

КВИТКО О.В., МУРАТОВА Е.Н., БАЖИНА Е.В.

Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН

Россия, 660036, г. Красноярск, Академгородок, e-mail: kvitko_olga@ksc.krasn.ru

КАРИОТИПИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ПИХТЫ СИБИРСКОЙ В СРЕДНЕЙ СИБИРИ

Генетические ресурсы основных лесобразующих хвойных Сибири и Дальнего Востока изучены недостаточно (Ирошников, 1998; Милютин, 1998, 2006). Кариологические исследования являются составной частью изучения генетических ресурсов и необходимы для использования генофонда мирового разнообразия хвойных. За последние годы были проведены обширные кариологические исследования сибирских видов хвойных. Среди них намного лучше изучены представители родов *Pinus*, *Picea* и *Larix*. Среди представителей рода *Abies* изучение кариотипического разнообразия проводилось только для пихты сибирской. Однако, учитывая обширный ареал данного вида, это исследование нельзя считать завершенным, поскольку оно охватывает лишь несколько популяций *A. sibirica* из Казахстана и Сибири (Бударагин, 1972, 1974; Муратова, Матвеева, 1996; Седельникова, Пименов, 2005; Квитко, 2006).

Материалы и методы

Материалом для исследований служили семена пихты сибирской, собранные в пяти популяциях Средней Сибири. Две равнинные популяции расположены в Енисейском (окрестности д. Плотбище, 100 м над ур. м.) и Козульском (ст. Веселая, 300 м над ур. м.) районах Красноярского края. Также в исследование были включены низкогорная популяция из Восточного Саяна (Березовский район, территория заповедника «Столбы», долина р. Каменка, 520-550 м над ур. м.) и две разновысотные популяции из Западного Саяна (Ермаковский район, окрестности пос. Танзыбей, 400 м над ур. м., и окрестности метеостанции «Оленья речка», 1500 м над ур. м.).

Кариологические исследования проводились на меристематических тканях кончиков корешков проросших семян. Предварительная обработка материала, фиксация, окрашивание и приготовление препаратов производились по стандартным для хвойных методикам (Правдин и др., 1972; Муратова, 1995а, б). Проросшие семена предварительно обрабатывали 1% водным раствором колхицина в течение 4-6 ч для разрушения веретена деления и сокращения хромосом. В качестве фиксатора использовали уксуснокислый этанол (3 части 96% этилового спирта и 1 часть ледяной уксусной кислоты). Окрашивание производили 1% ацетогематоксилином в течение 24 ч при комнатной температуре. Перед окрашиванием материал выдерживали в 4% растворе железосамонийных квасцов в течение 10-15 мин. Временные давленные препараты готовили по стандартной методике. Анализ ядрышек в интерфазных ядрах проводился по методике Е. Н. Муратовой (1995б). Окрашивание материала производили 50% раствором азотнокислого серебра (AgNO_3) в течение 5-6 ч при температуре 60°C. После этого корешки промывали водой и готовили давленные препараты стандартным способом в капле 2% ацетокармина. Для подсчета ядрышек анализировали не менее 1000 интерфазных ядер для каждого местопроизрастания.

Для характеристики кариотипа использовали следующие признаки: соматическое число хромосом ($2n$); абсолютную длину хромосом (L^a , мкм); суммарную длину хромосом набора (ΣL^a , мкм); относительную длину ($L^r, \%$ – отношение абсолютной длины хромосомы к суммарной длине набора); центромерный индекс ($I^c, \%$ – отношение абсолютной длины короткого плеча к длине всей хромосомы); локализацию вторичной перетяжки ($sc, \%$ – отношение расстояния от центромеры до перетяжки к длине плеча). Для изучения изменчивости морфометрических параметров хромосом применен метод построения поликариограмм (Павулсоне и др., 1970).

Классификацию хромосом по центромерному индексу производили согласно рекомендациям В. Г. Грифа и Н. Д. Агаповой (1986).

Результаты и обсуждение

В диплоидном наборе пихты сибирской содержится 24 хромосомы ($2n=2x=24$). Во всех изученных популяциях зарегистрированы геномные мутации типа миксоплоидии, такие проростки составляли 9,1-14,6% и содержали единичные тетраплоидные ($2n=48$), триплоидные ($2n=36$) и анеуплоидные ($2n=25, 27, 40$) клетки. Впервые у пихты сибирской был обнаружен случай соматической редукции хромосом: 2 проростка из заповедника «Столбы» содержали единичные гаплоидные ($2n=12$) клетки. Здесь же был обнаружен триплоидный проросток, все клетки которого содержали 36 хромосом. Морфометрический анализ выявил наличие тройного набора морфологических типов хромосом, присущих гаплоидному набору. Вероятно, данное семя сформировалось при слиянии редуцированной и нередуцированной гамет, образовавшейся в результате нарушения мейоза одного из родителей.

Суммарная длина хромосомного набора (ΣL^a) у пихты сибирской варьирует от 250,6 до 459,7 мкм. Изученные популяции характеризуются сходными морфометрическими параметрами хромосом. С помощью поликариограммного метода хромосомы диплоидного набора пихты удалось разделить на четыре группы со сходными параметрами. Длинные метацентрические хромосомы образуют две группы, включающие I-V и VI-VII пары. Наиболее четко эти группы видны на поликариограммах пихты из двух популяций Западного Саяна, на остальных графиках облака точек частично перекрываются. Субметацентрические хромосомы VIII-XII пар более короткие. В пределах данной группы отдельно идентифицируются только две пары хромосом: VIII пара отличается от остальных хромосом более крупными размерами, IX пара выделяется по значению центромерного индекса. Согласно рекомендациям В. Г. Грифа и Н. Д. Агаповой (1986) хромосомы IX пары были классифицированы как интерцентрические. Остальные субметацентрики X-XII пар образуют группу со сходными параметрами.

Полученные данные в целом согласуются с результатами исследований других популяций данного вида (Бударагин, 1972, 1974; Муратова, Матвеева, 1996; Седельникова, Пименов, 2005). Однако были обнаружены некоторые различия. В частности, метацентрические хромосомы I-VII пар во всех работах показаны как гомеоморфная группа со сходными параметрами, VI-VII пары хромосом не выделялись. В кариотипе пихты сибирской из Казахстана выделены только I-VII пары метацентрических и VIII-XII пары субметацентрических хромосом (Бударагин, 1972, 1974). В кариотипе пихты из Томской области отдельно идентифицированы VIII и XII пары хромосом (Муратова, Матвеева, 1996; Седельникова, Пименов, 2005). Отдельно идентифицировать хромосомы XII пары в настоящем исследовании не удалось, поэтому они были включены в группу X-XII.

В качестве дополнительного маркера для идентификации отдельных пар гомологичных хромосом использовались вторичные перетяжки. Исследования показали, что во всех изученных местопроизрастаниях постоянные вторичные перетяжки (с частотой встречаемости более 50%) наблюдались только на метацентрических хромосомах (три в группе I-V и одна в группе VI-VII). Непостоянные вторичные перетяжки с более низкой частотой встречаемости (20-50 %) были отмечены у 1-2 метацентрических хромосом I-V пар. Нуклеолярные субметацентрические хромосомы наблюдались в 26,8-42,1 % метафазных пластинок только в трех популяциях из высокогорья Западного Саяна (район интенсивного усыхания пихты) и заповедника «Столбы» (район техногенного загрязнения). Возможно, в этих популяциях под давлением стрессовых факторов произошла активизация слабых ядрышковых организаторов, что позволило им перейти в разряд основных. Кроме того, отличие горных популяций от равнинных может свидетельствовать о дифференцировке кариотипа пихты сибирской в различных условиях произрастания. Число ядрышек в

интерфазных ядрах в популяциях пихты сибирской из Енисейского, Козульского и Березовского районов варьирует от 1 до 8, в Ермаковском районе - от 1 до 12. Наиболее часто встречались клетки, содержащие 4 и 5 ядрышек, что соответствует количеству постоянных вторичных перетяжек.

В результате исследований по средним значениям абсолютной длины и центромерного индекса с учетом выделенных на поликариограмме групп хромосом и распределения вторичных перетяжек построена сравнительная идиограмма пихты сибирской (рис.). Вторичные перетяжки с частотой встречаемости более 50 % показаны неокрашенным блоком, от 20 до 50 % - черным блоком.

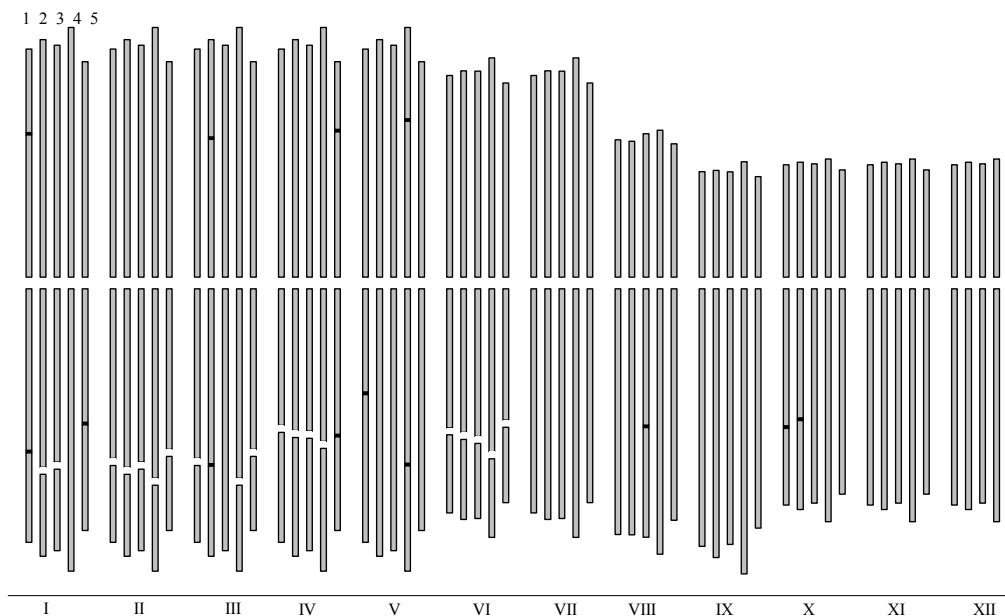


Рисунок. Идиограмма пихты сибирской из Средней Сибири: 1- долина Каменка, Березовский район; 2 – окр. пос. Танзыбей, Ермаковский район; 3 – окр. метеостанции «Оленья речка», Ермаковский район; 4 – окр. д. Плотбище, Енисейский район; 5 – ст. Веселая, Козульский район Красноярского края. I-XII – номера хромосом.

Таким образом, проведенные исследования выявили низкий уровень кариологического полиморфизма пихты сибирской в Средней Сибири, что согласуется с данными, полученными с помощью методов биохимической генетики (Экерт, 2006; Lagionova et al., 2007). Кариотипы изученных популяций различаются по количеству нуклеолярных районов и особенностям их локализации, по числу ядрышек в интерфазных ядрах. Горные популяции характеризуются большим количеством нуклеолярных хромосом, а также увеличением частоты встречаемости геномных мутаций. Наибольшая степень дифференциации отдельных пар гомологичных хромосом в пределах кариотипа установлена в высокогорной популяции пихты из Западного Саяна.

Литература

1. Бударагин В.А. Кариотип пихты сибирской Казахстанского Алтая // Цитология. – 1972. – Т.14, № 1. – С. 130-133.
2. Бударагин В.А. Кариотип пихты сибирской Джунгарского Алатау // Леса и древесные породы Северного Казахстана. – Л.: Наука, Ленингр. отд-ние, 1974. – С. 81-84.
3. Гриф В.Г., Агапова Н.Д. К методике описания кариотипов растений // Ботанический журнал. – 1986. – Т. 71, № 4. – С. 550-553.
4. Ирошников А.И. Состояние и проблемы сохранения генетического фонда древесных пород в лесах России / А. И. Ирошников // Программы сохранения и постоянного воспроизводства лесных генетических ресурсов в новых независимых

- государствах бывшего СССР: М-лы сов. Беловежа, Беларусь. Зволен: Арбора Публiшерс и Межд. Ин-т раст. генет. ресурсов, Рим, 1998. - С. 37-41
5. Квитко О.В. Кариологическое исследование *Abies sibirica* Ledeb. в низкогорье Восточного Саяна // Чтения памяти Л.М. Черепнина. Матер. Четвертой Российской конф. «Флора и растительность Сибири и Дальнего Востока». Краснояр. гос. пед. ун-т. - Т.2. - Красноярск, 2006. - С. 161-165.
 6. Милютин Л.И. Лесные генетические ресурсы Восточной Сибири // Программы сохранения и постоянного воспроизводства лесных генетических ресурсов в новых независимых государствах бывшего СССР: М-лы сов. Беловежа, Беларусь. Зволен: Арбора Публiшерс и Межд. Ин-т раст. генет. ресурсов. - Рим, 1998. - С. 67-69.
 7. Милютин Л.И. Лесные генетические ресурсы Северо-Восточной Азии // Лесные экосистемы северо-восточной Азии и их динамика: матер. межд. конф. – Владивосток: Дальнаука, 2006. – С. 208-210.
 8. Муратова Е.Н. Кариосистематика семейства *Pinaceae* Lindl. Сибири и Дальнего Востока: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. – Новосибирск, 1995а. – 32 с.
 9. Муратова Е.Н. Методики окрашивания ядрышек для кариологического анализа хвойных // Ботан. журн. – 1995б. – Т. 80, № 2. – С. 82-86.
 10. Муратова Е.Н., Матвеева М.В. Кариологические особенности пихты сибирской в различных условиях произрастания // Экология. – 1996. – № 2. – С. 96-102.
 11. Павулсоне С.А., Иорданский А.Б., Гиндилис В.М. 1970. Сравнительно-морфометрический анализ хромосом *Allium cepa* и *A. fistulosum* // Генетика. – 1970. – Т. 6, № 2. – С. 40-55.
 12. Правдин Л.Ф., Шершукова О.П., Абатурова Г.А. Кариологические исследования хвойных древесных пород // Научные основы селекции хвойных пород. – М.: Наука, 1972. – С. 45-65.
 13. Седельникова Т.С., Пименов А.В. Кариологическое изучение болотной и суходольной популяции пихты сибирской (*Abies sibirica* Ledeb.) // Известия РАН. Сер. биол. – 2005. – № 1. – С. 23-29.
 14. Экарт А.К. Эколого-генетический анализ популяций пихты сибирской (*Abies sibirica* Ledeb.): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Красноярск, 2006. – 20 с.
 15. Larionova A. Ya., Ekart A. K., Kravchenko A. V. Genetic Diversity and Population Structure of Siberian fir (*Abies sibirica* Ledeb.) in Middle Siberia, Russia // Eurasian J. of Forest Research. – 2007. – Vol. 10-2. – P. 165-192.

Резюме

Проведено исследование структуры кариотипа пихты сибирской (*Abies sibirica* Ledeb.) в пяти популяциях Средней Сибири. Хромосомный набор ($2n=24$) содержит 7 пар метацентрических (I-V, VI-VII), 4 пары субметацентрических (VIII, X-XII) и 1 пару интерцентрических (IX) хромосом. Постоянные вторичные перетяжки наблюдаются на 4 парах метацентрических хромосом, что соответствует среднему количеству ядрышек в интерфазных ядрах. У пихты сибирской отмечены геномные мутации типа миксоплоидии, обнаружен триплоидный проросток.

The *Abies sibirica* karyotype structure in five populations of Middle Siberia was studied. Chromosome set ($2n=24$) consist of 7 pairs of metacentric (I-V, VI-VII), 4 pairs of submetacentric (VIII, X-XII) and 1 pair of intercentric (IX) chromosomes. The constant secondary constrictions occur in 4 pairs of metacentric chromosomes contain that correspond to average number of nucleoli in interphase nucleus. The genome mutations (mixoploidy) were registered; the triploid seedling of *Abies sibirica* was found.