

Кариотипы и размеры геномов *Adonis vernalis* и *Adonis vologensis*

Е. Ю. Митренина¹, А. С. Эрст^{1, 2*}, М. В. Скапцов³, С. В. Смирнов³, Д. В. Золотов⁴,
Т. В. Леонова⁵, А. Н. Ташев⁶, С. Т. Банчева^{7, 8}, В. Ванг⁹

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Национальный исследовательский Томский государственный университет, пр. Ленина, д. 36, г. Томск, 634050, Россия
E-mail: emitrenina@gmail.com; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-8487-5714>

² Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, ул. Золотодолинская, д. 101, г. Новосибирск, 630090, Россия
E-mail: erst_andrew@yahoo.com; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-4844-0254>

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Алтайский государственный университет, пр. Ленина, д. 61, г. Барнаул, 656049, Россия
E-mail: mr.skaptsov@mail.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-4884-0768>;
E-mail: serg_sm@mail.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-9657-3959>

⁴ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт водных и экологических проблем Сибирского отделения Российской академии наук (ИВЭП СО РАН), ул. Молодежная, д. 1, г. Барнаул, 656038, Россия
E-mail: zolotov@iwep.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-3782-9819>

⁵ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова, пр. Ленина, д. 90, г. Абакан, 655017, Россия
E-mail: geoides76@mail.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-9554-9562>

⁶ Лесотехнический университет, ул. Климент Охридски, д. 10, г. София, 1797, Болгария
E-mail: altashev@mail.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-1979-2568>

⁷ Ботанический сад Академии наук Болгарии, ул. Околоврастен, д. 22, г. София, 1415, Болгария

⁸ Институт по биоразнообразию и экосистемным исследованиям Академии наук Болгарии, ул. Академика Г. Бончев, д. 23, г. София, 1113, Болгария. ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-7365-9971>

⁹ Институт ботаники Академии наук Китая, ул. Нансинкун, д. 20, Сянгиан, г. Пекин, 100093, Китай
ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-6901-6375>

* Автор для переписки

Ключевые слова: адонис, горичвет, содержание ДНК в ядре, хромосомы, Ranunculaceae, 2C-value.

Аннотация. Проведен сравнительный кариологический анализ *Adonis vernalis* и *Adonis vologensis* (Ranunculaceae) из 11 популяций России (Алтайский край, Новосибирская область, Республика Хакасия) и Болгарии. Все изученные растения в соматических клетках имели число хромосом $2n = 16$. Хромосомные наборы *A. vernalis* из Алтайского края (окрестности пос. Сибирские Огни) и Республики Хакасия (Таштыпский район), *A. vologensis* из Алтайского края (окрестности с. Чернопятово) и Болгарии (муниципалитет Каварна) представлены восемью метацентрическими и восемью субметацентрическими хромосомами. Две пары субметацентрических хромосом имеют небольшие спутники на коротких плечах. Формула кариотипов данных растений $2n = 2x = 16 = 8m + 4sm + 4sm^{sat}$. В популяции *A. vernalis* из Алтайского края выявлено растение с хромосомной перестройкой в кариотипе (нереципрокная транслокация). Эта перестройка изменила морфологию пары субметацентрических хромосом до пары метацентрических разного размера. Формула кариотипа данного растения $2n = 2x = 16 = 2n = 10m + 6sm$. Подобная перестройка ранее была найдена у *A. apennina* (*A. sibirica*) из Томской области. При помощи проточной цитометрии определено абсолютное содержание ДНК в ядре для 8 популяций адонисов. Для *A. vernalis* значения 2C-value варьировали от $18,88 \pm 1,01$ до

19,47 ± 1,17 пг, для *A. volgensis* от 16,10 ± 0,41 до 16,47 ± 0,47 пг. Значения 2C-value для *A. volgensis* и *A. vernalis* коррелируют со значениями длин диплоидного набора хромосом.

Karyotype and genome size in *Adonis vernalis* and *Adonis volgensis*

E. Yu. Mitrenina¹, A. S. Erst^{1,2*}, M. V. Skaptsov³, S. V. Smirnov³, D. V. Zolotov⁴, T. V. Leonova⁵,
A. N. Tashev⁶, S. T. Bancheva⁷, W. Wang⁸

¹ National Research Tomsk State University, Lenina Pr., 36, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Central Siberian Botanical Garden of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,
Zolotodolinskaya St., 101, Novosibirsk, 630090, Russian Federation

³ Altai State University, Lenina Pr., 61, Barnaul, 656049, Russian Federation

⁴ Institute for Water and Environmental Problems of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences
(IWEPS SB RAS), Molodezhnaya St., 1, Barnaul, 656038, Russian Federation

⁵ Katanov Khakass State University, Lenina Pr., 90, Abakan, 655017, Russian Federation

⁶ University of Forestry, Sveti Kliment Ohridski St., 10, 1797, Sofia, Bulgaria

⁷ Botanical Garden of the Bulgarian Academy of Sciences, Okolovrasten St., 22, Sofia, 1415, Bulgaria

⁸ Institute of Biodiversity and Ecosystem Research, Bulgarian Academy of Sciences,
Acad. G. Bonchev St., 23, Sofia, 1113, Bulgaria

⁹ State Key Laboratory of Systematic and Evolutionary Botany, Institute of Botany
of the Chinese Academy of Sciences, Nanxincun, 20, Xiangshan, Beijing, 100093, China

* Corresponding author

Keywords: *Adonis*, chromosomes, nuclear DNA content, Ranunculaceae, 2C-value.

Summary. The comparative karyological analysis of *Adonis vernalis* and *Adonis volgensis* (Ranunculaceae) from 11 populations from Russia (Altai Territory, Novosibirsk Region, Republic of Khakassia) and Bulgaria was carried out. The somatic chromosome number was $2n = 16$ in all studied plants. Chromosome sets of *A. vernalis* from the Altai Territory (near Sibirskiye Ogni village) and the Republic of Khakassia (Tashtipskiy District), *A. volgensis* from the Altai Territory (near Chernopyatovo village) and Bulgaria (Kavarna Municipality) consist of eight metacentric and eight submetacentric chromosomes. Two pairs of submetacentric chromosomes had small satellites in short arms. The karyotype formula of these plants was $2n = 2x = 16 = 8m + 4sm + 4sm^{sat}$. The specimen with the chromosome rearrangement (nonreciprocal translocation) was found in the Altai Territory population. The chromosome mutation has changed the chromosome morphology of submetacentric pair to metacentric pair of different size. The karyotype formula of this specimen was $2n = 2x = 16 = 2n = 10m + 6sm$. A similar mutation was previously found out in *A. apennina* (*A. sibirica*) from the Tomsk Region. The nuclear DNA content (2C-value) was determined in eight *Adonis* populations by flow cytometry. The average absolute nuclear DNA content in *A. vernalis* attained on from 18.88 ± 1.01 to 19.47 ± 1.17 pg, and in *A. volgensis* attained on from 16.10 ± 0.41 to 16.47 ± 0.47 pg. Differences in 2C-value between *A. volgensis* and *A. vernalis* correlated with differences in total chromosome lengths of the set.

Введение

Род *Adonis* L. (адонис, горичвет) представлен однолетними и многолетними корневищными травянистыми растениями, которые относят к трибе *Adonideae* T. Duncan et Keener подсемейства *Ranunculoideae* семейства Ranunculaceae Juss. (Tamura, 1991; Lufarov, 2004; Nishikawa, Kadota, 2006; Ren et al., 2009). Род включает

40–50 видов (Poshkurlat, 2000; Lufarov, 2018), которые главным образом распространены во внетропических зонах Евразии. Около 26–30 видов произрастает в Северном полушарии в умеренном климате, включая Азию, Европу и Северную Америку. Несколько однолетних видов распространены от Юго-Западной Азии до Северной Африки и вдоль побережья Средиземного моря (Meusel et al., 1965; Cronquist, 1981;

Wang, 1994a, 1994b; Son et al., 2016). До недавнего времени в России было известно девять видов, шесть из которых многолетние, а три – однолетние. В 2021 г. с острова Сахалин был описан новый вид – *Adonis sachalinensis* Gorovoi et S. Volkova (Gorovoy, Volkova, 2021). Произрастают горичветы на равнинах и возвышенностях в составе лесных, луговых и степных сообществ, на выходах известняков, скальных обнажениях (Lufarov, 2020).

Растения рода *Adonis* имеют прямостоячие цветonoсные побеги, базальные листья на черешках и стеблевые листья на коротких черешках или сидячие (во время цветения стеблевые листья часто отсутствуют). Листовая пластинка 1–3-перисто-рассеченная, сегменты узколинейные, края цельнокрайние или редко-зубчатые. Соцветия верхушечные, цветки одиночные, прицветники отсутствуют. Цветки обоеполые, актиноморфные, радиально-симметричные; чашелистиков 5–8, при плодах не сохраняются, почти бесцветные или зеленые, плоские, обратнойцевидные, 6–22 мм длиной, вершина приподнятая; лепестки в числе 3–20, длиннее чашелистиков, желтые, красные или белые или в основании с черным, пурпурным или синим пятном, плоские, обратноланцетные, 8–35 мм; нектарник отсутствует; тычинок 15–80; тычиночные нити нитевидные; стаминодии между тычинками и пестиками отсутствуют; гинецей апокарпный из многочисленных сидячих плодolistиков (20–50) с одним семязачатком; плод – апокарпный многоорешек из 15–30 односемянных орешков (боковая поверхность жилковатая или морщинистая), расположенных на шаровидно-яйцевидном (у многолетников) или сильно вытянутом цилиндрическом (у однолетников) цветоложе; персистентный стилодий присутствует, прямой или сильно изогнутый (Parfitt, 1993).

Adonis volgensis Stev. ex DC. относится к sect. *Adonanthe* W. T. Wang, subsect. *Amurenses* (Poschkurl.) M. H. Hoffm. Многолетники, в начале цветения 5–25 см высотой, по отцветании удлиняющиеся до 30(40) см. Корневище вертикальное, короткое, толстое, со шнуровидными буровато-черными корнями. Стебли немногочисленные, от середины раскидисто-ветвистые, в основании буроватые. Молодые листья и стебли обильно опушенные. Листья в очертании широкояйцевидные, рассечены на ланцетно-линейные доли. Цветки 3,5–4,5 см в диаметре. Чашелистики в числе 5–8, широкояйцевидные, бледно-желтые. Лепестки 17–22 мм длиной, 6–7 мм шириной.

Плод шаровидно-обратнойцевидный, включающий 25–35 плодиков. Орешки слегка морщинистые или почти гладкие, волосистые, около 4 мм длиной. Стилодий вниз отогнутый, 1,2–1,8 мм длиной (Lufarov, 2018). Распространен в Центральной, Юго-Восточной и Восточной Европе, Западной и Средней Азии (Казахстан, Киргизия), на севере Турции и Ирана (Lufarov, 2020).

Adonis vernalis L. относится к sect. *Adonanthe* W. T. Wang, subsect. *Vernales* Poschkurl. Многолетники, в начале цветения 5–25 см высотой, по отцветании удлиняющиеся до 30–40(50) см. Корневище вертикальное, короткое, толстое, со шнуровидными буровато-черными корнями. Стебли округлые, гладкие, почти голые, прямостоячие или отклоненные, простые или слабо ветвящиеся, густо облиственные, с прижатыми ветвями. Листья в очертании широкояйцевидные, рассечены на линейные сегменты. Прикорневые и нижние стеблевые листья в виде чешуй буроватого цвета, прочие стеблевые листья сидячие, доли их узколинейные, цельнокрайние, 1–2 см длиной и 0,5–1 мм шириной. Цветки одиночные на верхушке стебля и ветвей, крупные, 4–9 см в диаметре. Чашелистиков 5–8, широкояйцевидных, в верхней части притупленных, зеленоватых, 12–20 мм длиной, опушенных короткими тонкими белыми волосками. Лепестки в числе 10–20, обратнойцевидные, мелко зазубренные, 25–40 мм длиной, золотисто-желтые. Плоды шаровидно-обратнойцевидные многоорешки, около 20 мм длиной, состоящие из 30–40 плодиков. Орешки обратнойцевидные, 3,5–5,5 мм длиной, морщинистые, коротковолосистые. Стилодий крючковидный (Lufarov, 2018). Распространен в европейской части России, на юге Западной и Восточной Сибири, а также в Казахстане, на Украине, юге Белоруссии, в Центральной и Южной Европе, южной части Скандинавского полуострова, как заносное растение в Азербайджане (Lufarov, 2020).

Числа хромосом известны для большинства видов *Adonis* (Rice et al., 2015). Базовое число хромосом для рода $x = 8$. Для многолетних видов, как правило, характерно соматическое число хромосом $2n = 16$ (Shlangena, 1978). Однако встречаются и полиплоидные расы с $2n = 24$; 32, например, у *Adonis amurensis* (Kurita, 1955; Nishikawa, Ito, 1979; Nishikawa, 1989). Для однолетних видов характерны, преимущественно, более высокие числа хромосом $2n = 32$; 48; 64 (Shlangena, 1976). Сведений о структуре хромосомных наборов меньше, хотя ряд видов в этом

отношении изучен весьма детально. В настоящей работе представлены данные по хромосомным наборам двух видов адонисов, произрастающих в России: *Adonis vernalis* и *A. volgensis*. Кроме этого, мы впервые представляем данные по размерам геномов этих видов.

Материалы и методы

Все изученные растения были собраны в природных местообитаниях. Список проанализированных образцов представлен в таблице 1.

Таблица 1

Числа хромосом и содержание ДНК в ядре у *Adonis vernalis* и *Adonis volgensis*

Образец	Происхождение материала	2n	Размер генома, 2C ± SD, пг
<i>Adonis vernalis</i> *	Россия, Алтайский край, Павловский р-н, окр. пос. Сибирские Огни, остепненные склоны, 53°19'32.7"N, 83°03'28.9"E, 182 м, 17 V 2020. Смирнов С. В., Золотов Д. В., № 1 (NS).	16	19,36 ± 0,37
<i>Adonis vernalis</i>	Россия, Алтайский край, Павловский р-н, окр. с. Чернопятово, остепненные склоны вдоль лога, 53°22'14.8"N, 83°09'40.2"E, 165 м, 17 V 2020. Смирнов С. В., Золотов Д. В., № 2 (NS).	16	19,47 ± 1,17
<i>Adonis vernalis</i>	Россия, Алтайский край, Павловский р-н, окр. г. Павловск, верхняя часть лога р. Карняузиха, остепненные склоны, 53°16'21.4"N, 82°59'34.6"E, 195 м, 17 V 2020. Смирнов С. В., Золотов Д. В. (NS).	16	18,88 ± 1,01
<i>Adonis vernalis</i> *	Россия, Республика Хакасия, Таштыпский р-н, настоящий луг, 52°28'17.3"N, 90°03'31.7"E, 556 м, 24 V 2020. Леонова Т. В., НАК-2020-15 (NS).	16	18,98 ± 0,37
<i>Adonis vernalis</i>	Россия, Новосибирская область, Искитимский р-н, с. Сосновка, 54°40'14.4"N 82°55'45.9"E, 128 м, 07 V 2020. Эрст А. С. (NS).	16	19,17 ± 0,59
<i>Adonis vernalis</i>	Болгария, г. Костинброд, Беледие-Хан, кустарник, 42°54'40.8"N, 23°09'40.2"E, 901 м, 22.04.2021. Ташев А. Н., Банчева С. Т., BU-2021-13 (NS).	16	нет данных
<i>Adonis vernalis</i>	Болгария, с. Големо-Малово, Гора Чепан, травянистый луг, 42°56'14.1"N, 22°56' 54.9"E, 716 м, 22 IV 2021. Ташев А. Н., Банчева С. Т., BU-2021-15 (NS).	16	нет данных
<i>Adonis volgensis</i> *	Россия, Алтайский край, Павловский р-н, окр. с. Чернопятово, остепненные склоны вдоль лога, 53°22'14.8"N, 83°09'40.2"E, 165 м, 17 V 2020. Смирнов С. В., Золотов Д. В., № 2 (NS).	16	16,10 ± 0,41
<i>Adonis volgensis</i>	Россия, Алтайский край, Павловский р-н, окр. г. Павловск, верхняя часть лога р. Карняузиха, остепненные склоны, 53°16'21.4"N, 82°59'34.6"E, 195 м, 17 V 2020. Смирнов С. В., Золотов Д. В., № 3 (NS).	16	16,47 ± 0,47
<i>Adonis volgensis</i>	Россия, Алтайский край, Шелаболихинский р-н, 7 км южнее с. Шелаболиха, урочище Зотов Бугор, остепненные склоны, 53°19'49.6"N, 82°34'55.4"E, 247 м, 17 V 2020. Смирнов С. В., Золотов Д. В., № 4 (NS).	16	16,28 ± 0,52
<i>Adonis volgensis</i> *	Болгария, Каварна, северное побережье Черного моря, между с. Болгарево и мысом Калиакра, Муниципалитет Каварна, луг с кустарником, 43°23'22.2"N, 28°26'03.6"E, 81 м, 06 IV 2021. Ташев А. Н., Банчева С. Т., BU-2021-05 (NS).	16	нет данных

Примеч.: 2n – соматическое число хромосом, пг – пикограмм; * – образец с изученным в данной работе кариотипом.

Кариотипирование

Для получения препаратов митотических хромосом фиксировали молодые листья до 0,5 см длиной. Их срезали с вегетирующих растений в утренние часы и выдерживали в 0,5 % водном растворе колхицина при комнатной температуре в течение 4–5 ч. для накопления клеток на стадии метафазы, затем помещали в фиксатор Кларка (96 % этиловый спирт и ледяная уксусная кислота в соотношении 3:1). Временные препараты митотических метафазных хромосом готовили по методу Смирнова (Smirnov, 1968). Окраску производили 1 % раствором ацетогематоксилина.

Препараты анализировали под микроскопом Axio Star (Carl Zeiss, Munich, Germany) при увеличении 10×100 с использованием масляной иммерсии. Число хромосом подсчитывали не менее, чем в 30 клетках для каждого образца. Фотографирование метафазных пластинок осуществляли на микроскопе Axio Imager A.1 (Carl Zeiss, Germany) при помощи CCD-камеры AxioCam MRc5 (Carl Zeiss, Munich, Germany) и ПО AxioVision 4.7 (Carl Zeiss, Munich, Germany). Для кариотипирования использовали фотографии с минимальным числом наложений хромосом и максимально конденсированными хромосомами. Измерение хромосом и расчет основных кариометрических параметров для каждой метафазной пластинки (длина короткого и длинного плеч каждой хромосомы, общая длина хромосомы, плечевой индекс – соотношение длин длинного и короткого плеч, длина гаплоидного набора хромосом) производили при помощи ПО KaryoType (Altnordu et al., 2016) по фотографиям пяти метафазных пластинок, хромосомы которых имели сходный уровень конденсации, оцениваемый по длине гаплоидного набора. Морфологический тип хромосом определяли по классификации Levan et al. (1964). К метацентрическим относили хромосомы с плечевым индексом 1,0–1,7 (медианное положение центромеры, m), к субметацентрическим (субмедианное положение центромеры, sm) – с индексом 1,7–3,0, к субтелоцентрическим (субтерминальное положение центромеры, st) – 3,0–7,0, к акроцентрическим (терминальное положение центромеры, a) – более 7. Для всех изученных видов рассчитаны средние значения плечевого (r) и центромерного (CI) индексов для каждой пары хромосом набора, средняя (CL) и относительная (RL) длины каждой пары хромосом, средняя длина гаплоидного набора хромосом

(THL), определены величины показателей межхромосомной асимметрии – коэффициента вариации длины хромосом (CV_{CL}) (Paszko, 2006), внутривхромосомной асимметрии – средней хромосомной асимметрии (M_{CA}) (Peruzzi, Eroğlu, 2013) и коэффициента вариации центромерного индекса (CV_{CI}) (Paszko, 2006). Расчет средних значений кариометрических параметров производили при помощи ПО Microsoft Excel (USA). Гаплоидные идиограммы строили на основе средних значений длин плеч пар хромосом. Для оформления иллюстраций применяли ПО Adobe Photoshop CS5 (Adobe Systems, USA) и Inkscape 0.92 (USA).

Проточная цитометрия

Содержание ДНК в ядре для *Adonis* определяли при помощи метода проточной цитометрии с окрашиванием йодидом пропидия. Для исследования использовали как свежие, так и высушенные в силикагеле молодые листья. Образцы измельчали при помощи лезвия в 1 мл охлажденного экстракционного буфера следующего состава: 50 mM Хепес, 10 mM метабисульфит натрия, 10 mM $MgCl_2$, 0,5 % поливинилпирролидон, 0,2 % бычий сывороточный альбумин, 0,3 % Tween 20, 0,2 % Triton X–100, 50 мкг/мл РНКазы, 50 мкг/мл йодид пропидия. Образцы фильтровали через нейлоновый фильтр с размером пор 50 мкм. Результаты флюоресценции изолированных ядер детектировали при помощи проточного цитометра Partec CyFlow PA (Partec, GmbH) с лазерным источником излучения и длиной волны 532 нм. Измерения производили не менее 9 раз с периодичностью три измерения в сутки для каждого образца. Для дальнейшего анализа использовали результаты, не превышающие среднего значения содержания ДНК образца более чем на 3 % (Kubešová et al., 2010). В качестве внутреннего стандарта использовали *Allium fistulosum* L., $2C = 23,50$ пг (Doležel et al., 1992; Ricroch et al., 2005; Smirnov et al., 2017). Полученные результаты обрабатывали при помощи программы XLSTAT software (AddinSoft), Flowing Software 2.5.1 (Turku Centre for Biotechnology) и штатного программного обеспечения проточного цитометра CyView (Partec, GmbH). Возможное влияние вторичных метаболитов на связывание интеркалирующего красителя исследовали посредством совместного измельчения листьев *A. fistulosum* и образцов, а также отдельного исследования ядер стандарта. Полученные препараты анализировали три раза в течение 10 минут. При отсутствии

изменений средних значений каналов флуоресценции пика *A. fistulosum* считали, что эффект не выявлен.

Результаты и обсуждение

Проведен кариологический анализ *Adonis vernalis* и *Adonis volgensis* из 11 популяций России и Болгарии. Определены числа хромосом и содержание ДНК в ядре (табл. 1), выполнено сравнительное изучение кариотипов для растений из 4 популяций: *A. vernalis* из Алтайского края (окрестности пос. Сибирские Огни) и Республики Хакасия (Таштыпский р-н), *A. volgensis* из Алтайского края (окрестности с. Чернопятово) и Болгарии (муниципалитет Каварна) (табл. 2, 3; рис. 1). Все изученные растения в соматических клетках имели число хромосом $2n = 16$, являющееся типичным для данных видов (Rice et al., 2015). Для большинства изученных образцов горичветов обоих видов характерны похожие кариотипы, включающие в равном соотношении метацентрические и субметацентрические хромосомы. В пределах каждого набора хромосомы незначительно варьируют по длине (табл. 2). В основном, метацентрические хромосомы крупнее субметацентрических. Существуют разные принципы расстановки и нумерации хромосом на идиограммах (Badaeva, Salina, 2013). В данной работе хромосомы сгруппированы по морфологическим типам, внутри которых расположены по уменьшению длины (рис. 2). В кариотипах большинства изученных образцов адонисов выявлены небольшие спутники на коротких плечах двух пар субметацентрических хромосом. Таким образом, формула кариотипа данных растений $2n = 2x = 16 = 8m + 4sm + 4sm^{sat}$. Подобная структура кариотипа была показана ранее для *A. vernalis* из Кемеровской области (Schrager, Malakhova, 1981), а также и для других видов рода – *A. apennina*, *A. amurensis* (Schrager, Malakhova, 1978; Schrager, 1980; Volkova et al., 2020; Mitrenina et al., 2021). Интересным исключением оказался кариотип одного из растений *A. vernalis* из популяции, произрастающей около пос. Сибирские Огни Алтайского края, отличительной особенностью которого являлась пара хромосом с перестройкой по типу нерасцепленной транслокации. В результате этой перестройки два субметацентрика были преобразованы в пару метацентриков, один из которых оказался самым длинным, а другой – самым коротким в кариотипе (табл. 2; рис. 2). Таким образом, кариотип этого рас-

тения отличается от кариотипов других исследованных образцов данного вида, его формула: $2n = 2x = 16 = 10m + 6sm$. В результате транслокации изменилась относительная длина (RL) перестроенных хромосом. Данный показатель определяется как доля длины отдельной хромосомы от общей длины всех хромосом набора в процентах. Это значение для остальных, неперестроенных метацентриков в данном кариотипе *A. vernalis* составило 5,62–7,41 %, тогда как для метацентриков, образовавшихся в результате транслокации, – 8,08 и 3,40 % для длинного и короткого соответственно. Мы предполагаем, что перестройка затронула пару хромосом, которую мы обозначили VI, хотя не исключаем участие в данной перестройке негомологичных хромосом VI и VII пар, поскольку они близки по размеру и морфологии. Рутинное окрашивание хромосом не позволяет сделать более точное заключение о характере данной структурной мутации. Типичный кариотип изученных растений *A. vernalis* из Алтайского края и кариотип *A. vernalis* из Республики Хакасия близки по средней длине гаплоидного набора хромосом (ТНЛ) и по средним показателям хромосомной асимметрии кариотипа – коэффициенту вариации хромосомной длины (CV_{CL}), средней центромерной асимметрии (M_{CA}) и коэффициенту вариации центромерного индекса (CV_{CI}). Перестроенный кариотип у растения из той же популяции Алтайского края имеет другие значения средних показателей асимметрии кариотипа (табл. 3). Для него характерно существенное увеличение среднего значения коэффициента вариации длины хромосом (CV_{CL}), отражающего степень межхромосомной асимметрии, со значения $9,95 \pm 1,05$ до $18,05 \pm 1,39$ за счет появления в наборе более короткой и длинной хромосом по сравнению с остальными. С другой стороны, данный кариотип имеет более низкое значение средней хромосомной асимметрии (M_{CA}), характеризующее степень внутривидовой хромосомной асимметрии. Величина M_{CA} в нормальном и перестроенном кариотипах составила соответственно $23,26 \pm 0,85$ до $19,97 \pm 1,33$. Это связано с заменой в хромосомном наборе двух субметацентриков на два метацентрика, то есть появлением двух более симметричных (равноплечих) хромосом. Следует отметить, что очень похожая транслокация, затрагивающая две негомологичные субметацентрические хромосомы, ранее была выявлена у *A. apennina* (в публикации он указан как *A. sibirica*) из Томской области (Schrager, Malakhova, 1978).

Таблица 2

Кариометрические параметры *Adonis vernalis* и *Adonis volgensis*

Образец	Пара хромосом	CL, мкм	r	CI	RL, %	Тип хромосом
<i>Adonis vernalis</i> (Алтайский край)	I	6,10 (0,12)	1,04 (0,03)	0,49	7,14	m
	II	6,04 (0,34)	1,26 (0,05)	0,44	7,07	m
	III	5,69 (0,33)	1,23 (0,06)	0,45	6,66	m
	IV	5,00 (0,34)	1,23 (0,05)	0,45	5,85	m
	V	5,32 (0,15)	2,18 (0,17)	0,32	6,23	sm ^{sat}
	VI	4,96 (0,24)	2,14 (0,08)	0,32	5,81	sm ^{sat}
	VII	4,96 (0,21)	2,32 (0,15)	0,30	5,81	sm
	VIII	4,64 (0,22)	2,31 (0,14)	0,30	5,43	sm
<i>Adonis vernalis</i> (Алтайский край, транслокация)	I	6,58 (0,35)	1,06 (0,05)	0,49	7,41	m
	II	6,57 (0,23)	1,25 (0,09)	0,44	7,40	m
	III	5,84 (0,22)	1,17 (0,08)	0,46	6,58	m
	IV	4,99 (0,24)	1,33 (0,09)	0,43	5,62	m
	V	5,41 (0,22)	2,28 (0,19)	0,31	6,09	sm
	VI _t	7,17 (0,24)	1,12 (0,10)	0,47	8,08	m
	VI _{del}	3,02 (0,19)	1,18 (0,07)	0,46	3,40	m
	VII	5,08 (0,20)	2,34 (0,15)	0,30	5,71	sm
VIII	4,84 (0,18)	2,24 (0,15)	0,31	5,44	sm	
<i>Adonis vernalis</i> (Республика Хакасия)	I	6,02 (0,23)	1,03 (0,02)	0,49	7,22	m
	II	5,97 (0,30)	1,28 (0,06)	0,44	7,16	m
	III	5,63 (0,28)	1,12 (0,06)	0,47	6,76	m
	IV	4,69 (0,19)	1,18 (0,06)	0,46	5,63	m
	V	5,23 (0,32)	2,13 (0,18)	0,32	6,28	sm ^{sat}
	VI	4,88 (0,31)	2,33 (0,12)	0,30	5,86	sm ^{sat}
	VII	4,69 (0,20)	2,72 (0,18)	0,27	5,63	sm
	VIII	4,56 (0,27)	2,34 (0,12)	0,30	5,47	sm
<i>Adonis volgensis</i> (Болгария, Каварна)	I	5,35 (0,50)	1,07 (0,05)	0,48	7,33	m
	II	5,23 (0,43)	1,26 (0,13)	0,44	7,16	m
	III	4,80 (0,35)	1,22 (0,09)	0,45	6,58	m
	IV	4,18 (0,25)	1,26 (0,11)	0,45	5,73	m
	V	4,34 (0,26)	2,14 (0,08)	0,32	5,94	sm
	VI	4,28 (0,35)	2,37 (0,11)	0,30	5,86	sm
	VII	4,24 (0,39)	2,72 (0,22)	0,27	5,81	sm
	VIII	4,08 (0,26)	2,43 (0,13)	0,29	5,59	sm

Примеч.: CL – длина хромосомы, среднее значение (стандартное отклонение); r – плечевой индекс, среднее значение (стандартное отклонение); CI – центромерный индекс; RL – относительная длина хромосомы; VI_t – шестая хромосома с транслокацией; VI_{del} – шестая хромосома с делецией; m – метацентрическая хромосома; sm – субметацентрическая хромосома; ^{sat} – наличие спутника.

Изученные нами кариотипы *A. volgensis* из популяций, произрастающих около Каварны Болгарии и окрестностей с. Чернопятово Алтайского края, имеют такую же структуру кариотипа, как и большинство растений *A. vernalis*, описываемую формулой $2n = 8m + 4sm + 4sm^{sat}$. Несмотря на формальное сходство кариотипов у *A. vernalis* и *A. volgensis*, последний вид характеризуется меньшим значением длины гаплоидного

набора хромосом (ТНЛ) (табл. 3). Эти различия коррелируют с различиями в содержании ДНК в ядре. Так, для *A. vernalis* размер генома варьировал от $18,98 \pm 0,37$ пг для растений из Республики Хакасия до $19,47 \pm 1,17$ пг для растений из Алтайского края. Для *A. volgensis* из различных популяций Алтайского края значения составили от $16,10 \pm 0,41$ пг до $16,47 \pm 0,47$ пг (табл. 1).

Таблица 3

Параметры кариотипа у *Adonis vernalis* и *Adonis volgensis*

Образец	N	Плоидность	2n	Формула кариотипа	ТНЛ	CV _{CL}	M _{CA}	CV _{CI}
<i>Adonis vernalis</i> (Алт. край)	5	2x	16	8m + 4sm + 4sm ^{sat}	42,71(1,65)	9,95(1,05)	23,26(0,85)	19,81(1,10)
<i>Adonis vernalis</i> (Алт. край, транслокация)	5	2x	16	10m + 6sm	44,41(1,07)	18,05(1,39)	19,97(1,33)	19,12(1,34)
<i>Adonis vernalis</i> (Респ. Хакасия)	5	2x	16	8m + 4sm + 4sm ^{sat}	41,67(1,72)	11,14(0,46)	23,68(0,64)	22,76(0,72)
<i>Adonis volgensis</i> (Каварна)	5	2x	16	8m + 4sm + 4sm ^{sat}	36,50(2,54)	10,60(1,68)	24,99(1,32)	22,24(1,36)

Примеч.: ТНЛ – тотальная длина гаплоидного набора хромосом; CV_{CL} – коэффициент вариации длины хромосом; M_{CA} – средняя центромерная асимметрия; CV_{CI} – коэффициент вариации центромерного индекса; везде приведены средние значения, в скобках – стандартное отклонение; m – метацентрическая хромосома; sm – субметацентрическая хромосома; ^{sat} – спутничная хромосома.

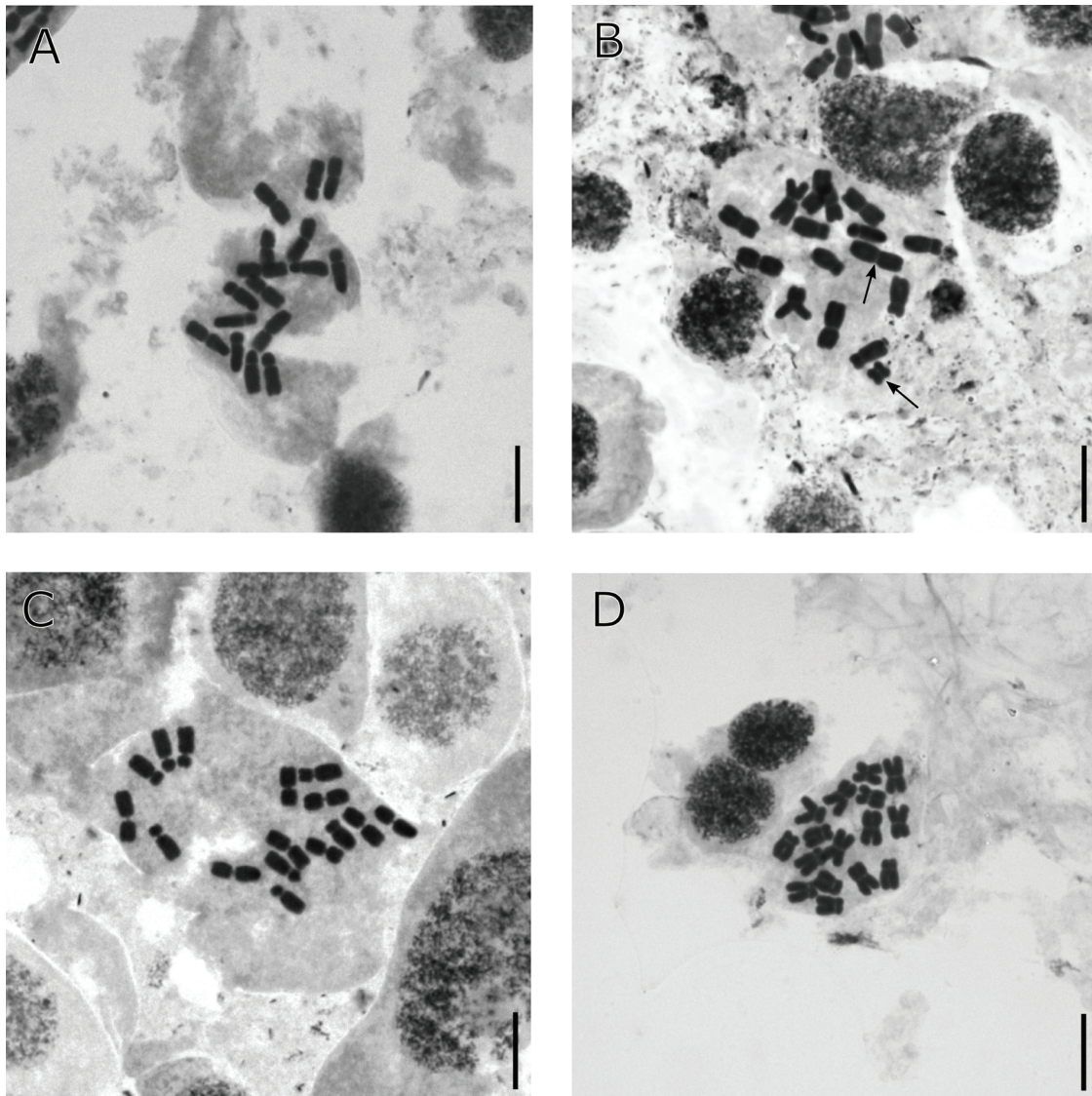


Рис. 1. Метафазные митотические хромосомы: А – *Adonis vernalis* (Алтайский край), нормальный кариотип; В – *A. vernalis* (Алтайский край), кариотип с перестройкой, стрелками указаны хромосомы с делецией и транслокацией; С – *A. vernalis* (Республика Хакасия); D – *A. volgensis* (Болгария, Каварна). Масштабная линейка 10 мкм.

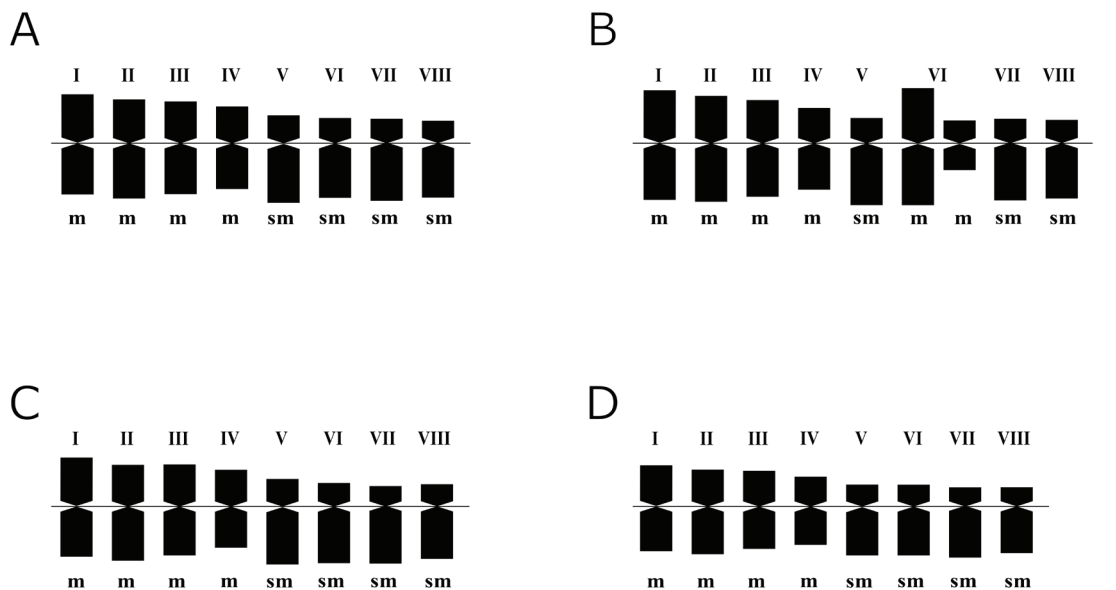


Рис. 2. Гаплоидные идиограммы: А – *Adonis vernalis* (Алтайский край), нормальный кариотип; В – *A. vernalis* (Алтайский край), кариотип с перестройкой; С – *A. vernalis* (Республика Хакасия); D – *A. volgensis* (Болгария, Каварна). I–VIII – пары хромосом; m – метацентрическая хромосома; sm – субметацентрическая хромосома. Масштабная линейка 10 мкм.

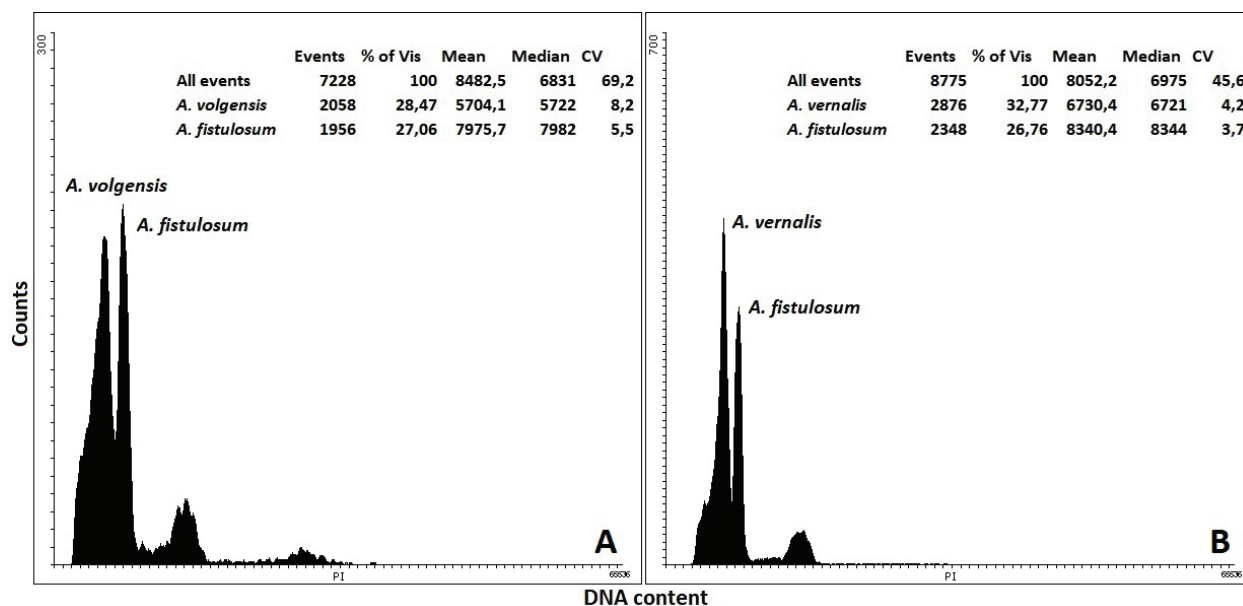


Рис. 3. Данные проточной цитометрии. Гистограммы: А – *Adonis volgensis*; В – *A. vernalis*. В качестве внутреннего стандарта использован *Allium fistulosum* L. (2C = 23,50 пг).

Таким образом, структура кариотипов четырех видов многолетних адонисов, изученных нами в данной работе и ранее (Mitrenina et al., 2021), – *A. amurensis*, *A. apennina*, *A. vernalis*, *A. volgensis*, произрастающих на территории России, очень схожа. Незначительные различия значений центромерных индексов отдельных гомеологичных хромосом, очевидно, не могут служить надежным критериям для кариологиче-

ской диагностики этих видов, поскольку данный параметр в некоторой степени зависит от уровня конденсации измеряемых хромосом. Более детальное исследование кариотипов адонисов с использованием дифференциальной окраски хромосом и/или флуоресцентной гибридизации *in situ*, вероятно, позволит выявить специфичные цитогенетические маркеры для каждого вида.

Благодарности

Экспериментальная работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 20-54-53008), государственного задания ЦСБС СО РАН (проект № АААА-А21-121011290024-5), Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект № FZMW-2020-0003) и National Natural Science Foundation of

China (№. 32011530072). Полевые исследования в Алтайском крае проводились в рамках государственного задания ИВЭП СО РАН № FUFZ-2021-0007 и Госзадания № FZMW-2020-0003, сбор материала и определение образцов при финансовой поддержке гранта РФФИ (проект № 19-05-50055-Микромир).

REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА

- Altnordu F., Peruzzi L., Yu Y., He X.** 2016. A tool for the analysis of chromosomes: KaryoType. *Taxon* 65(3): 586–592. DOI: 10.12705/653.9
- Badaeva E. D., Salina E. A.** 2013. Genome structure and chromosomal analysis of plants. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding* 17(4/2): 1017–1043. [In Russian] (**Бадаева Е. Д., Салина Е. А.** Структура генома и хромосомный анализ растений // Вавиловский журнал генетики и селекции, 2013. Т. 17, № 4/2. С 1017–1043).
- Cronquist A.** 1981. *An integrated system of classification of flowering plants*. New York: Columbia University Press. 1262 pp.
- Doležel J., Sgorbati S., Lucretti S.** 1992. Comparison of three DNA fluorochromes for flow cytometric estimation of nuclear DNA content in plants. *Physiologia Plantarum* 85: 625–631. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1992.tb04764.x
- Gorovoy P. G., Volkova S. A.** 2021. New species of the genus *Adonis* L. (Ranunculaceae) from Sakhalin Island. *Turczaninowia* 24, 3: 85–88. [In Russian] (**Горовой П. Г., Волкова С. А.** Новый вид рода *Adonis* L. (Ranunculaceae) с острова Сахалин // *Turczaninowia*, 2021. Т. 24, № 3. С. 85–88). DOI: 10.14258/turczaninowia.24.3.7
- Kubešová M., Moravcová L., Suda J., Jarošík V., Pyšek P.** 2010. Naturalized plants have smaller genomes than their non-invading relatives: a flow cytometric analysis of the Czech alien flora. *Preslia* 82: 81–96.
- Kurita M.** 1955. Cytological studies in Ranunculaceae IV. The karyotype analysis in *Actaea* and some other genera. *Jap. Jour. Genet.* 30: 124–127.
- Levan A., Fredgam K., Sandberg A.** 1964. Nomenclature for centrometric position of chromosomes. *Hereditas* 52: 201–220.
- Luferov A. N.** 2004. Taxonomic synopsis of buttercups (Ranunculaceae) of the Far East of Russia. *Turczaninowia* 7, 1: 5–84. [In Russian] (**Луферов А. Н.** Таксономический конспект лютиковых (Ranunculaceae) Дальнего Востока России // *Turczaninowia*, 2004. Т. 7, № 1. С. 5–84).
- Luferov A. N.** 2018. Genus *Adonis* L. In: *Flora of the Lower Volga region*. Vol. 2: Dicotyledonous flowering plants. Part 1. Salicaceae – Droseraceae. N. M. Reshetnikov (Resp. Ed.); Main Botanical Garden named after N. V. Tsitsin RAS. Moscow: KMK Scientific Press. Pp. 347–350. [In Russian] (**Луферов А. Н.** Род *Adonis* L. – Адонис, Горлицы // Флора Нижнего Поволжья. Т. 2: Раздельнолепестные двудольные цветковые растения. Часть 1. Salicaceae – Droseraceae. Отв. ред. Н. М. Решетников; Главный ботанический сад им. Н. В. Цицина РАН. М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2018. С. 347–350).
- Luferov A. N.** 2020. On the diagnosis of species *Adonis* L. (Ranunculaceae) of the flora of Russia. *Noveyshiye zarubezhnyye i otechestvennyye preparaty* [The latest foreign and domestic preparations] 2: 3–14. [In Russian] (**Луферов А. Н.** К диагностике видов *Adonis* (Ranunculaceae) флоры России // Новейшие зарубежные и отечественные препараты, 2020. № 2. С. 3–14). DOI: 10.33920/med-06
- Meusel H., Jaeger E., Weinert E.** 1965. *Vergleichende Chorologie der Zentraleuropäischen Flora*. Stuttgart: G. Fischer. 258 pp.
- Mitrenina E. Yu., Erst A. S., Skaptsov M. V., Leonova T. V., Veklich T. N., Chernysheva O. A., Luferov A. N., Wang W.** 2021. Karyotypes and genome size of *Adonis amurensis* and *Adonis apennina* (Ranunculaceae) from Asian Russia. *Ukrainian Journal of Ecology* 11(1): 163–170.
- Nishikawa T.** 1989. Botanical studies on *Adonis amurensis* Regel et Radde in Japan. Part 2. *J. Hokkaido Univ. Educ.*, Sect. 2B, 39(2): 1–25.
- Nishikawa T., Ito K.** 1979. The chromosome numbers of *Adonis amurensis* Regel & Radde (*sensu lato*) of northern Honshu. *J. Jap. Bot.* 54(12): 353–362.
- Nishikawa T., Kadota Y.** 2006. *Adonis*. In: K. Iwatsuki K. et al. (eds). *Flora of Japan*. V. IIa. Tokyo: Kodansha Ltd. Pp. 287–288.
- Parfitt B. D.** 1997. *Adonis* L. In: *Flora of North America Committee*, eds. *Flora of North America*. Vol. 3. Magnoliophyta: Magnoliidae and Hamamelidae. Oxford: Oxford University Press. Pp. 184–187.
- Paszko A.** 2006. A critical review and a new proposal of karyotype asymmetry indices. *Pl. Syst. Evol.* 258: 39–48. DOI: 10.1007/s00606-005-0389-2

- Peruzzi L., Eroğlu H. E.** 2013. Karyotype asymmetry: Again, how to measure and what to measure? *Comparative Cytogenetics* 7: 1–9. DOI: 10.3897/compcytogen.v7i1.4431
- Poshkurlat A. P.** 2000. *Rod goritsvet – Adonis L. Sistematika, rasprostraneniye, biologiya* [The genus *Adonis L. Systematics, distribution, biology*]. Moscow: Nauka. 199 pp. [In Russian] (**Пошкурлат А. П.** Род горлицвет – *Adonis L. Систематика, распространение, биология*. М.: Наука, 2000. 199 с.).
- Ren Y., Chang H. L., Tian X. H., Song P., Endress P. K.** 2009. Floral development in *Adonideae* (Ranunculaceae). *Flora* 204: 506–517.
- Rice A., Glick L., Abadi Sh., Einhorn M., Kopelman N. M., Salman-Minkov A., Mayzel J., Chay O., Mayrose I.** 2015. The Chromosome Counts Database (CCDB) – a community resource of plant chromosome numbers. *New Phytol.* 206(1): 19–26.
- Ricroch A., Yockteng R., Brown S. C., Nadot S.** 2005. Evolution of genome size across some cultivated *Allium* species. *Genome* 48: 511–520. DOI: 10.1139/g05-017
- Shlangena Z. E.** 1976. The chromosome numbers of some *Adonis L.* species in the USSR (Ranunculaceae). *Bot. Zhurn.* 61(11): 1603–1608. [In Russian] (**Шлангена З. Е.** Хромосомные числа некоторых видов рода *Adonis L.* СССР (Ranunculaceae) // Бот. журн., 1976. Т. 61, № 11. С. 1603–1608).
- Shrager L. N.** 1980. The polymorphism of satellite chromosomes of several populations of *Adonis sibirica* Patr. In: *Problemy populyatsionnoy i evolyutsionnoy tsitogenetiki rasteniy i zhivotnykh* [Problems of population and evolutionary cytogenetics of plants and animals]. Tomsk: Tomsk University Publishing House. Pp. 51–56. [In Russian] (**Шрагер Л. Н.** Полиморфизм спутничных хромосом нескольких популяций *Adonis sibirica* Patr. // Проблемы популяционной и эволюционной цитогенетики растений и животных. Томск: Изд-во Томского ун-та, 1980. С. 51–56).
- Shrager L. N., Malakhova L. A.** 1978. Karyotypical studies of *Adonis sibirica* Patr. in Tomsk Region. *Tsitologiya* 20(5): 592–596. [In Russian] (**Шрагер Л. Н., Малахова Л. А.** Особенности кариотипа *Adonis sibirica* Patr. из Томской области // Цитология, 1978. Т. 20, № 5. С. 592–596).
- Shrager L. N., Malakhova L. A.** 1981. An analysis of karyotypes of *Adonis vernalis* and *Clematis integrifolia* (Ranunculaceae). *Bot. Zhurn.* 66(3): 438–440. [In Russian] (**Шрагер Л. Н., Малахова Л. А.** Анализ кариотипов *Adonis vernalis* и *Clematis integrifolia* (Ranunculaceae) // Бот. журн., 1981. Т. 66, № 3. С. 438–440).
- Smirnov S., Skaptsov M., Shmakov A., Fritsch R., Friesen N.** 2017. Spontaneous hybridization among *Allium tulipifolium* and *A. robustum* (*Allium* subg. *Melanocrommyum*, Amaryllidaceae) under cultivation. *Phytotaxa* 303(2): 155–164. DOI: 11646/phytotaxa.303.2.5
- Smirnov Yu. A.** 1968. Accelerated method for studying somatic chromosomes in fruit trees. *Tsitologiya* 10(12): 1601–1602. [In Russian] (**Смирнов Ю. А.** Ускоренный метод исследования соматических хромосом плодовых // Цитология, 1968. Т. 10, № 12. С. 1601–1602).
- Son D. C., Park B. K., Ko S. C.** 2016. Phylogenetic study of the section *Adonanthe* of genus *Adonis L.* (Ranunculaceae) based on ITS sequences. *Korean Journal of Plant Taxonomy* 46:1–12.
- Tamura M.** 1991. A new classification of the family Ranunculaceae 2. *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica* 42: 177–187. [In Japanese].
- Volkova S. A., Gorovoy P. G., Pshennikova L. M.** 2020. Karyotypes of *Adonis amurensis* (Ranunculaceae) in the Primorsky Territory and in Sakhalin. *Turczaninowia* 23, 2: 39–48. [In Russian] (**Волкова С. А., Горовой П. Г., Пшениникова Л. М.** Кариотипы *Adonis amurensis* (Ranunculaceae) из Приморского края и Сахалина // Turczaninowia, 2020. Т. 23, № 2. С. 39–48.) DOI: 10.14258/turczaninowia.23.2.6
- Wang W. T.** 1994a. Revision of *Adonis* (Ranunculaceae) (1). *Bull. Bot. Research* 14(1): 1–31.
- Wang W. T.** 1994b. Revision of *Adonis* (Ranunculaceae) (2). *Bull. Bot. Research* 14(2): 105–138.