

СЕДЕЛЬНИКОВА Т.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки, Институт леса им. В.Н. Сукачева Сибирского отделения Российской академии наук,
Российская Федерация, 660036, г. Красноярск, Академгородок, 50/28, e-mail: tss@ksc.krasn.ru

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЧИСЛА ХРОМОСОМ КАК ФАКТОР МИКРОЭВОЛЮЦИИ И АДАПТАЦИИ ХВОЙНЫХ

Отдел хвойные (Pinophyta) является самым многочисленным из современных голосеменных и включает более 600 видов из 68 родов 8 разных семейств [1]. Хвойные в основном развивались на диплоидном уровне. Большинство родов в семействе сосновые (Pinaceae Spreng. ex F. Rudolphi) – ель (*Picea* A. Dietr.), лиственница (*Larix* Mill.), пихта (*Abies* Mill.), сосна (*Pinus* L.) – диплоиды, содержащие 24 хромосомы ($2n = 2x = 24$). Исключение составляет псевдотсуга Мензиса (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) из рода лжетсуга (*Pseudotsuga* Carr.), являющаяся диплоидом с числом хромосом $2n = 26$, что обусловлено возможным происхождением данного вида от другого представителя Pinaceae, имеющего 24 хромосомы в результате хромосомной перестройки. Роды туя (*Thuja* L.), кипарис (*Cupressus* L.), кипарисовик (*Chamaecyparis* Spach) и другие в семействе кипарисовые (Cupressaceae Bartl.) также представляют собой диплоиды, включающие 22 хромосомы ($2n = 2x = 22$) [2].

Полиплоидия у хвойных – относительно редкое явление: лишь 1,5% из них являются полиплоидными или имеют полиплоидные расы. Среди видов семейства Pinaceae природных полиплоидов нет (долгое время полиплоидным видом с $2n = 44$ считалась золотая лиственница (*Pseudolarix amabilis* (Nels.) Rehd.) из рода лжелиственница (*Pseudolarix* Gord.), однако исследование структуры ее кариотипа позволило установить, что данный вид произошел от предка с $2n = 12$ в результате центрального деления 10 хромосомы). Естественные полиплоиды у хвойных встречаются только в семействе Cupressaceae. Это можжевеловидный китайский (*Juniperus chinensis* L. ‘Pfitzeriana’) из рода можжевеловидный (*Juniperus* L.), являющийся аллотетраплоидом ($2n = 4x = 44$), а также фицройя кипарисовидная (*Fitzroya cupressoides* (Mol.) Johnst.) из монотипного рода фицройя (*Fitzroya* Hook. fil), представляющая собой автотетраплоид ($2n = 4x = 44$). Единствен-

ным природным гексаплоидом ($2n = 6x = 66$) среди хвойных, вероятно, возникшим в результате гибридизации двух, а возможно и трех, диплоидных видов, является представитель монотипного рода секвойя (*Sequoia* Endl.) – секвойя вечнозеленая (*Sequoia sempervirens* (Lamb.) Endl.) [2–4].

Возникновение полиплоидов и миксоплоидов у голосеменных, в том числе у хвойных, может происходить в результате соматической редукции хромосом, их неразъединения, элиминации или удвоения на ранних стадиях эмбриогенеза, асинхронного деления центромеры, образования диплоидных пыльцевых зерен, а также обуславливаться другими причинами. Все существующие попытки объяснения сравнительно редкой встречаемости полиплоидов у хвойных базируются на гипотезах, высказанных еще в 30–50-х годах XX в.: наличие высокой частоты интерстициальных хиазм в мейозе, отсутствие двойного оплодотворения (хотя и не у всех видов), изменение ядерно-плазменных отношений из-за увеличения количества ДНК, экоспецифическая дифференциация между совместимыми таксонами и вероятность высокого уровня межвидовой гибридизации [3, 5].

Рассматривая происхождение и эволюцию видов рода *Pinus*, Ауя и Нил [6], не исключают, что сосны, возможно, являются древними полиплоидами, возникшими в результате реализации следующих сценариев: 1) гибридизации между некоторыми предковыми видами, близкородственными соснам, с последующим одним циклом полиплоидизации и, затем, диплоидизацией; 2) одним циклом автополиплоидизации в предполагаемом сосновом предке с последующей диплоидизацией; 3) крупных сегментных дупликаций в предполагаемом сосновом предке с последующим расхождением последовательностей ДНК.

Несмотря на ограниченную встречаемость полиплоидии среди современных хвойных, в се-

мействах кипарисовые, сосновые, подокарповые (*Podocarpaceae* Endl.), таксодиевые (*Taxodiaceae* Warm.), тиссовые (*Taxaceae* S.F. Gray) встречаются анеуплоидия (нарушение плоидности) и миксоплоидия, или полисоматия (наличие в одной ткани, наряду с диплоидными, клеток разного уровня плоидности). У некоторых видов в хромосомных наборах отдельных деревьев содержатся добавочные, или В-хромосомы [2, 3, 7, 8]. В последние годы получено много новых данных об изменениях чисел хромосом хвойных и их возможной роли в процессах микроэволюции и адаптации у представителей данной группы растений. В настоящем сообщении приводится анализ проведенных автором исследований чисел хромосом в популяциях видов семейств *Pinaceae* и *Cupressaceae* в широком диапазоне условий их произрастания.

Материалы и методы

Исследование чисел хромосом проводилось в популяциях хвойных из семейств *Pinaceae* (10 видов и 1 межвидовой гибрид) и *Cupressaceae* (4 вида), произрастающих в оптимальных условиях и в экотопах с различной степенью экстремальности. Семенной материал для исследований собирался в России, Украине, Болгарии, Чехии, Казахстане. Для анализа чисел хромосом использовались меристематические ткани кончиков корней. Семена проращивали в чашках Петри. Затем проростки подвергались предфиксационной обработке 1% р-ром колхицина в течение 4–6 часов. После промывания производилась фиксация проростков спиртово-уксусной смесью (3:1). Проростки окрашивались 1% р-ром железозацетогематоксилина. Для просмотра использовались «давленные» препараты, приготовленные стандартным способом: исследуемый кончик корешка помещался на предметное стекло в 65% р-р хлоралгидрата и раздавливался под покровным стеклом. Препараты просматривали под микроскопом *Axiostar plus* (Carl Zeiss) в проходящем свете. Хромосомы подсчитывали в метафазных пластинках с полным набором хромосом и их хорошим разбросом, при необходимости фотографировали в иммерсионной системе (окуляр $\times 10$, объектив $\times 90$).

Результаты и обсуждение

Миксоплоиды, или химеры, содержащие, кроме диплоидных, триплоидные и (или) тетраплоидные клетки ($2n = 24, 36$; $2n = 24, 48$; $2n = 24, 36, 48$), и единичные анеуплоиды ($2n = 25$) обна-

ружены в семенном потомстве сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), сосны сибирской кедровой (*Pinus sibirica* Du Tour), ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.), лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.), пихты сибирской (*Abies sibirica* Ledeb.), произрастающих в экстремальных болотных экотопах Западной Сибири в Томской обл. Миксоплоиды ($2n = 24, 36$; $2n = 24, 48$; $2n = 24, 36, 48$) выявлены среди семенного потомства сосны обыкновенной, сосны горной (*Pinus mugo* Turra), сосны черной (*Pinus nigra* Arnold), а также ели европейской (*Picea abies* (L.) Karst.) из горных массивов Пирин, Рила, Западные Родопы (Болгария) и Крконоше (Чехия). Максимально высокий для хвойных уровень миксоплоидии с наличием, наряду с диплоидными, гипоанеуплоидных, гиперанеуплоидных, триплоидных и тетраплоидных клеток в различных их сочетаниях ($2n = 19, 20, 24, 48$; $2n = 21, 23, 24, 27$; $2n = 24, 25, 36$; $2n = 24, 36$; $2n = 24, 36, 48$; $2n = 24, 48$) отмечен в семенном потомстве субарктической расы лиственницы сибирской на северной границе ареала вида, в зоне влияния выбросов металлургических предприятий г. Норильск (Красноярский край), в условиях исключительного суммарного воздействия естественной и антропогенной экстремальности [4, 5].

Увеличение изменчивости числа хромосом хвойных наблюдается при их интродукции, что, вероятно, является следствием акклиматизации и адаптации растений в новых условиях произрастания. Миксоплоиды ($2n = 24, 36$; $2n = 24, 48$; $2n = 24, 36, 48$) выявлены в семенном потомстве сосны обыкновенной за южными пределами ее ареала на границе сухостепной и полупустынной природных зон в окр. г. Калач-на-Дону (Волгоградская обл.), а также в парковых насаждениях г. Ессентуки (Ставропольский край). Миксоплоиды, содержащие гиперанеуплоидные, триплоидные и тетраплоидные клетки ($2n = 24, 25$; $2n = 24, 36$; $2n = 24, 48$; $2n = 24, 25, 48$), встречаются среди семенного потомства сосен, интродуцированных в дендрарии «Софронка» в окрестностях г. Пльзень в Чехии: сосны приморской (*Pinus pinaster* Aiton), сосны горной древовидной (*Pinus uncinata* Mill. ex Mirb.), межвидового гибрида сосны скрученной и сосны Банка (*Pinus contorta* Dougl. ex Loud. \times *Pinus banksiana* Lamb.). У видов семейства *Cupressaceae* – туи восточной (*Thuja orientalis* L.), кипарисовика Лавсона (*Chamaecyparis lawsoniana* (A. Murr.) Parl.) и кипариса арizonского (*Cupressus arizonica* Greene) при их интродукции в дендрарии Лесотехниче-

ского университета (г. София) и ряде регионов Болгарии (гг. Благоевград, Кюстендил, Априлци; окр. с. Петково; горные массивы Рила и Средние Родопы; лесхоз «Рильский монастырь»), а также туи западной (*Thuja occidentalis* L.), интродуцированной в Национальном дендрологическом парке «Софиевка» в г. Умань в Украине, обнаружена миксоплоидия ($2n = 22, 33$; $2n = 22, 44$; $2n = 22, 33, 44$). Частота миксоплоидов в семенном потомстве видов семейства Cupressaceae очень высокая. Так, у туи восточной в отдельных случаях отмечено до 100% миксоплоидных проростков, у туи западной – до 57% [5, 9].

Отклонения от диплоидного числа хромосом у хвойных, как правило, сопровождаются морфологическими (фенотипическими) аномалиями и модификациями роста и габитуса деревьев. Произрастающие в условиях природной экстремальности на болотах Западной Сибири и на южной границе ареала в Южном Забайкалье деревья сосны обыкновенной с нарушениями роста и развития – «ведьмиными метлами», карликовостью, наростами, «плакучестью» кроны – являются миксоплоидами, а также формируют миксоплоидное потомство [5, 10]. Представляется перспективным исследование чисел хромосом у деревьев с «ведьмиными метлами» – фрагментами кроны дерева с нарушением апикального контроля роста побегов, вызываемым соматической мутацией, поскольку такие растения используются в качестве селекционного материала для получения декоративных форм и культиваров (например, известно, что популярные в культуре карликовые формы ели европейской ‘Globosa’ и ‘Tabuliformis’ представляют собой «ведьмины метлы»). При исследовании семенного потомства деревьев сосны обыкновенной с «ведьмиными метлами», произрастающих на олиготрофных болотах Томской области, установлено, что эти растения являются химерами: наряду с диплоидным числом хромосом ($2n = 24$) у них была обнаружена миксоплоидия ($2n = 24, 36, 48$), причем встречаемость триплоидных и тетраплоидных клеток достигала 83% на проросток [11]. Ранее при изучении сосны обыкновенной с «ведьминой метлой» наблюдали клетки с гипоанеуплоидным ($2n = 13, 16, 21$) и гаплоидным ($2n = 12$) числами хромосом [12]. Проведено исследование числа хромосом у экземпляра лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.), несущего «ведьмину метлу», из окрестностей пос. Туим Ширинского района Республики Хакасия. В семенном потомстве особи с «ведьминой

метлой» выявлены химеры, в клетках которых наряду с диплоидным ($2n = 24$) содержится гипоанеуплоидное число хромосом ($2n = 21, 22, 23$; $2n = 22, 24$; $2n = 23, 24$).

Исследованы числа хромосом в семенном потомстве морфологических форм лиственницы сибирской из 2 происхождений этого вида в Ширинском районе Республики Хакасия (окрестности пос. Туим, Марчелгаш). Изученные деревья различаются по морфологическим особенностям женской генеративной сферы – крупношишечная и мелкошишечная формы, форма, несущая шишки с выступающими кроющими чешуями, кустовидная форма. Семенное потомство всех перечисленных форм представляет собой миксоплоиды, содержащие, кроме диплоидных ($2n = 24$), триплоидные или тетраплоидные клетки ($2n = 24$; $2n = 24, 33$; $2n = 24, 48$).

В обзорах [2–5] приводятся данные разных авторов о том, что единично с очень низкой частотой встречающиеся в питомниках полиплоидные и анеуплоидные экземпляры видов семейства Pinaceae, достигшие взрослого возраста, характеризуются изменениями морфологических признаков растений. Такие деревья отличаются от нормальных карликовым ростом, густой и компактной формой кроны, более длинной и толстой хвоей, большими размерами пыльцевых зерен и клеток. Значительная вариабельность хромосомных чисел наблюдается в семействе Podocarpaceae, представители которого отличаются разнообразием жизненных форм. Полученные в результате селекции формы и культивары видов Cupressaceae часто имеют измененное число хромосом, представляя собой анеуплоиды и химеры. Например, среди культиваров туи гигантской (*Thuja gigantea* Nutt. var. *gracilis* Beissn.) и туи западной встречаются миксоплоидные деревья, некоторые расы и сорта можжевельника китайского с различной окраской хвои и разнообразной формой кроны являются триплоидами или тетраплоидами [3]. Отдельные сорта криптомерии японской (*Cryptomeria japonica* (L. fil.) D. Don.) из рода криптомерия (*Cryptomeria* D. Don.) – ‘Kamiukena-6’, ‘Urusebaru’ – представляют собой триплоиды [7]. Исследованные нами культивары туи западной – ‘Lutea’, ‘Wareana’, ‘Wareana Lutescens’, ‘Globosa’ – из Национального дендрологического парка «Софиевка», отличающиеся по высоте, форме кроны, окраске хвои, являются миксоплоидами [9].

У некоторых видов хвойных в хромосомных наборах отдельных деревьев содержатся

добавочные, или В-хромосомы. В популяциях хвойных появление и увеличение числа и концентрации В-хромосом может быть связано с неблагоприятными факторами произрастания. У видов рода *Larix* В-хромосомы впервые были найдены в популяции лиственницы Гмелина (*Larix gmelinii* (Rupr.) Rupr.) в Восточной Сибири в условиях резкоконтинентального климата и в норильской популяции лиственницы сибирской на северо-восточной границе ареала в зоне техногенного загрязнения. У представителей рода *Picea*, в котором особенно распространены В-хромосомы ($2n = 24 + 1-6B$), их встречаемость повышается на границах ареалов и на экологических пределах произрастания видов [8]. Добавочные хромосомы ($2n = 24 + 1-4B$) обнаружены в популяциях ели сибирской в болотных экотопах Западной Сибири, впервые для видов – в высокогорных популяциях ели тянь-шаньской (*Picea shrenkiana* Fisch. et C.A. Mey.) на хребте Кунгей Алатау в Казахстане и ели обыкновенной на юго-западной границе ареала в Западных Родапах в Болгарии. В отдельных случаях добавочные хромосомы у ели сибирской выявлены в тетраплоидных клетках ($2n = 48 + 1B$) [4, 13].

Известно, что вариабельность числа хромосом в значительной степени отражает особенности проявления изменчивости структуры генома растений, при этом онтогенетическая полиплоидия вызывает каскад генетических и эпигенетических изменений, активацию транспозиции мобильных генетических элементов, вследствие чего возникают множественные дубликации, изменяются экспрессия генов и количество ДНК [14–16]. Онтогенетические вариации числа хромосом в соматических клетках, по всей вероятности, могут увеличивать адаптивный потенциал растений в неблагоприятных условиях произрастания, поскольку сочетание клеток разной плоидности повышает изменчивость генома. При этом полиплоидизация клеток в онтогенезе может быть связана с приобретением ими специфических особенностей, отсутствующих у диплоидных клеток, которые создают новые предпосылки для действия факторов естественного отбора [16]. В целом прослеживается общая тенденция увеличения числа хромосом у растений

в соответствии с ухудшением температурных условий произрастания. Так, установлено, что среднее значение числа хромосом сосудистых растений флор северного полушария достоверно возрастает по мере увеличения географической широты местопроизрастания видов [17].

Предполагается, что у хвойных растения с измененным числом хромосом – миксоплоиды и анеуплоиды – являются «источниками» генетического материала в процессе возникновения хромосомных перестроек [2]. Миксоплоидия, по мнению некоторых авторов, обеспечивает устойчивость хвойных к стрессовым условиям среды [18]. Функциональное влияние В-хромосом, представляющих собой элементы В-генома, в настоящее время оценивается с точки зрения их возможного адаптивного значения. Предполагается, что эффекты присутствия В-хромосом, в образовании которых, очевидно, играют роль мобильные генетические элементы, обуславливают рост уровня изменчивости генома и повышение полиморфизма популяций растений, в том числе хвойных, при воздействии стрессовых факторов [19].

Выводы

Анализ собственных результатов и данных, полученных другими исследователями, показывает существование определенного тренда, проявляющегося в увеличении уровня изменчивости хромосомных чисел (наличии миксоплоидии, анеуплоидии, присутствии В-хромосом) в семенном потомстве видов хвойных в соответствии с усилением экстремальности температурных и эдафических условий их произрастания – на экологических пределах распространения, по мере увеличения высотной поясности, на южных и северных границах ареалов и за их пределами, в зонах антропогенного влияния и при интродукции. Хромосомная нестабильность, сопряженная с формовым разнообразием хвойных, возникновением морфологических аномалий и модификаций роста и габитуса деревьев, может рассматриваться как отражение совокупности генетических преобразований в процессах микроэволюции и адаптации данной группы растений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Farjon A. World Checklist and bibliography of conifers. – The Royal Botanic Garden, Kew, 1998.
2. Ahuja M.R. Polyploidy in gymnosperms: revisited // *Silvae Genet.* – 2005. – 54, № 2. – P. 59–69.
3. Муратова Е.Н., Круклис М.В. Полиплоидия, анеуплоидия и гаплоидия у голосеменных растений // *Цитол. и генет.* – 1982. – № 6. – С. 56–66.
4. Sedelnikova T.S. Variability of genome size in conifers under extreme environmental conditions // *Biol. Bull. Rev.* – 2016. – 6, № 2. – P. 177–188.
5. Sedelnikova T.S., Muratova E.N., Pimenov A.V. Variability of chromosome numbers in gymnosperms // *Biol. Bull. Rev.* – 2011. – 1, № 2. – P. 100–109.
6. Ahuja M. R., Neale D. Evolution of genome size in conifers // *Silvae Genet.* – 2005. – 54, № 3. – P. 126–137.
7. Муратова Е.Н., Круклис М.В. Хромосомные числа голосеменных растений. – Новосибирск: Наука, 1988. – 117 с.
8. Муратова Е.Н. В-хромосомы голосеменных // *Успехи соврем. биол.* – 2000. – 120, № 5. – С. 452–465.
9. Седельникова Т.С., Пименов А.В., Грабовой В.Н., Пономаренко В.А. Числа хромосом культиваров *Thuja occidentalis* (Cupressaceae) в Национальном дендрологическом парке «Софиевка» // *Ботанический журнал.* – 2014. – 99, № 8. – С. 941–944.
10. Muratova E.N., Sedelnikova T.S. Karyotypic variability and anomalies in populations of conifers from Siberia and Far East // *Cytogenetic Studies of Forest Trees and Shrubs – Review, Present Status, and Outlook on the Future. Special issue of the Forest Genetics.* – Zloven, 2000. – P. 129–141.
11. Седельникова Т.С., Муратова Е.Н. Кариологическое изучение *Pinus sylvestris* (Pinaceae) с «ведьминой метлой», растущей на болоте // *Ботан. журн.* – 2001. – 86, № 12. – С. 50–60.
12. Буторина А.К., Белозерова М.М., Пожидаева И.М., Мурая Л.С., Хатунцева Л.Н. Значение кариологических исследований для эффективного подбора пар при гибридизации и для ранней оценки гибридного потомства // Тезисы докладов научной конференции «Состояние и перспективы развития лесной генетики, селекции, семеноводства и интродукции. Методы селекции древесных пород». – Рига, 1974. – С. 185–187.
13. Tashev A.N., Sedelnikova T.S., Pimenov A.V. Supernumerary (B) chromosomes in populations of *Picea abies* (L.) H. Karst. from Western Rhodopes (Bulgaria) // *Cytol. and Genet.* – 2014. – 78, № 3. – P. 160–165.
14. Murray B.G. When does intraspecific C-value variation become taxonomically significant? // *Ann. of Bot.* – 2005. – 95. – P. 119–125.
15. Патрушев Л.И., Минкевич И.Г. Проблемы размера геномов эукариот // *Успехи биол. химии.* – 2007. – 47. – С. 293–370.
16. Кунах В.А. Пластичность генома соматических клеток и адаптивность растений // *Молекулярн. и прикладн. генет.* – 2011. – 12. – С. 7–14.
17. Peruzzi L., Góralski G., Joachimiak A.J., Bedini G. Does actually mean chromosome number increase with latitude in vascular plants? An answer from the comparison of Italian, Slovak and Polish floras // *Comp. Cytogen.* – 2012. – 6, № 4. – P. 371–377.
18. Буторина А.К. Факторы эволюции кариотипов древесных // *Успехи соврем. биол.* – 1989. – 108, вып. 3 (6). – С. 342–357.
19. Кунах В.А. Додаткові або В-хромосоми рослин. Походження і біологічне значення // *Вісн. Українськ. тов. генетиків і селекціонерів.* – 2010. – 8, № 1. – С. 99–139.

SEDELNIKOVA T.S.

V.N. Sukachev Institute of Forest SB RAS,

Russia, 660036, Krasnoyarsk, Akademgorodok, 50/28, e-mail: tss@ksc.krasn.ru

VARIABILITY OF CHROMOSOME NUMBERS AS FACTOR OF MICROEVOLUTION AND ADAPTATION OF CONIFERS

Aim. Analysis of investigations of chromosome numbers in populations of coniferous species in wide range of their growing conditions are presented. **Methods.** Chromosome numbers studied in metaphase cells with a complete set of chromosomes in root tip meristems. **Results.** Study of chromosome numbers in populations of conifers from Pinaceae (10 species and 1 interspecific hybrid) and Cupressaceae (4 species) families growing under optimal conditions and from ecotopes with different level of extremality. Seed material were collected in the territory of Russia, Ukraine, Bulgaria, Czech Republic, Kazakhstan. **Conclusions.** There is some trend manifested in availability of mixoploidy, aneuploidy, an increasing of variability degree of chromosome numbers, presence of B chromosomes in seed progeny of conifers according to the strengthening of extreme temperature and edaphic conditions of their habitat – in the ecological limits of species propagation, with increasing altitudinal zones, on the southern and northern boundaries of the areas inside and outside, in the areas of human influence and at introductions.

Keywords: chromosome numbers, coniferous species, extreme conditions.