

УДК 576.316 : 582.572.225 (470.55/.58)

## ИЗУЧЕНИЕ КАРИОЛОГИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ *ALLIUM HYMENORHIZUM* LEDEB. В УСЛОВИЯХ ЮЖНОГО УРАЛА И БАШКИРСКОГО ПРЕДУРАЛЬЯ

© 2018 А.Г. Кутуева<sup>1</sup>, Н.А. Калашник<sup>1</sup>, Н.В. Маслова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Южно-Уральский ботанический сад-институт – обособленное структурное подразделение  
Федерального государственного бюджетного научного учреждения

Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук

<sup>2</sup>Уфимский Институт биологии – обособленное структурное подразделение

Федерального государственного бюджетного научного учреждения

Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук

Статья поступила в редакцию 04.10.2018

Проведено изучение кариологической изменчивости редкого реликтового вида *Allium hymenorhizum* Ledeb. на примере популяций из Южного Урала и Башкирского Предуралья. Установлено, что число хромосом в соматической ткани исследуемого вида  $2n=16$ , хромосомы средних размеров, метацентрического и субметацентрического типов, на трех парах встречаются вторичные перетяжки. Изменчивость кариологических показателей характеризуется очень низким, низким и средним значением коэффициента вариации. Значимые различия между популяциями наблюдаются по относительной длине 1 и 8 пар, центромерному индексу 5 пары, по абсолютной длине хромосом различия незначимы.

**Ключевые слова:** *Allium hymenorhizum*, реликтовый вид, кариотип, популяционная изменчивость, Башкирское Предуралье, Южный Урал.

Лук плевокорневищный *Allium hymenorhizum* Ledeb. (сем. Alliaceae) – редкое растение Южного Урала и Предуралья, плейстоценовый реликт азиатского происхождения. Реликтовые популяции вида в Республике Башкортостан (РБ) весьма малочисленны и уязвимы [1], вследствие чего вид включен в «Красную книгу РБ» [2] отнесен к категории 1 (вид, находящийся под угрозой исчезновения). Основной его ареал располагается на Алтае (Россия, Монголия), он встречается также в горах Казахстана и Средней Азии [3]. На Южном Урале вид произрастает исключительно на пойменных солончаковатых лугах в верхнем течении р. Таналык (правый приток р. Урал) и в истоках р. Сапсал (левый приток р. Сакмара). В этом районе выявлено шесть пунктов произрастания вида. В четырех пунктах вид находится на грани вымирания [2, 1]. Также выявлен новый пункт произрастания вида в Башкирском Предуралье – Благоварский район, окр. д. Новоконстантиновка [4]. Вид охраняется на территории ботанического памятника природы «Популяция

лука плевокорневищного у д. Богачево» [4], проводится контроль над его популяциями и работы по увеличению их численности и созданию искусственных популяций в местах естественного произрастания вида [1, 2, 4].

Для разработки мероприятий по охране *A. hymenorhizum* необходимо дальнейшее комплексное изучение этого вида, в том числе с применением методов кариологического анализа. Кариологические исследования *A. hymenorhizum* проводились на территории Памиро-Алая [5-7], Казахстана [8], Алтайского края [9, 10], Таджикистана [11]. На территории Южного Урала и Башкирского Предуралья кариологических исследований *A. hymenorhizum* до настоящего времени не проводилось, в связи с чем, они являются очень актуальными. Цель настоящей работы – изучение кариологической изменчивости *A. hymenorhizum* на примере популяций Южного Урала и Башкирского Предуралья.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материал для исследования был собран в 2017 г. в интродукционном питомнике редких и исчезающих растений флоры Южного Урала Уфимского Института биологии, находящегося на территории Южно-Уральского ботанического сада-института (г. Уфа). Происхождение образцов: 1) РБ, Баймакский р-н, окр. д. Бахтигареево (Южный Урал), интродуцирован живыми растениями в 2008 г.; 2) РБ, Благоварский р-н, окр. с. Новоконстантиновка (Башкирское Пред-

Кутуева Алия Галеевна, аспирант.

E-mail: alia-cutueva@mail.ru

Калашник Надежда Александровна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории генетики и биотехнологии растений. E-mail: kalash.ufa@mail.ru

Маслова Наталья Владимировна, кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории геоботаники и растительных ресурсов. E-mail: maslovanv-ib-ufa@mail.ru

уралье), интродуцирован живыми растениями в 2014 г. Далее образцы (популяции) для удобства называем по месту их происхождения (Бахтигареево, Новокопстантиновка). Семена для кариологических исследований были получены путем самоопыления и искусственного перекрестного опыления внутри каждой популяции с использованием изоляторов.

Кариологические исследования проводили на давленных микропрепаратах [12]. В качестве материала использовали меристематическую ткань кончиков корешков проростков семян. Семена проращивали при комнатной температуре в лабораторных условиях. По достижении корешками длины 10-15 мм их переносили в чашку Петри на фильтровальную бумагу, смоченную 0,2 %-ным раствором колхицина, где они находились 4-5 ч. Затем корешки промывали дистиллированной водой в течение 1-2-х минут, избыток влаги удаляли фильтровальной бумагой и фиксировали их в смеси спирт – уксусная кислота (3:1) в течение 24 ч. Окрашивание материала проводили в 1 %-ном водном растворе ацетогематоксилина в течение 2–2,5 ч в термостате при температуре 60°C. Давленные микропрепараты исследовали под микроскопом БИМАМ Р-13, с использованием объектива х40, окуляра х7, насадки х2,5. По каждой популяции исследовали 30 метафазных пластинок.

Кариологический анализ проводили по В.Д. Туркову с соавторами [13]. В результате исследований определяли числа хромосом, морфометрические параметры хромосом, а также морфометрические типы хромосом, согласно классификации В.Г. Грифа и Н.Д. Агаповой [14]. Для каждой хромосомы определяли следующие параметры:  $L^a$  – абсолютную длину хромосомы (сумма длин короткого и длинного плеча), мкм;  $I^c$  – центромерный индекс (отношение абсолютной длины короткого плеча хромосомы к абсолютной длине всей хромосомы), %;  $L^r$  – относительную длину хромосомы (отношение длины хромосомы к суммарной длине диплоидного набора хромосом), %;  $sc$  – локализацию вторичной перетяжки (отношение длины от центромеры до перетяжки к общей длине плеча) и частоту встречаемости вторичных перетяжек, %. Для каждой метафазной пластинки определяли:  $2n$  – число хромосом на диплоидный набор;  $\sum L^a$  – суммарную длину диплоидного набора хромосом (сумма абсолютных длин всех хромосом диплоидного набора), мкм. По каждой паре хромосом находили средние значения и коэффициенты вариации всех морфометрических параметров.

Расчет основных статистических характеристик выполнен по стандартной методике, сравнение средних значений показателей проведено по критерию Стьюдента [15]. Степень варьирования изучаемых признаков определяли

по шкале уровней изменчивости С.А. Мамаева [16]: очень низкий ( $CV < 7$  %), низкий ( $CV = 8-12$  %), средний ( $CV = 13-20$  %), повышенный ( $CV = 21-30$  %), высокий ( $CV = 31-40$  %), очень высокий ( $CV > 40$  %). Определяли коэффициенты вариации, характеризующие изменчивость:  $CV$ , % – по выборке,  $CV_{cp}$ , % – среднее значение коэффициентов вариации признаков во всех выборках (внутрипопуляционная изменчивость),  $CV_{MCP}$ , % – вычисленный по среднему значению признака (межпопуляционная изменчивость).

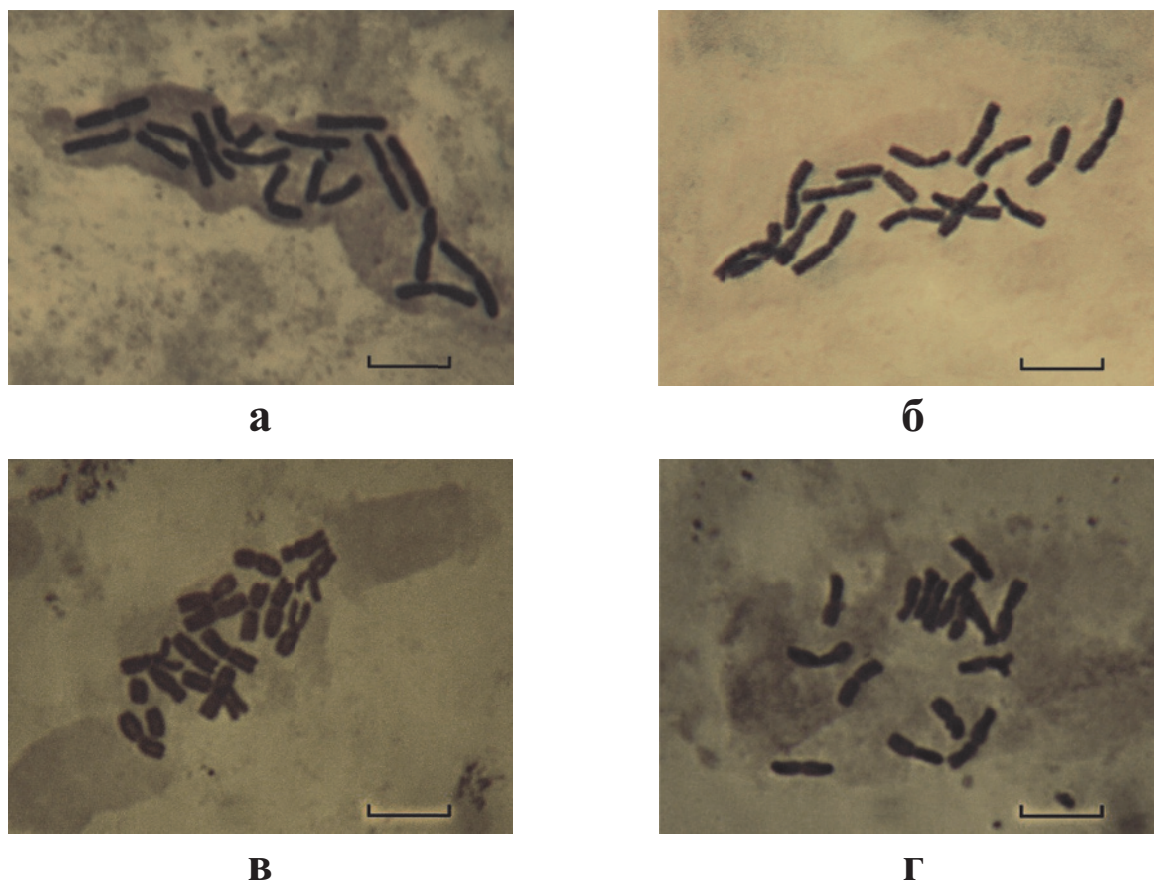
## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для *A. hymenorhizum* исследованных популяций установлено соматическое число хромосом  $2n=16$ . Микрофотографии метафазных пластинок представлены на рисунке 1, примеры систематизированных хромосомных наборов представлены на рисунке 2.

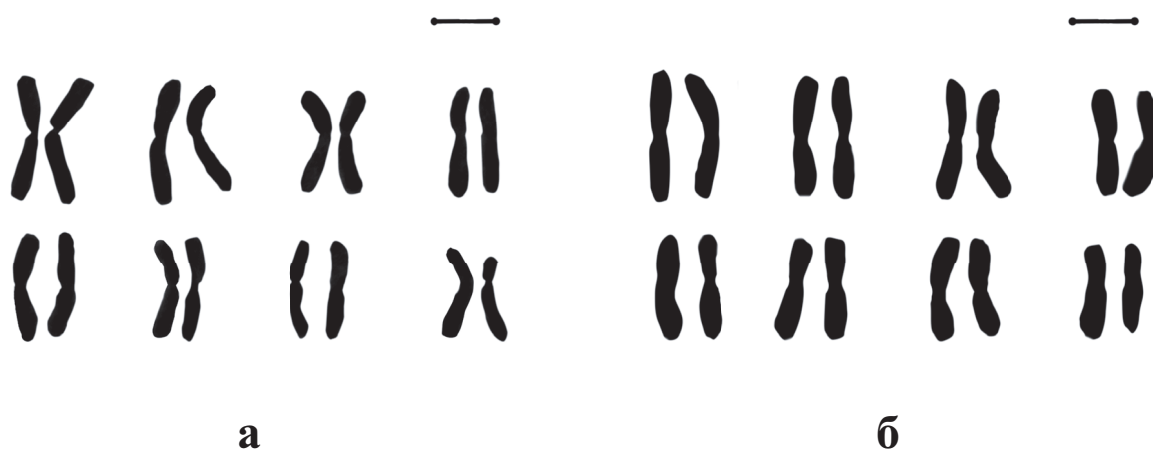
В результате статистической обработки морфометрических параметров хромосом 30 метафазных пластинок каждой популяции установлено, что размеры хромосом в популяции Бахтигареево варьируют в пределах от  $6,39 \pm 0,12$  до  $9,28 \pm 0,17$  мкм, в популяции Новокопстантиновка – от  $6,05 \pm 0,15$  до  $9,24 \pm 0,21$  мкм. Относительная длина хромосом в популяции Бахтигареево варьирует от  $5,18 \pm 0,03$  до  $7,52 \pm 0,04$ , в популяции Новокопстантиновка от  $5,05 \pm 0,05$  до  $7,70 \pm 0,05$ . Центромерный индекс хромосом в популяции Бахтигареево варьирует от  $39,73 \pm 0,80$  до  $46,44 \pm 0,32$ , в популяции Новокопстантиновка от  $40,87 \pm 0,67$  до  $47,11 \pm 0,23$  (табл. 1). Средняя суммарная длина диплоидного набора хромосом ( $2n$ ) в популяции Бахтигареево составляет  $123,37 \pm 3,17$  мкм, в популяции Новокопстантиновка –  $119,92 \pm 3,91$ .

Также установлено, что 1-7 пары хромосом метацентрического типа ( $I^c > 40$ ), а 8 пара хромосом субметацентрического типа ( $30 < I^c < 40$ %). На хромосомах метафазных пластинок обнаружены вторичные перетяжки. В частности, в популяции Бахтигареево вторичные перетяжки обнаружены на коротких плечах второй ( $sc=63,31$ ), третьей ( $sc=54,50$ ) и восьмой ( $sc=43,73$ ) пар хромосом с частотой встречаемости 10,0%, 3,3%, 13,3%, соответственно, а в популяции Новокопстантиновка – на коротком плече только восьмой пары ( $sc=50,00$ ) с частотой встречаемости 10,0%. Идиограммы кариотипов исследуемых популяций, составленные по средним морфометрическим параметрам хромосом, представлены на рисунке 3.

Изменчивость кариологических показателей характеризуется очень низким, низким и средним значением коэффициента вариации. В обеих популяциях по абсолютной длине хромосом наблюдается средний коэффициент вариации



**Рис. 1.** Микрофотографии метафазных пластинок *Allium hymenorhizum*:  
а, б – Бахтигареево; в, г – Новоконстантиновка. Масштабная линейка равна 10 мкм



**Рис. 2.** Хромосомные наборы *Allium hymenorhizum*:  
а – Бахтигареево; б – Новоконстантиновка. Масштабная линейка равна 4 мкм

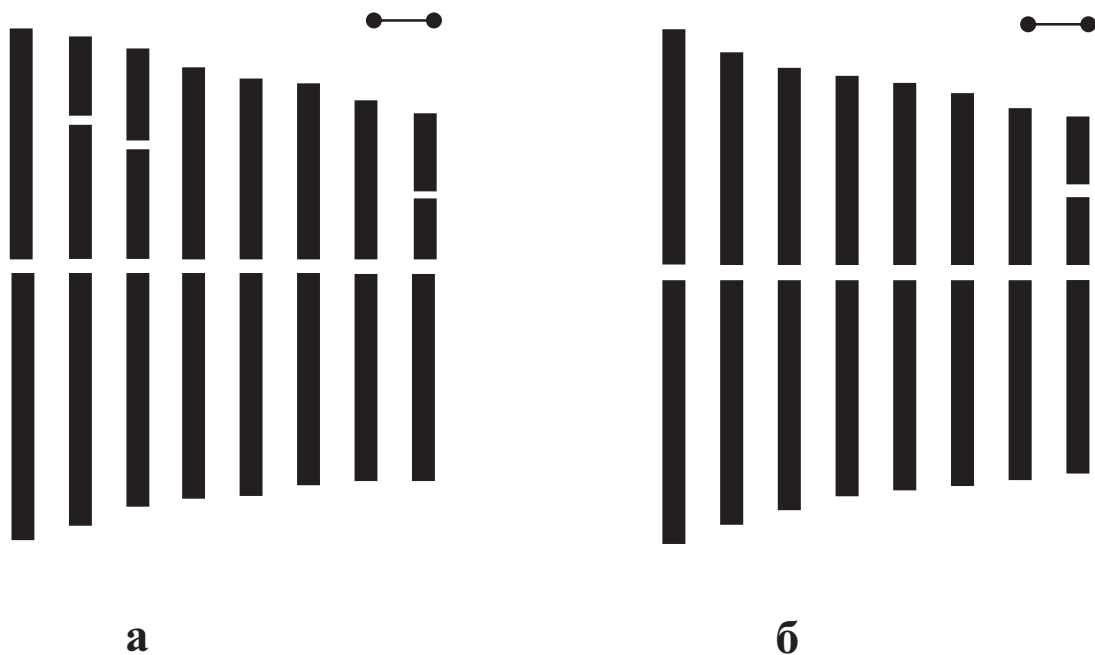
ции, по относительной длине хромосом - очень низкий и низкий коэффициент вариации, а по значению центромерного индекса хромосом - очень низкий, низкий и средний коэффициент вариации. По результатам исследования внутривидовая изменчивость по всем морфометрическим параметрам хромосом превышает межвидовую (табл. 1, 2). Суммарная длина диплоидного набора хромосом в популяции Бахтигареево варьирует от 88,44 до

164,67 мкм, в популяции Новоконстантиновка - от 84,81 до 163,68 мкм, коэффициент вариации этого показателя в обеих популяциях имеет средний уровень изменчивости и составляет 14,06 % и 17,84 % соответственно.

Оценка различия популяций с использованием критерия Стьюдента показала, что значимые различия по относительной длине хромосом наблюдаются по 1 и 8 парам, а по центромерному индексу по 5 паре хромосом,

**Таблица 1.** Морфометрические параметры хромосом *Allium humentorum*

№ пары хромосом	Абсолютная длина (L <sup>a</sup> ), мкм		Относительная длина (L <sup>r</sup> ), %		Центромерный индекс (I <sup>c</sup> ), %	
	M±m	CV, %	M±m	CV, %	M±m	CV, %
Бахтигареево						
1	9,28±0,17	14,02	7,52±0,04	4,18	46,44±0,32	5,39
2	8,64±0,16	14,38	7,01±0,03	3,87	45,56±0,47	7,96
3	8,06±0,15	13,98	6,54±0,03	3,05	46,08±0,28	4,76
4	7,78±0,15	14,67	6,30±0,02	2,50	46,01±0,38	6,39
5	7,51±0,14	14,19	6,09±0,02	3,03	44,81±0,51	8,80
6	7,23±0,13	14,26	5,85±0,02	3,19	45,30±0,35	6,05
7	6,81±0,13	14,93	5,51±0,02	3,48	43,46±0,68	12,20
8	6,39±0,12	14,10	5,18±0,03	4,70	39,73±0,80	15,67
Новоконстантиновка						
1	9,24±0,21	17,84	7,70±0,05	4,65	47,11±0,23	3,78
2	8,46±0,20	18,65	7,07±0,06	6,11	46,53±0,30	4,93
3	7,90±0,19	18,56	6,58±0,03	3,11	46,14±0,29	4,86
4	7,49±0,18	18,27	6,24±0,03	3,36	46,68±0,26	4,33
5	7,25±0,17	17,72	6,05±0,03	3,27	46,45±0,27	4,46
6	6,98±0,16	18,01	5,82±0,03	3,74	45,43±0,41	6,96
7	6,59±0,16	18,23	5,49±0,03	4,35	43,88±0,56	9,86
8	6,05±0,15	18,75	5,05±0,05	8,27	40,87±0,67	12,75



**Рис. 3.** Идиограммы кариотипов *Allium humentorum*: а – Бахтигареево; б – Новоконстантиновка. Масштабная линейка равна 1 мкм

по абсолютной длине хромосом различия незначимы (табл. 3).

Полученные нами результаты показали, что число хромосом и структура кариотипа, исследуемых популяций, в целом, совпадают с описанием кариотипа этого вида, произрастающего в других частях ареала. Так, определенное нами число хромосом в исследуемых популяциях (2n=16) соответствует большинству проведен-

ных ранее исследований [5-7, 9, 10]. Исключением является популяция Заилийского Алатау, в которой выявлено число хромосом 2n=32 [8].

Длина отдельных хромосом и хромосомных наборов в исследованиях, проведенных другими авторами ранее несколько выше, чем в результатах, полученных нами, что может быть объяснено различиями в предобработке материала, которая могла повлиять на спирали-

**Таблица 2.** Изменчивость морфометрических показателей хромосом *Allium hutenorhizum* в исследуемых популяциях

Диапазоны варьирования и средние значения CV, % в сравниваемых популяциях				Внутри- и межпопуляционные средние значения CV, %	
Бахтигареево		Новокопстантиновка		CV <sub>ср</sub>	CV <sub>Мср</sub>
CV (min-max)	CV <sub>ср</sub>	CV (min-max)	CV <sub>ср</sub>		
Абсолютная длина хромосом (L <sup>а</sup> )					
13,98-14,93	14,32	17,72-18,75	18,25	16,28	2,01
Относительная длина хромосом (L <sup>г</sup> )					
2,50-4,70	3,50	3,11-8,27	4,61	4,05	0,00
Центромерный индекс хромосом (I <sup>с</sup> )					
4,76-15,67	8,40	3,78-12,75	6,49	7,44	1,12

**Таблица 3.** Результаты оценки различий исследованных популяций *Allium hutenorhizum* по морфометрическим параметрам хромосом

№ пары хромосом	Критерий Стьюдента t <sub>факт 1-2</sub>		
	L <sup>а</sup>	L <sup>г</sup>	I <sup>с</sup>
1	0,142	2,927*	1,693
2	0,702	0,853	1,751
3	0,691	1,073	0,139
4	1,244	1,696	1,469
5	1,174	1,251	2,846*
6	1,186	0,955	0,234
7	1,083	0,485	0,471
8	1,823	2,135*	1,091

Примечание. Цифрами отмечены сравниваемые популяции:

1 – Бахтигареево, 2 – Новокопстантиновка; \* - различия достоверны ( $t_{теор} = 2,002$  при  $p = 0,05$ ).

зацию хромосом. При сравнении результатов наших исследований с результатами, полученными ранее, наблюдается сходство по морфометрическим типам хромосом 1-7 пар, которые в обоих случаях являются метацентрическими, и различия по 8 паре, которая в наших исследованиях является субметацентрической, а в проведенных ранее исследованиях – субacroцентрической. Авторы, проведенных ранее исследований [2, 15], также описывают наличие у 8 пары большого спутника равного ширине плеча, мы же считаем, что эта пара хромосом имеет вторичную перетяжку с невысокой (10,0-13,3 %) частотой встречаемости.

### ВЫВОДЫ

1. Кариологические исследования показали, что число хромосом в соматической ткани исследуемого вида  $2n = 16$ , хромосомы средних размеров (от  $6,05 \pm 0,15$  до  $9,28 \pm 0,17$  мкм), метацентрического (1-7 пары) и субметацентрического (8 пара) типов, некоторые из них (2, 3 и 8 пары) имеют вторичные перетяжки с низкой частотой встречаемости (3,3-13,3 %).

2. Изменчивость кариологических показателей характеризуется очень низким, низким и

средним значением коэффициента вариации. Внутрипопуляционная изменчивость по всем морфометрическим параметрам хромосом превышает межпопуляционную.

3. Использование критерия Стьюдента показало, что значимые различия между популяциями наблюдаются по относительной длине 1 и 8 пар, центромерному индексу 5 пары, по абсолютной длине хромосом различия незначимы.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Опыт реинтродукции редкого реликтового вида *Allium hutenorhizum* Ledeb. (сем. Alliaceae) на Южном Урале / А.А. Мулдашев, Н.В. Маслова, А.Х. Галеева, О.А. Елизарьева // Современная ботаника в России. Тр. III Съезда РБО и конф. «Научные основы охраны и рационального использования растительного покрова Волжского бассейна». Т. 3. Охрана растительного мира. Ботаническое ресурсосведение. Культурные растения. Ботаническое образование. Тольятти: Кассандра, 2013. С. 149-150.
2. Красная книга Республики Башкортостан. Т. 1. Растения и грибы / под ред. д-ра биол. наук, проф. Б.М. Миркина. 2-е изд., доп. и перераб. Уфа: Изд-во МедиаПринт, 2011. 384 с.
3. Фризен Н.В. Род *Allium* L. // Флора Сибири. Araceae – Orchidaceae. Новосибирск: Изд-во Наука, СО, 1987. С. 55-96.

4. Мулдашев А.А., Маслова Н.В., Галеева А.Х. О находке реликтовой популяции *Allium hymenorhizum* Ledeb. (Alliaceae) в Республике Башкортостан // Флора и растительность Сибири и Дальнего Востока. Чтения памяти Л.М. Черепнина и материалы Шестой Всероссийской конференции с международным участием, посвященные 110-летию со дня рождения Л.М. Черепнина и 80-летию Гербария им. Л.М. Черепнина (KRAS). Красноярск, 2016. С. 145-150.
5. Вахтина Л.И. Числа хромосом некоторых видов лука, распространенных на территории СССР // Ботанический журнал. 1964. Т. 49. № 6. С. 870-875.
6. Вахтина Л.И. Сравнительно-кариологическое исследование некоторых видов лука секции *Rhiziridium* Don // Ботанический журнал. 1965. Т. 50. № 3. С. 387-394.
7. Закирова Р.О., Вахтина Л.И. Цитофотометрическое изучение некоторых видов лука секций *Sera* Prokh. и *Rizirideum* Don // Функциональная морфология, генетика и биохимия клетки. Вып. 16. Л., 1974. С. 67-70.
8. Вахтина Л.И., Кудряшова Г.Л. Цитотаксономические исследования некоторых видов *Allium* в Казахстане // Ботанический журнал. 1977. Т.62. № 4. С.539-547.
9. Фризен Н.В. Числа хромосом представителей семейства Alliaceae из Сибири // Ботанический журнал. 1985. Т. 70. № 7. С. 1001-1002.
10. Фризен Н.В. Луковые Сибири. Новосибирск: Изд-во Наука, Сиб. отд-ние, 1988. 185 с.
11. Friesen N., Fritsch R.M., Blattner F.R. Phylogeny and new intrageneric classification of *Allium* (Alliaceae) based on nuclear ribosomal DNA ITS sequences // *Aliso*. 2006. Vol. 22. P. 372-395.
12. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. М.: Изд-во Колос, 1980. 304 с.
13. Хромосомные исследования растений в проблемах селекции, клеточной инженерии и генетическом мониторинге / В.Д. Турков, Ю.Л. Гужов, Г.А. Шелепина [и др.]. М.: Изд-во Ун-та дружбы народов, 1988. 64 с.
14. Гриф В.Г., Агапова Н.Д. К методике описания кариотипов растений // Ботанический журнал. 1986. Т. 71. № 4. С. 550-553.
15. Зайцев Г.Н. Методика биометрических расчетов. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. М.: Изд-во Наука, 1973. 256 с.
16. Мамаев С.А. Формы внутривидовой изменчивости древесных растений (на примере семейства Pinaceae на Урале). М.: Изд-во Наука, 1973. 284 с.

#### STUDYING OF KARYOLOGICAL VARIABILITY OF *ALLIUM HYMENORHIZUM* LEDEB. IN THE CONDITIONS OF SOUTH URAL AND THE BASHKIR CIS-URALS

© 2018 A.G. Kutueva<sup>1</sup>, N.A. Kalashnik<sup>1</sup>, N.V. Maslova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>The South-Ural Botanical Garden-Institute – Subdivision of the Federal State Budgetary Scientific Institution of the Ufa Federal Research Center of Russian Academy of Sciences

<sup>2</sup>Ufa Institute of Biology – Subdivision of the Federal State Budgetary Scientific Institution of the Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences

Studying of karyological variability of a rare relict species of *Allium hymenorhizum* Ledeb is carried out on the example of populations from the South Ural and the Bashkir Cis-Urals. It was found that the number of chromosomes in the somatic tissue of the studied species is  $2n=16$ , there are chromosomes of medium size, metacentric and submetacentric types, on three pairs there are secondary constrictions. The variability of karyological parameters is characterized by a very low, low and average coefficient of variation. Significant differences between the populations are observed in the relative length of 1 and 8 pairs, in the centromeric index of 5 pairs, in the absolute length of chromosomes the differences are insignificant.

**Keywords:** *Allium hymenorhizum*, relict species, karyotype, population variability, Bashkir Cis-Urals, South Urals.

---

Aliya Kutueva, Postgraduate Student.

E-mail: alia-cutueva@mail.ru

Nadezhda Kalashnik, Candidate of Biological Sciences, Leading Research of Laboratory of Genetics and Biotechnology Plants. E-mail: kalash.ufa@mail.ru

Natalya Maslova, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Senior Research, Fellow of Laboratory of Geobotany and Plants Resources.

E-mail: maslovanv-ib-ufa@mail.ru