

УДК 582.675.1+575.11(571+510)

Кариотипы и содержание ДНК в ядре у некоторых видов *Trollius* L. и *Hegemone* Bunge ex Ledeb. (Ranunculaceae) Азиатской России и Китая

Е. Ю. Митренина^{1*}, А. С. Эрст^{1,2}, М. В. Скапцов³, М. Г. Куцев⁴, А. А. Кузнецов¹

¹ Томский государственный университет, пр. Ленина, 36, г. Томск, 634050, Россия. E-mail: emitrenina@gmail.com

² Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, ул. Золотодолинская, 101, г. Новосибирск, 630090, Россия. E-mail: erst_andrew@yahoo.com

³ Алтайский государственный университет, пр. Ленина, 61, г. Барнаул, 656049, Россия. E-mail: mr.skaptsov@mail.ru

⁴ Сибирский федеральный университет, пр. Свободный, 79, г. Красноярск, 660041, Россия. E-mail: m_kucev@mail.ru

* Автор для переписки

Ключевые слова: кариотип, купальница, содержание ДНК в ядре, хромосомы, C-value.

Аннотация. Изучены кариотипы у *Trollius altaicus* С. А. Мей., *T. asiaticus* L., *T. ledebourii* Rchb. и *Hegemone lilacina* Bunge. Для исследованных образцов установлено число хромосом в соматических клетках $2n = 16$. Для трех видов купальниц характерны схожие хромосомные наборы, как по размерам, так и по морфологическим типам хромосом (метацентрики, субметацентрики, субтелоцентрики). Формула кариотипа для *Trollius altaicus* $2n = 2x = 16 = 14sm + 2st$, для *T. asiaticus* $2n = 2x = 16 = 2m + 10sm + 2sm/st + 2st$, для *T. ledebourii* $2n = 2x = 16 = 2m/sm + 10sm + 4st$. Кариотип *Hegemone lilacina* изучен нами впервые, его формула: $2n = 2x = 16 = 4m + 8sm + 4st$. При помощи проточной цитометрии для 8 видов определено содержание ДНК в ядре (C-value). Самые высокие значения среди изученных видов характерны для *Hegemone lilacina* ($9,80 \pm 0,29$ пг) и *Trollius yunnanensis* Ulbr. ($9,39 \pm 0,29$ пг), самые низкие – для *T. farreri* Stapf ($8,20 \pm 0,24$ пг) и *H. micrantha* (С. Winkl. et Komarov) Butkov ($8,28 \pm 0,25$ пг). Значения C-value для представителей *T. altaicus* из двух разных популяций идентичны ($8,48 \pm 0,25$ и $8,51 \pm 0,25$ пг) и близки значению для *T. vicarius* Sipliv. ($8,45 \pm 0,28$ пг). Размер генома у *T. asiaticus* из двух разных популяций варьирует ($8,66 \pm 0,26$ пг и $8,98 \pm 0,28$ пг) и близок значению для *T. chinensis* Bunge ($8,87 \pm 0,26$ пг).

Karyotypes and nuclear DNA content in some *Trollius* L. and *Hegemone* Bunge ex Ledeb. (Ranunculaceae) species of Asian Russia and China

E. Yu. Mitrenina¹, A. S. Erst^{1,2}, M. V. Skaptsov³, M. G. Kutsev⁴, A. A. Kuznetsov¹

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

² Central Siberian Botanical Garden SB RAS, Zolotodolinskaya str., 101, Novosibirsk, 630090, Russian Federation

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

⁴ Siberian Federal University, Svobodny Pr., 79, Krasnoyarsk, 660041, Russian Federation

Keywords: chromosomes, C-value, globe-flower, karyotype, nuclear DNA content.

Summary. The karyotypes of *Trollius altaicus* C. A. Mey., *T. asiaticus* L., *T. ledebourii* Rchb. и *Hegemone lilacina* Bunge have been studied. Somatic chromosome number $2n = 16$ was determined for all the specimens investigated. Three *Trollius* species have chromosome complements similar to each other in length and morphological types of chromosomes (metacentric, submetacentric and subtelocentric ones). The karyotype formula of *Trollius altaicus* is $2n = 2x = 16 = 14sm + 2st$, *T. asiaticus* is $2n = 2x = 16 = 2m + 10sm + 2sm/st + 2st$, and *T. ledebourii* is $2n = 2x = 16 = 2m/sm + 10sm + 4st$. We have studied the karyotype of *Hegemone lilacina* for the first time, and its formula is $2n = 2x = 16 = 4m + 8sm + 4st$. Also, we have determined nuclear DNA content (C-value) for 8 species by the flow cytometry. *Hegemone lilacina* and *Trollius yunnanensis* Ulbr. have the highest C-values (9.80 ± 0.29 pg and 9.39 ± 0.29 pg respectively), while the lowest C-values belong to *T. farreri* Stapf (8.20 ± 0.24 pg) and *H. micrantha* (C. Winkl. et Komarov) Butkov (8.28 ± 0.25 pg). The nuclear DNA content of *T. altaicus* specimens found in different locations were identical (8.48 ± 0.25 and 8.51 ± 0.25 pg) and similar-sized with *T. vicarius* Sipliv. (8.45 ± 0.28 pg). Two *T. asiaticus* specimens found in different locations appeared to vary in C-value (8.66 ± 0.26 pg and 8.98 ± 0.28 pg), and to be similar-sized with *T. chinensis* Bunge (8.87 ± 0.26 pg).

Введение

Род *Trollius* L. (сем. Ranunculaceae) – купальница – включает около 35 видов, распространенных во внетропических регионах Северного полушария. В России известно около 19–20 видов, наибольшее видовое разнообразие наблюдается в Сибири – 12 видов (Lufegov et al., 2018). В Китае встречается около 16 видов, 8 из которых эндемичны (Li, Tamura, 2001). Род характеризуется ярко выраженными цветами оранжевого или желтого цвета, суженными лепестками с нектарниками у основания, тройчатыми или глубоко трехлопастными листьями (Kadota, 1987). *Hegemone* Bunge ex Ledeb. часто рассматривается как отдельный род с 2–3 видами (Tamura, 1995). Для него характерно опушение рыльца и белые, либо розовые, фиолетовые чашелистики, что отличает этот род от рода *Trollius*.

Представители родов *Trollius* и *Hegemone* мало изучены в цитогенетическом отношении. Большинство известных нам работ, посвященных исследованию хромосомных наборов купальниц, выполнены в 1950–1960-х гг. (Kurita, 1955, 1957, 1959, 1960; Doroszewska, 1967). Есть и более современные единичные исследования (Yang, 2002; Yuan, Yang, 2006). Тем не менее, сравнение кариотипов внутри групп близких видов дает дополнительную информацию для решения некоторых вопросов систематики и филогении (Yuan, Yang, 2006; Mlinarec, 2012; Baltisberger, Hörandl, 2016). Числа хромосом известны для большинства видов рода *Trollius* и некоторых *Hegemone*: $2n = 2x = 16$ (Rice et al., 2015). У некоторых видов (*Hegemone lilacina* Bunge, *Trollius europaeus* L., *T. laxus* Salisb.) наряду с диплоидией иногда встречается тетраплоидия с $2n = 4x = 32$. Имеются единичные сведения о хромосомных числах $2n = 18, 24$ для

T. europaeus (Rice et al., 2015). Размеры и морфология митотических метафазных хромосом описаны примерно для трети видов рода (около 10). Причем данные разных авторов по кариотипам одних и тех же таксонов различаются. Это можно объяснить следующими причинами: 1) неверно идентифицированы образцы; 2) различие методик изучения кариотипов (способы предобработки и фиксации материала, морфометрического анализа хромосом); 3) внутривидовой полиморфизм данного признака. Помимо чисел хромосом и кариоморфологических параметров важным показателем, характеризующим наследственный материал, является размер генома (C-value), определяемый с помощью проточной цитометрии (Doležel, Bartoš, 2005). В базе данных по размерам геномов у растений (Plant DNA C-values Database) приведено значение C-value только для *Trollius europaeus*. В настоящей работе мы представляем результаты изучения кариотипов 4 видов: *Trollius altaicus* C. A. Mey., *T. asiaticus* L., *T. ledebourii* Rchb. и *Hegemone lilacina*, а также данные по размерам геномов (C-value) для 8 видов: *Hegemone lilacina*, *H. micrantha* (C. Winkl. et Komarov) Butkov, *Trollius altaicus*, *T. asiaticus*, *T. chinensis* Bunge, *T. farreri* Stapf, *T. vicarius* Sipliv., *T. yunnanensis* Ulbr.

Материал и методы

Исследованные растения и семена собраны в природе. Данные о происхождении материала представлены в таблице 1. Все растения, кроме *Trollius asiaticus*, были высажены в горшки и выращивались в Центральном сибирском ботаническом саду СО РАН (г. Новосибирск). Материал для цитогенетического анализа и проточной цитометрии был собран с них в первый год культивирования.

Таблица 1

Числа хромосом в соматических клетках, формулы кариотипов и содержание ДНК в ядрах
у 9 видов *Hegemone* и *Trollius* (Ranunculaceae)

№	Вид	Происхождение материала	2n	Формула кариотипа	2С, пг
1	<i>H. lilacina</i>	Россия, Республика Алтай, Улаганский р-н, около д. Акташ, 50°20'24.6"N, 87°44'48.0"E. 12 VII 2018. А. Эрст, АЕ 433(NS)	16 (16; 32)	4m + 8sm + 4st	9,80 ± 0,29
2	<i>H. micrantha</i>	Таджикистан, Варзобский р-н, Анзобский перевал, 39°05'00.5"N, 68°51'52.2"E. 13 VI 2018. Ю. Овчинников, А. Эбель, Н. Лащинский, Н. Щеголева	–		8,28 ± 0,25
3	<i>T. altaicus</i>	Россия, Республика Алтай, Семинский перевал, 51°02'44.6"N, 85°36'20.5"E. 13 VII 2018. А. Эрст (NS)	(16)		8,48 ± 0,25
		Россия, Алтайский край, окр. с. Сентелек. 25 VII 2018. А. Эрст (NS)	(16)		8,51 ± 0,25
		Россия, Республика Алтай, Улаганский р-н, около д. Улаган, 50°41'52.7"N, 87°59'44.2"E. 14 VII 2018. А. Эрст, АЕ 442 (NS)	16 (16)	14sm + 2st	
4	<i>T. asiaticus</i>	Россия, г.Новосибирск, Академгородок, р. Зырянка, 54°49'20.7"N, 83°06'18.4"E. 10 VII 2017. А. Эрст. АЕ 457 (NS)	16 (16)	2m + 10sm + 2sm/st + 2st	8,66 ± 0,26
		Россия, Республика Алтай, Шебалинский р-н, с. Топучая, 51°07'43.6"N, 85°34'50.7"E. 14 VII 2019. А. Эрст, Т. Эрст, К. Xiang, L. Lian	(16)		8,98 ± 0,28
5	<i>T. chinensis</i>	Россия, Приморский край, Михайловский р-н, поселок Гора, лиственный лес, 253 м, 43°59'N, 132°20'E. 6 VI 2018. В. Якубов (NS)	(16)		8,87 ± 0,26
6	<i>T. farreri</i>	China, Sichuan Province, Mount Siguniang (Four Sisters Mountain), Chuan Jiao bridge, alt. 3450 m, 30°53'N, 50°102.58'E. 28 IV 2018. А. Erst, Т. Erst, М. Jibin, №3	(16)		8,20 ± 0,24
7	<i>T. ledebourii</i>	Республика Бурятия, Еравнинский р-н, окр. с. Укыр, 52°31'13,3" N, 111°24'17,6"E, 968 м над ур. м., лиственный-березовый лес. 30 VI 2018. В. Трошкина	16 (16)	2m/sm + 10sm + 4st	
8	<i>T. vicarius</i>	Республика Бурятия, Еравнинский р-н, окр. с. Укыр, 52°30'52,9"N, 111°25'06,6"E, 1005 м над ур. м., лиственный-березовый лес с брусничным покровом. 30 VI 2018. В. Трошкина	–		8,45 ± 0,28
9	<i>T. yunnanensis</i>	China, Sichuan Province, Mount Siguniang (Four Sisters Mountain), Ba Long mountain. 28 IV 2018. А. Erst, Т. Erst, М. Jibin, №2	(16)		9,39 ± 0,29

Примеч.: 2n – число хромосом в соматических клетках (в скобках указаны значения для данного вида из литературы; прочерк – данные в литературе отсутствуют); m – метацентрическая хромосома; sm – субметацентрическая хромосома; st – субтелоцентрическая хромосома; 2С – содержание ДНК в ядре в пикограммах (среднее значение ± SD).

Кариотипирование

Семена *Trollius asiaticus* проращивали на влажном песке в чашке Петри. Для получения препаратов митотических хромосом корни длиной 1–1,5 см выдерживали в 0,2%-м растворе колхицина при комнатной температуре в течение 3 ч. для накопления клеток на стадии метафазы, затем помещали в фиксатор Кларка (96%-й этиловый спирт и ледяная уксусная кислота в соотношении 3 : 1). У остальных видов (*Trollius altaicus*, *T. ledebourii*, *Hegemone lilacina*) фиксировали молодые листья со взрослых растений с размером листовой пластинки до 1 см длиной. Использовали также предобработку колхицином и фиксатор, как для проростков. Было выявлено, что оптимальный для цитогенетического анализа размер листьев составляет до 5–6 мм. Митотический индекс их клеток выше, чем в листьях более крупного размера. Временные препараты митотических метафазных хромосом готовили по методу Ю. А. Смирнова (Smirnov, 1968). Окраску производили 1%-м раствором ацетогематоксилина.

Препараты анализировали под микроскопом Axio Star (Carl Zeiss, Germany) при увеличении 10*100 с использованием масляной иммерсии. Число хромосом подсчитывали в 30–50 клетках для каждого вида. Фотографирование метафазных пластинок осуществляли на микроскопе Axio Imager A.1 (Carl Zeiss, Germany) при помощи CCD-камеры AxioCam MRc5 (Carl Zeiss, Germany) и ПО AxioVision 4.7 (Carl Zeiss, 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, плечевой индекс – соотношение длин длинного и короткого плеч, тотальная длина гаплоидного набора хромосом) производили при помощи ПО KaryoType (Altinordu et al., 2016) по фотографиям 5 метафазных пластинок, хромосомы которых имели сходный уровень конденсации, оцениваемый по тотальной 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 поло-

жение центромеры, st) – 3,0–7,0, к акроцентрическим (терминальное положение центромеры, a) – более 7. Выделяли также хромосомы промежуточного типа – с пограничными средними значениями центромерного индекса: мета-субметацентрические (m/sm) и субмета-субтелоцентрические (sm/st). 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). Расчет средних значений кариометрических параметров, сравнение длин тотальных гаплоидных наборов хромосом по t-критерию Стьюдента производили при помощи статистического онлайн-калькулятора, размещенного на сайте <https://math.semestr.ru/>.

Проточная цитометрия

Содержание ДНК в ядре для растений родов *Trollius* и *Hegemone* 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 мМ Хепес, 10 мМ метабисульфит натрия, 10 мМ MgCl₂, 0,5%-й поливинилпирролидон, 0,2%-й бычий сывороточный альбумин, 0,3%-й Tween 20, 0,2%-й Triton X-100, 50 мкг/мл РНКазы, 50 мкг/мл йодид пропидия. Образцы фильтровали через нейлоновый фильтр с размером пор 50 мкм. Результаты флуоресценции 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 pg (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. Проточная цитометрия выполнена на базе Лаборатории биоинженерии Алтайского государственного университета (г. Барнаул).

Результаты и обсуждение

Кариотипы *Trollius* и *Hegemone*

Проведенный нами анализ литературы по цитогенетике рода *Trollius*, а также наши исследования демонстрируют, что для рода характерны хромосомы крупного и среднего размеров, относящиеся к R-типу по О. Langlet (1932). Хромосомные наборы включают метацентрики (m), субметацентрики (sm) и субтелоцентрики (st) по классификации Levan et al. (1964). Акроцентрические и телоцентрические («одноплечие») хромосомы, очевидно, не характерны для этого рода растений. Данные о наличии у *Trollius* и

Hegemone добавочных В-хромосом в проанализированных нами источниках отсутствуют.

Нами изучены кариотипы у *Trollius altaicus*, *T. asiaticus*, *T. ledebourii* и *Hegemone lilacina*. Для всех исследованных образцов установлено число хромосом в соматических клетках $2n = 16$ (табл. 1; рис. 1). Это согласуется с результатами, ранее полученными другими исследователями. Однако для *H. lilacina* известна также и тетраплоидия с числом хромосом $2n = 32$ (Rice et al., 2015). Мы провели морфометрический анализ хромосом *Trollius altaicus*, *T. asiaticus*, *T. ledebourii* и *Hegemone lilacina* и определили формулы их кариотипов (табл. 1, 2; рис. 2). Для трех видов купальниц характерны схожие хромосомные наборы, как по размерам, так и по морфологическим типам хромосом. Общей чертой кариотипов этих видов, особенно *Trollius asiaticus* и *T. ledebourii*, является то, что некоторые пары субметацентрических хромосом не всегда можно четко дифференцировать по длине и положению центромеры при рутинном окрашивании. Степень асимметрии кариотипов всех изученных видов по Стеббинсу (Stebbins, 1971) – 3А.

Таблица 2
Кариометрические параметры изученных видов *Trollius* и *Hegemone* (Ranunculaceae)

№ пары хромосом	L + S	L/S	Тип хромосом	L + S	L/S	Тип хромосом
	<i>Trollius altaicus</i>			<i>Trollius asiaticus</i>		
I	4,10 ± 0,27	2,03 ± 0,10	sm	3,79 ± 0,21	1,57 ± 0,07	m
II	3,50 ± 0,07	1,98 ± 0,08	sm	4,07 ± 0,30	1,85 ± 0,08	sm
III	3,50 ± 0,05	2,64 ± 0,09	sm	3,69 ± 0,36	2,02 ± 0,09	sm
IV	3,25 ± 0,20	2,06 ± 0,08	sm	3,71 ± 0,18	2,26 ± 0,16	sm
V	3,22 ± 0,20	2,50 ± 0,03	sm	3,24 ± 0,32	2,18 ± 0,15	sm
VI	3,09 ± 0,07	2,59 ± 0,12	sm	3,01 ± 0,15	2,67 ± 0,28	sm
VII	3,06 ± 0,12	1,86 ± 0,02	sm	3,33 ± 0,18	3,06 ± 0,33	sm/st
VIII	3,66 ± 0,17	3,20 ± 0,12	st	3,46 ± 0,29	3,59 ± 0,25	st
THL	27,31 ± 0,73			28,19 ± 0,50		
	<i>Trollius ledebourii</i>			<i>Hegemone lilacina</i>		
I	4,20 ± 0,19	1,56 ± 0,15	m/sm	5,12 ± 0,03	1,59 ± 0,07	m
II	4,59 ± 0,17	2,00 ± 0,13	sm	4,33 ± 0,17	1,39 ± 0,05	m
III	4,06 ± 0,31	1,91 ± 0,17	sm	5,15 ± 0,03	2,05 ± 0,13	sm
IV	4,04 ± 0,35	2,59 ± 0,24	sm	4,48 ± 0,22	2,19 ± 0,25	sm
V	3,65 ± 0,41	2,00 ± 0,18	sm	4,12 ± 0,32	2,74 ± 0,25	sm
VI	3,60 ± 0,26	2,45 ± 0,14	sm	3,55 ± 0,35	2,30 ± 0,14	sm
VII	4,00 ± 0,24	3,41 ± 0,32	st	4,17 ± 0,25	3,24 ± 0,08	st
VIII	3,55 ± 0,26	3,42 ± 0,30	st	4,41 ± 0,16	3,62 ± 0,26	st
THL	31,72 ± 1,44			35,32 ± 0,83		

Примеч.: L – длина длинного плеча хромосомы; S – длина короткого плеча хромосомы; L + S – длина всей хромосомы (среднее значение ± SD, мкм); L/S – плечевой индекс (среднее значение ± SD); m – метацентрическая хромосома; sm – субметацентрическая хромосома; st – субтелоцентрическая хромосома; THL – средняя тотальная длина гаплоидного набора хромосом (среднее значение ± SD, мкм).

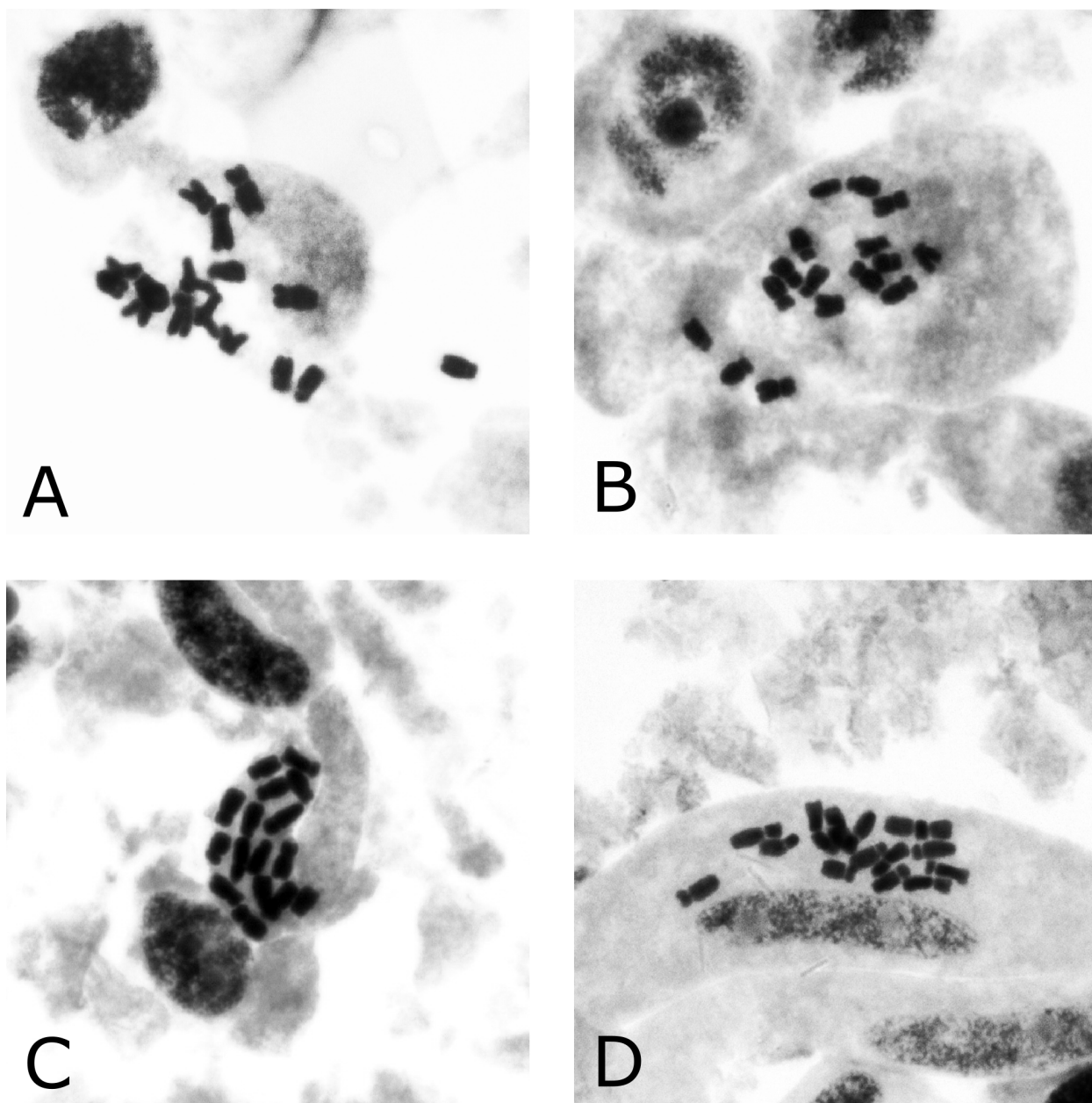


Рис. 1. Метафазные митотические хромосомы: А – *Trollius altaicus*, $2n = 16$; В – *Trollius asiaticus*, $2n = 16$; С – *Trollius ledebourii*, $2n = 16$; D – *Hegemone lilacina*, $2n = 16$. Шкала = 10 мкм.

Формулы кариотипов *Trollius altaicus* и *T. ledebourii*, установленные нами, несколько отличаются от представленных ранее в работе Doroszevska (1967): $2n = 2x = 8 sm + 8 st$ и $2n = 2x = 10 sm + 6 sm/st$ соответственно. Следует отметить, что эти формулы не приведены в ее работе, а рассчитаны нами на основании результатов измерений, указанных в публикации, поскольку данный исследователь придерживается другой классификации хромосом. Такие различия могут быть связаны с вышеобозначенными причинами. В первую очередь, с особенностями

предобработки меристематических клеток и морфометрического анализа хромосом. Величины плечевых индексов некоторых пар хромосом имеют пограничные значения и, таким образом, эти пары могут быть отнесены к смежным морфологическим типам. Например, к субметацентрическому или субтелоцентрическому в зависимости от применяемого подхода к анализу кариотипа. Данным исследователем проводились измерения на менее конденсированных хромосомах, чем изучали мы (табл. 2). Длина изученных Doroszevska хромосом *Trollius altaicus* ва-

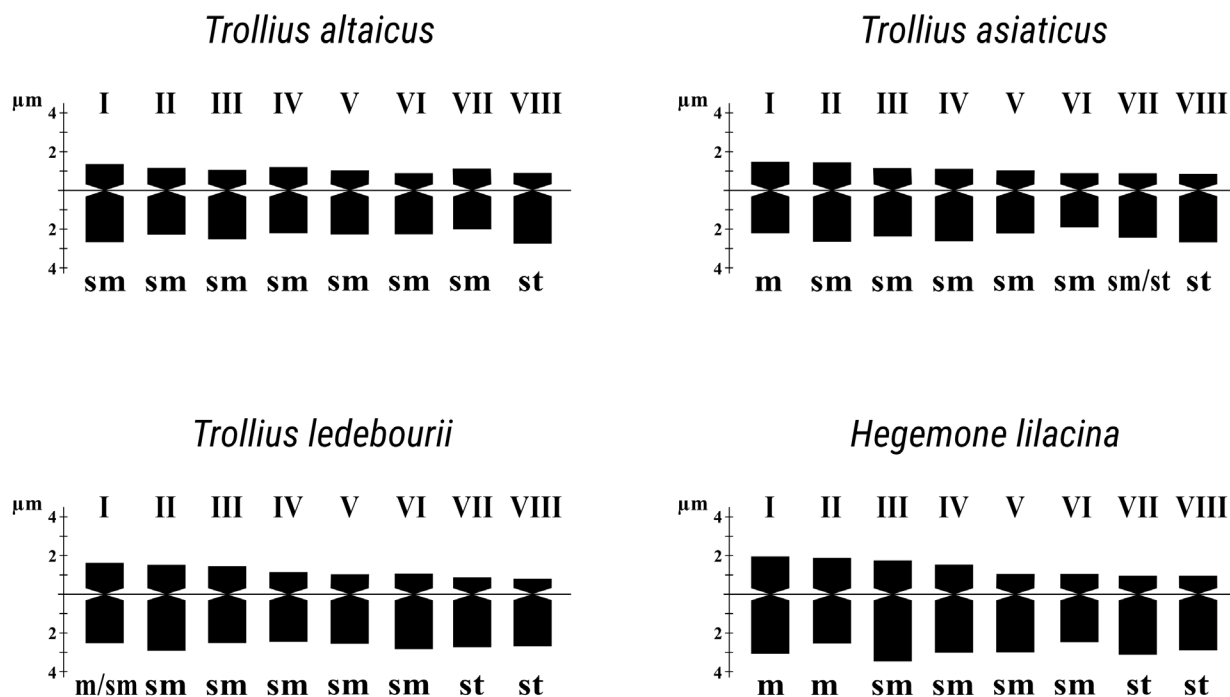


Рис. 2. Идиограммы изученных видов *Trollius* и *Hegemone*. Обозначения: m – метацентрическая хромосома; sm – субметацентрическая хромосома; st – субтелоцентрическая хромосома; I–VIII – пары хромосом.

рьировала от 5,4 до 7,9 мкм, а для *T. ledebourii* – от 3,9 до 5,7 мкм. Как правило, длинное плечо конденсируется сильнее и позднее короткого плеча. В связи с этим, при измерении менее укороченных хромосом, плечевой индекс будет несколько выше, чем при измерении более компактизованных. На степень конденсации хромосом влияет характер предобработки клеток меристемы перед фиксацией (ее продолжительность и вид цитостатика) (Mártonfiová, 2013). Учитывая эти обстоятельства, можно сделать вывод о том, что результаты по кариометрии купальниц, полученные Doroszevska и нами, в целом, сходны. В своей публикации автор сравнивает свои данные с данными Kurita (1960, 1965) по кариотипам *Trollius altaicus* и *T. ledebourii* и также указывает на их различия.

Для трех китайских видов купальниц *Trollius chinensis*, *T. farreri* и *T. yunnanensis*, у которых мы определили только содержание ДНК в ядре, известны формулы кариотипов из литературных источников. Так, в публикации Doroszevska (1967) представлен хромосомный набор *T. chinensis*: $2n = 2x = 16 = 8 \text{ sm} + 4 \text{ sm/st} + 4 \text{ st}$, а в работе Yang (2002) – *T. farreri*: $2n = 2x = 16 = 4 \text{ m} + 4 \text{ sm} + 8 \text{ st}$. Кариотип *T. yunnanensis* описан обоими авторами. Причем у Doroszevska $2n = 2x = 16 = 2 \text{ m} + 6 \text{ sm} + 4 \text{ sm/st} + 4 \text{ st}$, а у Yang $2n =$

$2x = 16 = 4 \text{ m} + 4 \text{ sm} + 8 \text{ st}$. То есть формула кариотипа для последнего вида у этих двух авторов различается. Важным является разное происхождение материала, изученного этими исследователями: в первом случае семена *T. yunnanensis* были получены из ботанического сада Грайфсвальда, во втором – из природной популяции. В своей работе Doroszevska отмечает, что некоторые виды купальниц спонтанно гибридизуются при совместном выращивании в ботанических садах. Поэтому материал, полученный оттуда, не всегда является подходящим для работ, направленных на выявление видоспецифичных особенностей, в том числе хромосомных наборов.

Кариотип *Hegemone lilacina* изучен нами впервые. В отличие от исследованных нами купальниц, данный вид характеризуется присутствием в кариотипе двух пар метацентриков и более высокой длиной тотального гаплоидного набора хромосом, что согласуется с данными по содержанию ДНК в их ядрах. Тотальная длина гаплоидного набора хромосом не является стабильным показателем кариотипа и может варьировать между метафазными пластинками даже на одном препарате. Тем не менее, мы провели сравнение ее значений для изученных нами видов, поскольку использовали одни и те же методики приготовления препаратов и подходы к

морфометрическому анализу хромосом. Кроме того, мы дополнительно оценивали содержание ДНК в ядре, которое является более стабильной характеристикой генома. Для полученных средних значений тотальной длины гаплоидного набора хромосом не установлены статистически достоверные различия при уровне значимости $p = 0,05$ только для пары видов – *Trollius altaicus* и *T. asiaticus*, для остальных пар видов были установлены различия.

Таким образом, морфология хромосом у растений рода *Trollius* не является четким видоспецифичным признаком, как, например, для представителей того же семейства Ranunculaceae – растений рода *Eranthis* Salisb. (Mitrenina, Erst, 2019). Вероятно, нужно искать другие специфичные особенности их кариотипов, используя более детальные подходы – С-бэндинг, локализацию консервативных последовательностей (например, рДНК) и другие (Badaeva, Salina, 2013).

Содержание ДНК в ядре у *Trollius* и *Hegemone*

При помощи проточной цитометрии для 8 видов определено содержание ДНК в ядре – C-value (табл. 1). Самые высокие значения среди изученных видов характерны для *Hegemone lilacina* ($9,80 \pm 0,29$ пг) и *Trollius yunnanensis* ($9,39 \pm 0,29$ пг), самые низкие – для *T. farreri* ($8,20 \pm 0,24$ пг) и *H. micrantha* ($8,28 \pm 0,25$ пг). Значения C-value для представителей *T. altaicus* из двух разных популяций идентичны ($8,48 \pm 0,25$ и $8,51 \pm 0,25$ пг) и близки значению для *T. vicarius* ($8,45 \pm 0,28$ пг). Размер генома у *T. asiaticus* из двух раз-

ных популяций варьирует ($8,66 \pm 0,26$ пг и $8,98 \pm 0,28$ пг) и близок значению для *T. chinensis* ($8,87 \pm 0,26$ пг). В базе данных значений C-value у растений (Plant DNA C-values Database) представлена информация только по одному виду рода – *T. europaeus*. Содержание ДНК в его ядре – $8,82$ пг для 2C (Zonneveld et al., 2005). Эта величина близка полученным нами значениям C-value для некоторых представителей рода *Trollius*. Значения содержания ДНК в ядре для *T. altaicus*, *T. asiaticus* и *H. lilacina* соразмерны тотальной длине гаплоидного набора хромосом (ТНЛ). Наши результаты в сочетании с предыдущими данными для других видов цветковых растений позволяют предполагать, что различия в размере генома у *Trollius* и *Hegemone* связаны с хромосомными перестройками (делециями или обменами сегментами хромосом), имеющими место на ранних этапах эволюции этих родов (de Storme, Mason, 2014; Feliner et al., 2019). На основании вариаций в содержании ДНК между исследованными популяциями, в большинстве случаев, находящихся в пределах стандартного отклонения, мы предполагаем, что размер генома в данных таксономических группах может использоваться для быстрого скрининга уровня пloidности и проведения цитогеографических исследований.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (18-04-00653 А), Государственного задания проект №FZMW-2020-0003. Авторы выражают признательность Р. В. Анненкову за оформление иллюстраций.

REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА

- Altınordu 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).
- Baltisberger M., Hörandl E. 2016. Karyotype evolution supports the molecular phylogeny in the genus *Ranunculus* (Ranunculaceae). *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 18: 1–14. DOI: 10.1016/j.ppees.2015.11.001
- De Storme N., Mason A. 2014. Plant speciation through chromosome instability and ploidy change: Cellular mechanisms, molecular factors and evolutionary relevance. *Current Plant Biology* 1: 10–33. DOI: 10.1016/j.cpb.2014.09.002.
- Doležel J., Bartoš J. 2005. Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. *Annals of Botany* 95: 99–110. DOI:10.1093/aob/mci005
- 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
- Doroszewska A. 1967. Chromosomes of some *Trollius* species. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 36(3): 567–577.

- Kadota Y.** 1987. Genus *Trollius* L. (Ranunculaceae) in Japan. *Bull. Natn. Sci. Mus., Tokyo. Ser. B.* 13(3): 107–121.
- 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.
- Kurita M.** 1957. Chromosome studies in Ranunculaceae VI. Karyotypes of six genera. *Rep. Biol. Inst. Ehime Univ.* 3: 9–15.
- Kurita M.** 1959. Chromosome studies in Ranunculaceae XIV. Karyotypes of several genera. *Mem. Ehime Univ. Sect. II.* 3: 25–32.
- Kurita M.** 1960. Chromosome studies in Ranunculaceae XVII. Karyotypes of some species. *Mem. Ehime Univ. Sect. II.* 4: 59–66.
- Langlet O.** 1932. Über chromosomenverhältnisse und systematik der Ranunculaceae. *Svensk Botanisk Tidskrift.* 26: 381–400.
- Levan A., Fredgam K., Sandberg A.** 1964. Nomenclature for centrometric position of chromosomes. *Hereditas* 52: 201–220.
- Li L., Tamura M.** 2001. *Trollius* L. In: *Flora of China*. Vol. 6. Ranunculaceae. St Louis: MO: Missouri Botanical Garden. Pp. 133–438.
- Luferov A., Erst A., Luferov D., Shmakov A., Wang W.** 2018. The genus *Trollius* (Ranunculaceae) in the Russian Far East. *Turczaninowia* 21, 2: 110–116. DOI: 10.14258/turczaninowia.21.2.12
- Mártonfióvá L.** 2013. A method of standardization of chromosome length measurement. *Caryologia: International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics* 66(4): 304–312. DOI: 10.1080/00087114.2013.854565
- Mitrenina E. Yu., Erst A. S.** 2019. Karyosystematic study of the genus *Eranthis* Salisb. (Ranunculaceae). *Problems of Botany of South Siberia and Mongolia* 1(18): 145–149. [In Russian] (Митренина Е. Ю., Эрст А. С. Кариосистематическое изучение рода *Eranthis* Salisb. (Ranunculaceae) // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии, 2019. Т. 1(18). С. 145–149). DOI: 10.14258/pbssm.2019028
- Mlinarec J., Šatovic Z., Mihelj D., Malenica N., Besendorfer V.** 2012. Cytogenetic and phylogenetic studies of diploid and polyploid members of Tribe *Anemoninae* (Ranunculaceae). *Plant Biology* 14: 525–536. DOI: 10.1111/j.1438-8677.2011.00519.x
- Leitch I. J., Johnston E., Pellicer J., Hidalgo O., Bennett M. D.** 2019. Plant DNA C-values Database (Release 7.1). URL: <https://cvalues.science.kew.org/> (Accessed 05 January 2020).
- 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
- 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. *Tsitologia* 10(12): 1601–1602. [In Russian] (Смирнов Ю. А. Ускоренный метод исследования соматических хромосом плодовых // Цитология, 1968. Т. 10, № 12. С. 1601–1602).
- Stebbins G. L.** 1971. *Chromosomal evolution in higher plants*. London: Arnold. 216 pp.
- Tamura M.** 2002. *Trollius* L. In: *Die Natürlichen Pflanzenfamilien*. Ed. P. Hiepko. Band 17a, IV. Berlin: Duncker und Humblot. Pp. 238–244.
- Vitales D., Alvarez I., Garcia S., Hidalgo O., Feliner G. N., Pellicer J., Valles J., Garnatje T.** 2019. Genome size variation at constant chromosome number is not correlated with repetitive DNA dynamism in *Anacyclus* (Asteraceae). *Annals of Botany* mcz183. DOI: 10.1093/aob/mcz183
- Yang Q.-E.** 2002. Cytology of the tribe *Trollieae* and of the tribe *Cimicifugeae* in the Ranunculaceae: a comparative study. *Acta Phytotaxonomica Sinica* 40: 52–65.
- Yuan Q., Yang Q.-E.** 2006. Tribal relationships of *Beesia*, *Eranthis*, and seven other genera of Ranunculaceae: evidence from cytological characters. *Botanical Journal of the Linnean Society* 150: 267–289.
- Zonneveld B. J. M., Leitch I. J., Bennett M. D.** 2005. First nuclear DNA amounts in more than 300 angiosperms. *Annals of Botany* 96: 229–244. DOI: 10.1093/aob/mci170