*) stems to two fungal pathogens. *Tree Physiology*, 26(2): 159–167.

Negrutsky, S. F. 1986. Annosum root rot. Moscow, Agropromizdat, 196 p. (in Russian).

Orlenko, Ye. G. and Podzharova, Z. S. 1980. Early diagnostics of growth energy of Scots pine seedlings of different geographical origin. *Lesovedeniye i Lesnoye khozyaystvo*, 15: 39–43 (in Russian).

Poplavskaya, L. F. and Rebko, S. V. 2013. Breeding characteristics of Scots pine trees with different resistance to annosum root rot. In: Current state and prospects of conservation and protection of forests in the system of sustainable development. Proceedings of International Scientific and Practice Conf. Gomel, p. 310–314 (in Russian).

Popov, V. Ya., Tuchin, P. V., Fayzulin, D. Kh. 2002. Establishment of Scots pine plantations of seed origin on a breeding basis. Ecological problems of the North, 5: 72–85 (in Russian).

Popov, V. Ya. and Zharikov, V. M. 1973. The methods of selection and early diagnosis of hereditary properties of pine and spruce plus trees. Guidelines. Arkhangelsk, AIL i LKH, 40 p. (in Russian).

Popov, V. Ya. and Zharikov, V. M. 1977. The recommendations for the creation of permanent pine seed plantations on a tree improvement basis (for research and production testing). Arkhangelsk, AIL i LKH, 12 p. (in Russian).

Romanovskii, M. G. and Morozov, G. P. 2019. Cotyledons of seedlings and embryos of conifers. Russian Journal of Forest Science (Lesovedenie), 6: 573–579 (in Russian).

Sanitary Forests Regulations in Ukraine. 2016. [Electronic resource]. Resolution of the Cabinet of Ministers of Ukraine No 756 dated 26 October 2016. Available at: <http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/555-95-п> (accessed 15.09.2022) (in Ukrainian).

Seeds of trees and shrubs. Methods for seed testing (germination, viability, seed quality). DSTU 8558:2015 [State Standard of Ukraine]. 2017. Valid from 1 January 2017. Kyiv, DP UkrNDNTS, 91 p. (in Ukrainian).

Shoferistova, Ye. G. 1973. On the method of staining chromosomes and pollen. Botanical journal, 58 (7): 1011–1012 (in Russian).

Skipars, V. 2011. Genetic aspects of resistance of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) against root rot caused by *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. Summary of the doctoral thesis for the scientific degree Dr. silv. in Forest Ecology and Silviculture.

Tereshchenko, L. I., Samoday, V. P., Los, S. A. 2011. The results of the study of the first in Ukraine progeny tests of Scots pine. Forestry and Forest Melioration, 118: 128–136 (in Ukrainian).

Torosova, L. O. 2008. Dynamics of mitotic activity of meristem cells of western larch (*Larix occidentalis*) needles. Forestry and Forest Melioration, 113: 206–209 (in Ukrainian).

Torosova, L. O. 2012. The mitotic activity of meristems of vegetative bud cells of the English oak (*Quercus robur* L.). Forestry and Forest Melioration, 120: 70–74 (in Ukrainian).

Ulusan, M. D. and Bilir, N. 2008. Broad-sense heritability for seedling characters and its importance for breeding in Scots pine. [Electronic resource]. Sdü fen edebiyat fakültesi fen dergisi (e-dergi), 3(2): 133–138. Available at: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/116270> (accessed 15.09.2022).

Ustskiy, I. M. 2017. Features of root system structure in the foci of root rot caused by *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. Forestry and Forest Melioration, 131: 187–193 (in Ukrainian).

Ustskiy, I. M., Dyshko, V. A., Mykhaylichenko, O. A. 2019. Peculiarities of seed germination and seedling growth of Scots pine trees with different root rot resistance. Forestry and Forest Melioration, 134: 154–161 (in Ukrainian). <https://doi.org/10.33220/1026-3365.134.2019.154>

Dyshko V. A., Ustskiy I. M., Torosova L. O.

EARLY DIAGNOSIS OF SCOTS PINE TREES FOR RESISTANCE TO ANNOSUM ROOT ROT

Ukrainian Research Institute of Forestry and Forest Melioration named after G. M. Vysotsky

The paper outlines the results of morphological and cytological studies of the seed material of Scots pine trees, which have different health condition and grow in the disease foci in the stands affected by annosum root rot (“conditionally resistant”, “affected”, control) in the Kharkiv Forest Research Station. Seed weight and germination, mitotic activity of root apical meristem cells as well as a number of cotyledons of seedlings were studied. The seeds of “conditionally resistant” trees had a larger average weight of 1,000 seeds compared to “affected” ones (by 18.5%). They were not inferior to “affected” ones by their germination energy (65 and 64%, respectively). The study confirmed the stability of the mitotic activity level in the root cells of the seedlings grown from the seeds of “conditionally resistant” trees and its higher intensity. For “conditionally resistant” trees, the findings showed a higher total share of seedlings with six or more cotyledons compared to “affected” and control trees (84.6%, 75.9% and 80.7%, respectively). The obtained results indicate the possibility of using the applied methods for early diagnosis for resistance to annosum root rot damage of young Scots pine trees that have started the reproduction.

Key words: germinated seeds, mitotic activity of cells, number of cotyledons, annosum root rot.

E-mail: valya_dishko@ukr.net

Одержано редколегією 27.09.2022