

Авторы выражают благодарность сотрудникам Института биологии Уфимского научного центра РАН канд. биол. наук А.А. Мулдашеву, канд. биол. наук Н.В. Масловой, канд. биол. наук А.Х. Галеевой за предоставленный материал.

Список литературы

- Васильченко И.Т. Род Остролодочник – *Oxytropis* DC. // Флора европейской части СССР. Л., 1987. Т.6. С.169.
- Гриф В.Г., Агапова Н.Д. К методике описания кариотипов растений // Бот. журн. 1986. Т.71, №4. С.550–553.
- Зайцев Г.Н. Методика биометрических расчетов. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. М.: Наука, 1973. 256 с.
- Красная книга Республики Башкортостан. Т.1. Редкие и исчезающие виды высших сосудистых растений. Уфа: Китап, 2001. 237 с.
- Лавренко А.Н, Сердитов Н.П., Улле З.Г. Числа хромосом некоторых видов цветковых растений Урала (Коми АССР) // Бот. журн. 1990. Т.75, №11. С.1622–1624.
- Мамаев С.А. Формы внутривидовой изменчивости древесных растений (на примере семейства *Pinaceae* на Урале). М.: Наука, 1973. 284 с.
- Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. М.: Колос, 1980. 304 с.
- Филиппов Е.Г., Куликов П.В., Князев М.С. Числа хромосом видов рода *Oxytropis* (Fabaceae) на Урале // Бот. журн. 1998. Т.83, №6. С.138–139.
- Yakovlev G.P., Sytin A.K., Roskov Yu. R. Legumens of Norten Eurasia. Kew, 1996. 724 p.

УДК 575.8:631.529(470.324)

КАРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ *PICEA PUNGENS* ENGELM. В УСЛОВИЯХ ИНТРОДУКЦИИ

Е.В. Богданова

Воронежский государственный университет,
394006, г. Воронеж, Университетская пл., 1; e-mail: gen185@bio.vsu.ru

Анализируя состав древесно-кустарниковых пород зеленых насаждений г. Воронежа, можно видеть, что многие из них являются адвентами или интродуцентами, в том числе и ель колючая – *Picea pungens* Engelm. Ель колючая интродуцирована в Воронежскую область из Канады. Происхождение этого вида – Северная Америка, Скалистые Горы, где он растет на высоте до 3000 метров. Из высаженных в городе интродуцентов абори-

генами Европы являются 13% всех насаждений, а Северной Америки – 20% (Григорьевская, Попова, 2007). В центре г. Воронежа создано очень красивое насаждение ели колючей. Деревья в целом находятся в хорошем состоянии. В выборке, представленной 50 экземплярами, некоторые обильно формируют шишки и семена, у других же наблюдается разная степень переходного состояния по этому признаку вплоть до полного отсутствия семеношения. Перспективность использования данного вида, исключительно декоративного в городских озеленительных насаждениях, побудила нас изучить возможные цитогенетические механизмы его устойчивости к условиям Воронежской области, что могло бы способствовать направленному получению высокоустойчивых форм. Этот вид ценится лесоводами не только за декоративность, обеспечиваемую строго ярусной архитектурой и голубой окраской хвои, но и за такие особо важные, именно в городских условиях признаки, как морозо- и ветроустойчивость, а также за толерантность к запыленности, задымленности и сухости воздуха.

Материал и методика

Объектом исследования был древесный вид-интродуцент: ель колючая – *Picea pungens* Engelm. Материалом для кариологических исследований служили вегетативные почки индивидуальных деревьев или корешки проростков семян популяционных сборов. Побег ели колючей с вегетативными почками срезали в январе–феврале месяце, пока в соматических клетках хвои еще не начались деления. Побег помещали в сосуд с водопроводной водой, под полиэтиленовый пакет, и выдерживали в комнатных условиях до того момента, когда начинал четко просматриваться конус нарастания. Затем почки отчленяли, разрезали вдоль и помещали в бюкс с 1%-ным раствором колхицина. Семена проращивали в чашках Петри на влажной фильтровальной бумаге в термостате при $t + 25^{\circ}\text{C}$. Проростки с корешками семян до 1 см также подвергали предобработке 1%-ным водным раствором колхицина. Затем материал тщательно промывали дистиллированной водой и фиксировали спиртово-уксусной смесью (3 части 96° этилового спирта + 1 часть ледяной уксусной кислоты) 1 сутки. Изготовление давленных препаратов осуществляли по методике Топильской с соавт., (1976). Микропрепараты изучали при помощи микроскопа LABOVAL-4 (Carl Zeiss, Jena) при увеличении $40 \times 2,5 \times 10$.

Результаты и их обсуждение

Изучение кариотипа ели колючей в клетках меристемы хвои выполнено впервые. Анализ 500 метафазных пластинок ели (от 40 до 60 по каждому дереву) показал, что они имели сходный кариотип, представленный

9 парами метацентрических, 2 парами субметацентрических и 1 парой акроцентрических хромосом. Количество ядрышек варьировало от 3 до 12 на 1 клетку. 10–12 ядрышек встречалось в интерфазных клетках редко, преобладающее их число соответствовало 7–8, что свидетельствует о преимущественной активности 4 пар нуклеолярных хромосом в кариотипе ели колючей в норме. Из 10 исследованных деревьев ели колючей 8 имели по 1 В-хромосоме дополнительно к типичному для этого вида набору хромосом ($2n = 24 + 1В$) во всех исследованных клетках, а у 2 других В-хромосом не было обнаружено ни в одной метафазной пластинке. Зато в единичных случаях у них наблюдались, наряду с диплоидными, тетраплоидные клетки ($2n = 4x = 48$). Частота встречаемости диплоидных клеток составляла 96,2%, а тетраплоидных – 3,8% от числа учтенных метафаз.

Семеношение у всех деревьев было очень слабым, а у деревьев без В-хромосом практически отсутствовало. У деревьев с В-хромосомами формировались гроздья шишек, но большинство завязавшихся семян оказались пустыми, а из 150 более или менее выполненных проросло только 4. Один проросток вскоре погиб, у другого вообще не удалось обнаружить делящихся клеток, у третьего во всех делящихся клетках было обнаружено по 1 В-хромосоме ($2n = 24 + 1В$), у четвертого в каждой клетке установлено по 2 В-хромосомы ($2n = 24 + 2В$).

В-хромосомы, наблюдаемые в меристематической ткани кончиков корешков проростков и в соматических клетках хвои, заметно отличаются от А-хромосом, составляя по величине около 1/3 их длины. Это самые короткие хромосомы типа метацентриков и слабосубметацентриков.

Изученные процессы пролиферации в соматических клетках хвои у ели показали, что состояние генома в их клетках может быть разным. При этом частота встречаемости клеток с числом хромосом, отличным от диплоидного набора, и уровень их пloidности могут варьировать. Миксоплоидия обеспечивает лабильность меристемы (Sivolapov, Vlagodarova, 1997), так как является гибким механизмом, регулирующим дозы генов, определяющих устойчивость вида. Миксоплоидия характерна для многих дикорастущих и культурных растений. Среди покрытосеменных древесных растений миксоплоидия распространена чаще, чем у наиболее древней группы древесных растений – голосеменных. Тем не менее миксоплоидные формы были обнаружены у сосны, ели, лиственницы (Круклис, 1971; Муратова, 1978; Буторина и др., 1987). Это, как правило, слабожизнеспособные формы. Однако известно, что присутствие В-хромосом увеличивает генетическую вариабельность вида и тем самым способствует повышению адаптационных возможностей организмов (Владимирова, Муратова, 2005).

Ранее нами была высказана гипотеза о формировании В-хромосом у ели колючей. Согласно нашей гипотезе, участок плеча А-хромосомы, отчлененный в области вторичной перетяжки, как достаточно непрочного

района хромосомы, может превратиться в метацентрическую В-хромосому путем образования изохромосомы, поскольку ядрышкообразующие районы хромосом обладают определенной кинетохорной активностью, подавляемой в присутствии центромеры (Буторина, Богданова, 2001). Позже в работе Рубцова и Бородина (2002) методом FISH с использованием ДНК-зондов было экспериментально установлено, что В-хромосомы азиатской лесной мыши *Apodemus peninsulae* являются изохромосомами, но образующимися из плеч А-хромосом, разделенных по центромере.

Первые сведения о добавочных хромосомах были получены при помощи методов светового микроскопирования. Однако в последнее время для исследования В-хромосом, наряду с традиционными методами цитогенетики, широко применяют методы молекулярной биологии. Благодаря использованию современных методов были дополнены и расширены сведения о природе, механизмах возникновения и эволюции В-хромосом. Возможно, что у разных организмов добавочные хромосомы возникли разными способами (Jamilena et al., 1994; Sharbel et al., 1998 и др.). В пользу гипотезы о мутантном происхождении В-хромосом в результате структурных перестроек А-хромосом Владимировой (2002) приводятся данные о том, что хромосомные мутации (дицентрические и кольцевые хромосомы, ацентрические кольца) обнаружены в тех популяциях ели, в которых найдены добавочные хромосомы. Тем не менее, несмотря на расширение спектра методов исследования, вопрос о происхождении В-хромосом до сих пор остается открытым.

Таким образом, большинство из изученных деревьев ели колючей в городском насаждении имели В-хромосомы и выжившие проростки их семян также содержали добавочные хромосомы. Это позволяет предположить, что в стрессовых для данного вида условиях, созданных интродукцией и антропогенным воздействием, присутствие В-хромосом обеспечивает безусловный адаптивный успех самим деревьям, создавая предпосылки для проявления их репродуктивной способности, нарушенной такими условиями, и повышает жизнеспособность у их потомства. По-видимому, в сложных экологических условиях с помощью В-хромосом у данного вида осуществляется особый тип регуляции действия генов (путем гетерохроматизации значительной части хроматина ядра) и тем самым обеспечивается большая вариабельность популяции. Это представляет как теоретический интерес, так и безусловный практический с точки зрения отбора форм с В-хромосомами, способными передавать этот признак потомству, и выделения семян с В-хромосомами, как наиболее перспективных для выращивания на загрязненных территориях. Устойчивость деревьев без В-хромосом в соматических клетках хвои определяется оптимальным соотношением клеток разной пloidности.

Список литературы

- Буторина А.К., Дерюжкин Р.И., Мурая Л.С. и др. Цитологические особенности гетерозисной лиственницы // Лесоведение. 1987. №4. С.82–86.
- Буторина А.К., Богданова Е.В. Адаптивное значение и возможное происхождение В-хромосом у ели колючей // Цитология. 2001. Т.43, №8. С.809–814.
- Григорьевская А.Я., Попова О.С. Интродукция и акклиматизация древесно-кустарниковых пород в городе Воронеже // Антропогенное влияние на флору и растительность: Материалы II науч.-практ. регион. конф. Липецк, 2007. С.160–165.
- Владимирова О.С. Добавочные хромосомы хвойных (на примере представителей рода *Picea* A. Dietr.): Автореф. дис. ... канд. биол. наук / Ин-т леса им. В.Н. Сукачева СО РАН. Красноярск, 2002. 23 с.
- Владимирова О.С., Муратова Е.Н. Кариологические особенности ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.) в условиях антропогенного загрязнения г. Красноярска // Экологическая генетика. 2005. Т.III, №1. С.18–23.
- Круклис М.В. Кариологические особенности *Picea obovata* // Лесоведение. 1971. №2. С.76–84.
- Муратова Е.Н. Кариотипы кедровых сосен // Цитология. 1978. Т.20, №8. С.972–976.
- Рубцов Н.Б., Бородин П.М. Эволюция хромосом: от А до В и обратно // Природа. 2002. №3. С.59–66.
- Топильская Л.А., Лучникова С.В., Чувашина Н.П. Методика приготовления ацетогематоксилиновых препаратов // Цитологические исследования плодовых и ягодных культур. Мичуринск, 1976. С.58–60.
- Jamilena M., Ruiz Rejon C., Ruiz Rejon M. A molecular analysis of the *Crepis capillaries* B chromosome // J. Cell Sci. 1994. Vol.107. P.703–708.
- Sharbel T.F., Green D.M., Houben A. B-chromosome origin in the endemic New Zealand frog *Leiopelma hochstetteri* through sex chromosome devolution // Genome. 1998. Vol.41. P.14–22.
- Sivolapov A.I., Blagodarova T.A. Different levels of mixoploidy in hybrid poplars // Cytogenetic studies of forest trees and shrub species. Zagreb: Hrvatske šume; Šumarski fakultet Sveučilišta, 1997. P. 311–316.

УДК 581.143.6

СОХРАНЕНИЕ И УСКОРЕННОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ
ПИОНА УКЛОНЯЮЩЕГОСЯ МЕТОДОМ ЭМБРИОКУЛЬТУРЫ**А.А. Зарипова**

Ботанический сад-институт Уфимского научного центра РАН,
450080, г. Уфа, ул. Полярная, 8; e-mail: zaripova.al@mail.ru

Пион уклоняющийся, *Paeonia anomala* L. (сем. Раеониасеае) – редкое лекарственное растение, находящееся под угрозой исчезновения, численность особей которого уменьшилась до критического уровня (Мулдашев и