

Кариологический анализ видов *Chondrilla brevirostris* и *C. laticoronata* (Asteraceae) европейской части ареала

Cariological analysis of *Chondrilla brevirostris* and *C. laticoronata* (Asteraceae) species in the European part of the range

Пархоменко А. С., Кашин А. С., Гребенюк Л. В.

Parkhomenko A. S., Kashin A. S., Grebenyuk L. V.

Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н. Г. Чернышевского, г. Саратов, Россия.
E-mails: parkhomenko_as@mail.ru, kashinas2@yandex.ru

Saratov State University, Saratov, Russia

Реферат. Проведен кариологический анализ двух видов *Chondrilla* (*C. brevirostris* и *C. laticoronata*), произрастающих в европейской части ареала методом рутинного окрашивания хромосом. Составлены кариотипы *C. laticoronata* ($3x=15$) и *C. brevirostris* ($3x=15$) и описано морфологическое строение хромосом. Выявлен полиморфизм по морфологии хромосом III группы (мета- или субметацентрики) в двух популяциях *C. laticoronata* из Астраханской области. В популяциях *C. brevirostris* наблюдался не только внутривидовой, но и внутривидовой полиморфизм по морфологии хромосом III и IV групп.

Ключевые слова. Кариотип, хромосомы, *Chondrilla*, Asteraceae.

Summary. A karyological analysis of two species of *Chondrilla* (*C. brevirostris* and *C. laticoronata*), growing in the European part of the range by the method of routine staining of chromosomes, was carried out. The karyotypes of *C. laticoronata* ($3x=15$) and *C. brevirostris* ($3x=15$) were compiled and the morphological structure of chromosomes was described. A polymorphism was revealed from the morphology of group III chromosomes (meta- or submetacentrics) in two populations of *C. laticoronata* from the Astrakhan region. In populations of *C. brevirostris*, not only intraspecific but also intrapopulation polymorphism was observed according to the morphology of chromosomes of groups III and IV.

Key words. Asteraceae, *Chondrilla*, chromosomes, karyotype.

Исследование кариотипов имеет большое значение для систематики и установления взаимоотношений изучаемого вида с другими и тем самым, в какой-то степени, для составления представлений об эволюции вида. Особый интерес в отношении кариотипической изменчивости представляют таксоны, растения которых воспроизводятся путём факультативного гаметофитного апомиксиса, но в отношении изменчивости морфологии хромосом у апомиктов имеются очень ограниченные сведения. Это заключение в полной мере справедливо и для представителей рода *Chondrilla* (Asteraceae), большая часть из которых является апомиктами (Угольников и др., 2017), данные о внутри- и межпопуляционной изменчивости параметров хромосом у которых являются неполными и фрагментарными, поскольку представители этого рода кариологически недостаточно изучены (Пархоменко, Кашин, 2018; Poddubnaja-Arnoldi, 1933; Bergman, 1952). Поэтому целью нашего исследования было изучение морфологии хромосом двух апомиктичных видов рода *Chondrilla* (*C. brevirostris* Fisch. et C. A. Mey. и *C. laticoronata* Leonova) произрастающих на европейской части ареала.

В качестве исходного материала для исследования были использованы семена, собранные в 2016–2017 гг. в 6 популяциях *C. brevirostris* и в 4 популяциях *C. laticoronata* из Астраханской обл., Р. Калмыкия и Казахстана (табл.).

Для анализа числа и морфологии хромосом использовали клетки апикальных меристем корешков проростков, которые на 3 сутки после проращивания обрабатывали водным раствором бромнафта-

лина и фиксировали в фиксаторе Кларка, а затем окрашивали в ацетогематоксилине и далее готовили временные давленные препараты. Материал анализировали под масляной иммерсией, используя микроскоп Carl Zeiss Axio Scope A1.

В кариотипах триплоидов, на основании морфометрических показателей и визуального сходства, выделяли 5 групп хромосом, как правило, по три хромосомы в каждой. Группы хромосом обозначались римскими цифрами от I до V (Гриф, Агапова, 1986). При обнаружении полиморфизма по морфологии хромосом в пределах одной группы каждая хромосома обозначалась арабской цифрой (1–3).

У хромосом измеряли локализацию вторичной перетяжки – отношение расстояния от центромеры до перетяжки к длине плеча (S_c , %), абсолютную длину (L^a , мкм) – сумма длин обоих плеч, относительную длину (L^r , %) – отношение абсолютной длины хромосомы к длине хромосомного набора, определяли центромерный индекс (I^c , %) – отношение абсолютной длины короткого плеча к абсолютной длине всей хромосомы, и индекс спирализации (I^s , %) – отношение суммы длин двух коротких хромосом к сумме длин двух длинных хромосом. За общую длину генома (G , мкм) принимали сумму абсолютных длин всех хромосом набора.

Таблица

Места сбора популяций *Chondrilla* для кариотипического исследования

Усл. № популяции	Место сбора	Географические координаты	
		северная широта	восточная долгота
<i>C. brevirostris</i>			
29	Астраханская обл., Ахтубинский р-н, окр. с. Болхуны	47°59'17.8"	46°25'52.6"
46	Астраханская обл., Харабалинский р-н, окр. с. Вольное	47°08'07.5"	47°42'12.4"
55	Астраханская обл., Ахтубинский р-н, окр. п. Верблюжий	47°43'32.2"	46°52'37.9"
58	Астраханская обл., Красноярский р-н, окр. с. Досанг	46°54'56.1"	47°55'07.6"
59	Р. Калмыкия, Яшкульский р-н, окр. пос. Хулхута	46°17'38.8"	46°41'55.6"
77	Казахстан, Бокейординский р-н, окр. с. Жиеккум	48°50'53.2"	47°49'29.5"
<i>C. laticoronata</i>			
56	Астраханская обл., Ахтубинский р-н, окр. п. Верблюжий	47°43'32.2"	46°52'37.9"
70	Астраханская обл., Харабалинский р-н, окр. с. Сасыколи	47°33'04.7"	46°58'55.9"
71	Астраханская обл., Харабалинский р-н, окр. с. Тамбовка	47°19'02.0"	47°22'20.3"
76	Казахстан, Бокейординский р-н, окр. с. Жиеккум	48°51'42.2"	47°48'49.2"

***Chondrilla laticoronata*.** Число хромосом в соматических клетках равно $3x=15$ (рис. 16). Индекс спирализации в исследованных популяциях в среднем был равен $47,8 \pm 2,74\%$.

Среди изученных популяций *C. laticoronata* максимальный разброс длин хромосом наблюдался в популяции № 70 (от 2,21 до 13,73 мкм), при этом средняя суммарная абсолютная длина хромосомного набора составила $101,1 \pm 1,96$ мкм. Длина хромосом в популяции № 56 колебалась в пределах от 2,27 до 9,96 мкм, а средняя суммарная абсолютная длина хромосомного набора составляла $96,1 \pm 1,86$ мкм. В популяции № 71 средняя суммарная абсолютная длина хромосомного набора составила $82,1 \pm 2,36$ мкм, а разброс длин хромосом наблюдался в пределах от 2,63 до 10,14 мкм. В популяции № 76 длина хромосом варьировала от 3,32 до 10,54 мкм, при этом значение средней длины хромосомного набора было равно $99,6 \pm 1,17$ мкм.

На поликариограмме (рис. 2а) области точек, соответствующие II и III группам хромосом, не разделяются. Выше этой области находится область точек, соответствующая хромосомам I, а ниже – хромосомам V группы. Все эти области слабо разделяются. Каждая из хромосом IV группы образует собственные области точек, хорошо обособленных друг от друга и от облаков точек, соответствующих хромосомам других групп.

На рисунке 3 представлены систематизированные кариотипы изученных популяций *C. laticoronata*. Первая группа хромосом была самой длинной в наборе и отличалась от остальных наличием

спутников и вторичной перетяжки ($S_c^{56}=75,1 \pm 2,23 \%$, $S_c^{70}=71,4 \pm 2,16 \%$, $S_c^{71}=76,8 \pm 1,98 \%$, $S_c^{76}=73,8 \pm 1,23 \%$) в дистальном районе. Хромосомы во второй группе вторичных перетяжек не имели. По положению центромеры хромосомы I и II групп относились к метацентрикам.

Третья группа хромосом в популяциях №№ 71 и 76 состояла также из метацентриков. В популяции № 56 эта группа хромосом в кариотипах 52 % исследованных растений состояла из метацентриков, у 48 % особей – из субметацентриков, а в популяции № 70 в кариотипах 30 % растений – из метацентриков, у 70 % особей – из субметацентриков (рис. 3). При этом полиморфизм хромосом наблюдался даже в соседних клетках одного апекса. Однако если выявленная перестройка наблюдалась в кариотипе, то охватывала все хромосомы группы (находилась в гомозиготном состоянии).

Четвёртая группа во всех четырёх исследованных популяциях *C. laticoronata* в кариотипах всех особей состояла из трёх хромосом, значительно отличающихся между собой по морфологическим параметрам. Первая хромосома в этой группе характеризовалась большими размерами и являлась субметацентриком. Вторая была акроцентриком средних размеров. Третья хромосома была субметацентриком и самой короткой в кариотипе. Предполагается, что такое различие в строении хромосом данной группы связано с внутри- и межхромосомной перестройками. Вероятно, изначально все хромосомы данной группы имели одинаковую длину и являлись метацентриками. Затем произошел перенос части плеча третьей хромосомы на плечо первой хромосомы (транслокация), в результате чего образовались две субметацентрические хромосомы: длинная – первая и короткая – третья. Во второй хромосоме этой группы, скорее всего, произошла перичентрическая инверсия, в результате которой эта хромосома стала акроцентрической.

Ранее у видов *Chondrilla* подобного рода хромосомные перестройки описаны не были. Безусловно, без дополнительных молекулярно-цитогенетических исследований с использованием методов дифференциального окрашивания и *in situ* гибридизации (FISH, GISH) нет оснований однозначно утверждать в результате каких именно перестроек могли произойти выявленные изменения в морфологии хромосом. Поэтому предположения носят сугубо гипотетический характер, и исходят из существующих представлений о преобразованиях в геноме (Belay, Merker, 1998; Lim et al., 2008; Chester et al., 2015; Адонина и др., 2016; Badaeva et al., 2018).

C. laticoronata – недавний вселенец на юго-восток европейской части России, скорее всего, из Западного Казахстана. Популяция № 56 – самая северная из астраханских и географически ближе всего произрастает к исследованной западно-казахстанской популяции № 76. Только в этих двух популяциях *C. laticoronata* выявлен полиморфизм по хромосомам III группы. В то же время во всех 4-х популяциях таксона хромосомы IV группы морфологически отличались друг от друга. В связи с этим обоснованно предполагать, что в случае популяций №№ 70 и 71 (более южные по месту произрастания исследованные в пределах Астраханской обл.), – с одной стороны, – и популяций № 56 (самая северная из исследованных популяций таксона в Астраханской обл.) и № 76 (произрастает в пределах севера западно-казахстанской части ареала таксона), – с другой, – речь идёт о независимых путях миграции кариотипов

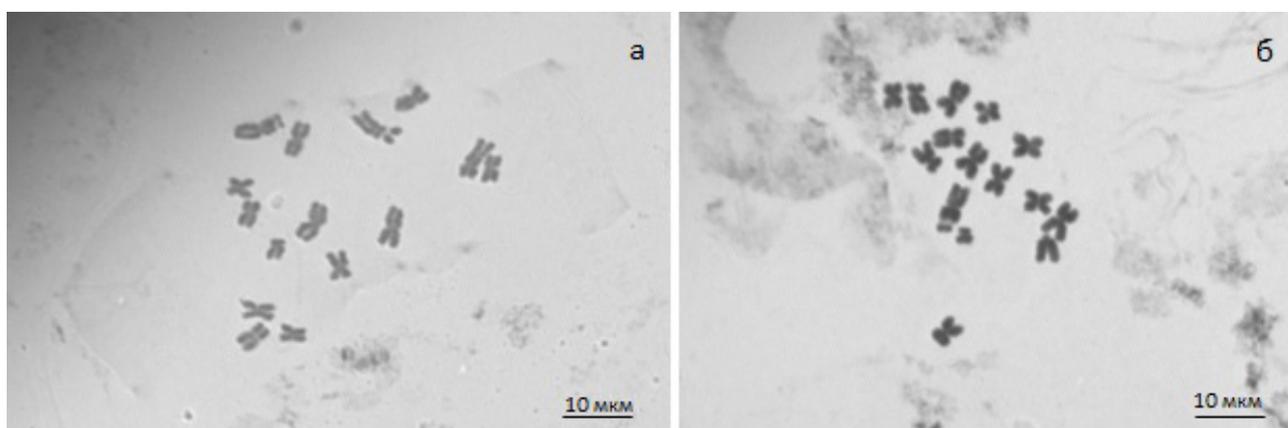


Рис. 1. Метафазные пластинки *C. brevirostris* (№ 46) (а) и *C. laticoronata* (№ 56) (б).

с более северным, – в случае популяции № 56, – и более южным, – в случае популяций №№ 70 и 71, – проникновением растений таксона из Казахстана на территорию Астраханской обл.

Исходя из гипотезы о том, что три морфологически разных хромосомы в IV группе, встречающиеся во всех кариотипах *C. laticoronata*, возникли как следствие предполагаемых хромосомных мута-

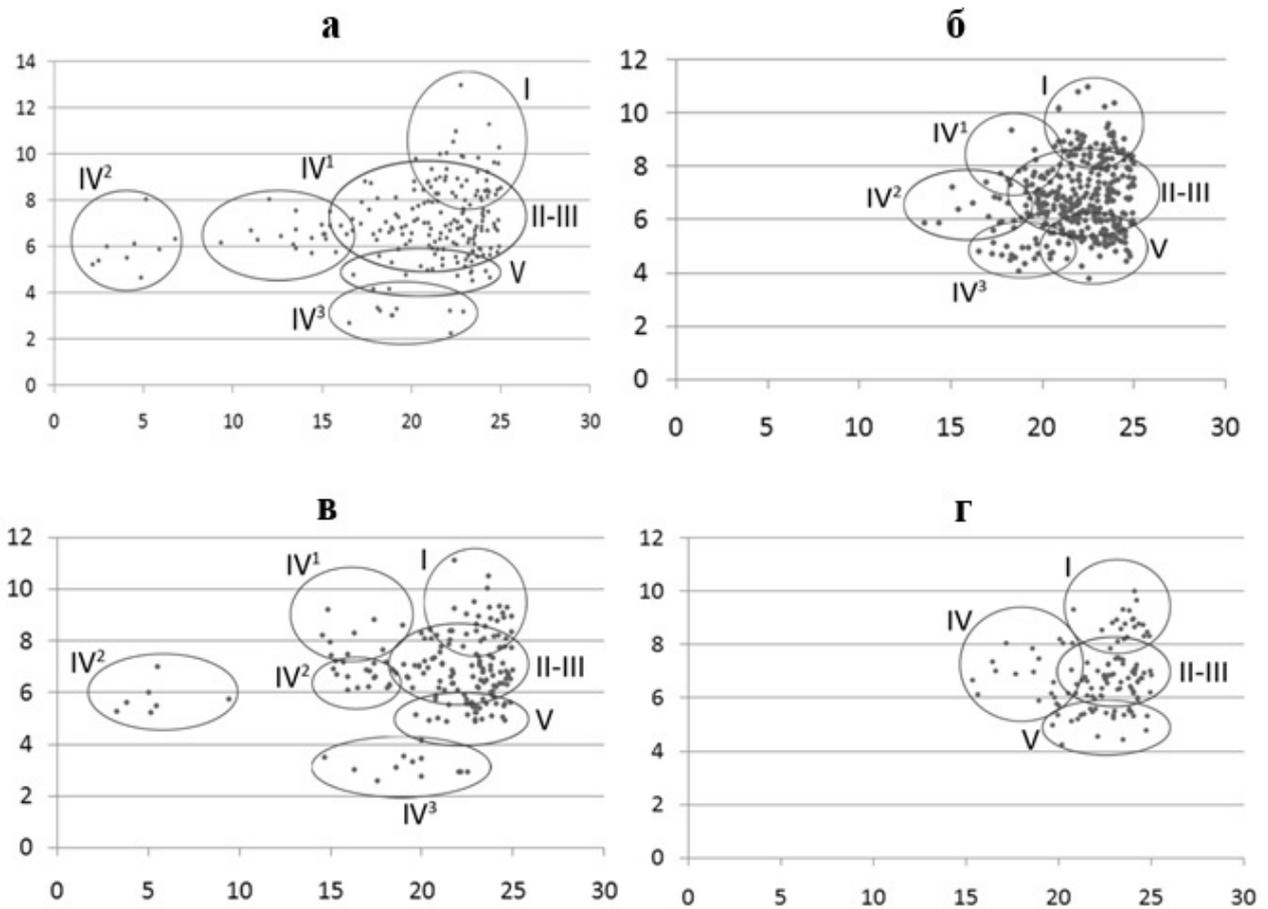


Рис. 2. Поликариогаммы *C. laticoronata* популяций №№ 56, 70, 71, 76 (а) и *C. brevirostris* популяций №№ 29, 46, 55, 58 (б), 59 (в), 77 (г). Верхним индексом обозначен номер хромосомы в группе.

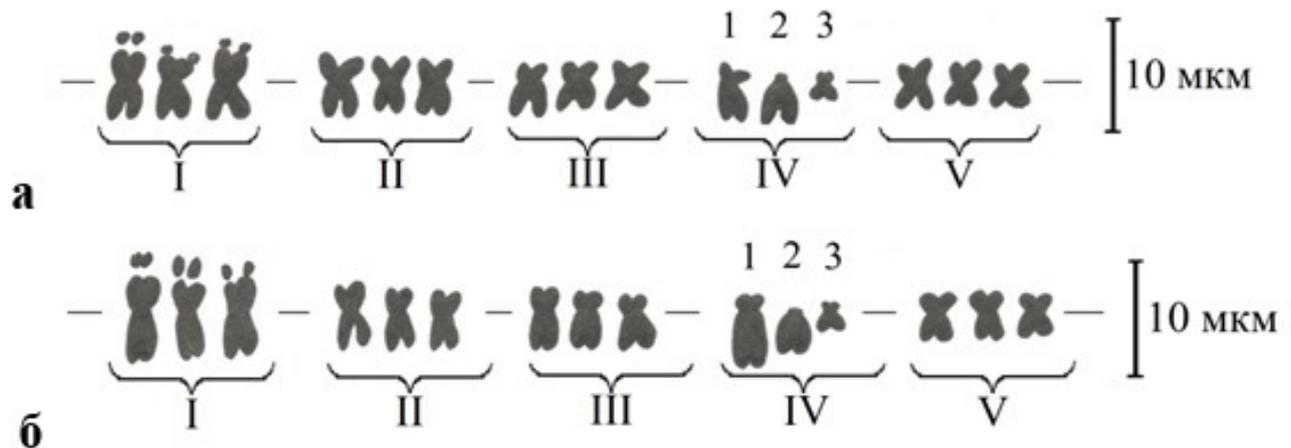


Рис. 3. Систематизированные кариотипы *C. laticoronata*: а – популяции №№ 56, 70, 71 и 76; б – популяции №№ 56, 70.

ций в виде транслокации и / или перичентрической инверсии, а в хромосомах III группы у части растений двух из четырёх исследованных популяций произошла перичентрическая инверсия, обоснованно полагать, что мутации в хромосомах IV группы гораздо древнее, чем мутации по хромосомам III группы. Эти перестройки произошли в своё время, скорее всего, в описанном ранее триплоидном кариотипе *C. pauciflora* (Пархоменко и др., 2018) и могли быть причиной репродуктивной изоляции и последующего возникновения таксона *C. laticoronata*.

В кариотипах растений популяций *C. laticoronata*, помимо мутаций, встречались единичные случаи выпадения хромосом: № 56 – отмечен случай нехватки одной хромосомы в V группе, № 71 – в III группе, № 76 – во II группе. В популяции № 70 на одной метафазной пластинке не хватало двух хромосом в I группе и двух хромосом в V группе, а на двух метафазных пластинках отсутствовала акроцентрическая хромосома в IV группе.

На основании вышеизложенного для *C. laticoronata* формула кариотипа будет выглядеть следующим образом: $3 \times (L_m^c + L_m + L_{m(s)}) + (L_s + M_a + S_s) + 3M_m$.

Chondrilla brevirostris. Выявлено соматическое число хромосом $3x=15$ (рис. 1а), но в популяции № 29 была отмечена одна тетраплоидная особь с добавочной хромосомой в четвёртой группе ($4x+1=21$). Индекс спирализации в исследованных популяциях в среднем был равен $53,9 \pm 4,33$ %.

Среди изученных популяций *C. brevirostris* средняя суммарная абсолютная длина хромосомного набора была максимальной в популяциях №№ 58 и 29 ($109,4 \pm 1,98$ и $105,2 \pm 1,48$ мкм соответственно). Популяции №№ 46 и 59 по этой величине достоверно не различались ($99,8 \pm 1,86$ и $98,9 \pm 1,32$ мкм соответственно). Значение средней суммарной абсолютной длины хромосомного набора в популяции № 55 было равно $91,2 \pm 2,17$ мкм. Самая короткая длина хромосомного набора была в популяции № 77 ($86,9 \pm 1,15$ мкм). При этом максимальный разброс длин хромосом наблюдался в популяции № 59 (от 2,7 до 13,1 мкм); минимальный – в популяции № 77 (от 3,8 до 9,5 мкм). В популяциях №№ 29, 46, 55 и 58 отмечено сходное варьирование абсолютных длин хромосом (от 3,9 до 12,1 мкм).

На поликариограммах видно, что все изученные популяции *C. brevirostris* имеют аналогичное распределение областей точек, соответствующих разным группам хромосом, в том числе и каждой из хромосом IV группы (рис. 2 б, в, г). Все облака точек плохо, а в ряде случаев вовсе не обособлены. Только в популяции № 59 имеется область точек, хорошо обособленная от остальных и соответствующая второй хромосоме IV группы (рис. 2в). В то же время этой хромосоме соответствует ещё одно, но уже плохо обособленное от остальных облако. Такое распределение точек на поликариограмме объясняется двумя вариантами морфологического строения этой хромосомы, один из которых, скорее всего, возник в результате мутации.

На рисунке 4 представлены систематизированные кариотипы изученных популяций *C. brevirostris*.

Первая группа хромосом во всех исследованных популяциях *C. brevirostris*, как и у предыдущего таксона, представлена длинными хромосомами, имеющими вторичные перетяжки ($S_c^{29}=69,3 \pm 2,17$ %, $S_c^{46}=62,1 \pm 1,19$ %, $S_c^{55}=62,5 \pm 2,13$ %, $S_c^{58}=61,1 \pm 1,01$ %, $S_c^{59}=72,6 \pm 3,2$ %, $S_c^{77}=72,2 \pm 2,15$ %). Вторая группа хромосом была несколько меньше первой и не имела вторичных перетяжек. Также как хромосомы I группы, хромосомы второй группы были метацентриками. Пятая группа была образована небольшими метацентрическими хромосомами. Средняя абсолютная длина хромосом внутри групп между исследованными популяциями достоверно не отличалась.

Хромосомы всех групп у растений популяции № 77, как и части особей из популяций №№ 29, 46, 55 и 58, были метацентриками (рис. 4а). В популяции № 29 у единственной тетраплоидной по соматическому набору хромосом особи хромосомы I, II, IV и V групп также были метацентриками (рис. 4в). В то же время хромосомы III группы в кариотипе этой особи были субметацентриками, что может быть следствием внутривидовых перестроек. В кариотипах популяций №№ 46, 55 и 59 *C. brevirostris* также наблюдался полиморфизм III группы хромосом (рис. 4а, б, д, е). На большинстве метафазных пластинок (83 %) эта группа была представлена метацентриками, но в 17% – субметацентриками.

Наиболее варибельной по морфологии у *C. brevirostris*, также как в популяциях *C. laticoronata*, была четвёртая группа хромосом. Эта группа состояла из метацентрических хромосом в популяциях

№ 29 (у 45,0 % особей), № 46 (у 69,2 % особей), № 55 (у 50,0 % особей) и № 58 (у 37,5 % особей) (рис. 4а). Встречались кариотипы, где первая и третья хромосомы в IV группе являлись субметацентриками (рис. 4б, в, г, е), и в 1,5–2 раза отличающиеся друг от друга по длине. В популяции № 59 такая разница в длине между этими хромосомами носила постоянный характер. Подобные различия в морфологии хромосом внутри одной группы, вероятно, можно объяснить межхромосомной мутацией. В ходе эволюции между первой и третьей хромосомами IV группы могла возникнуть транслокация, которая в популяциях №№ 29, 46, 55 и 58 встречается в кариотипах не у всех особей, но закрепилась в кариотипе популяции № 59.

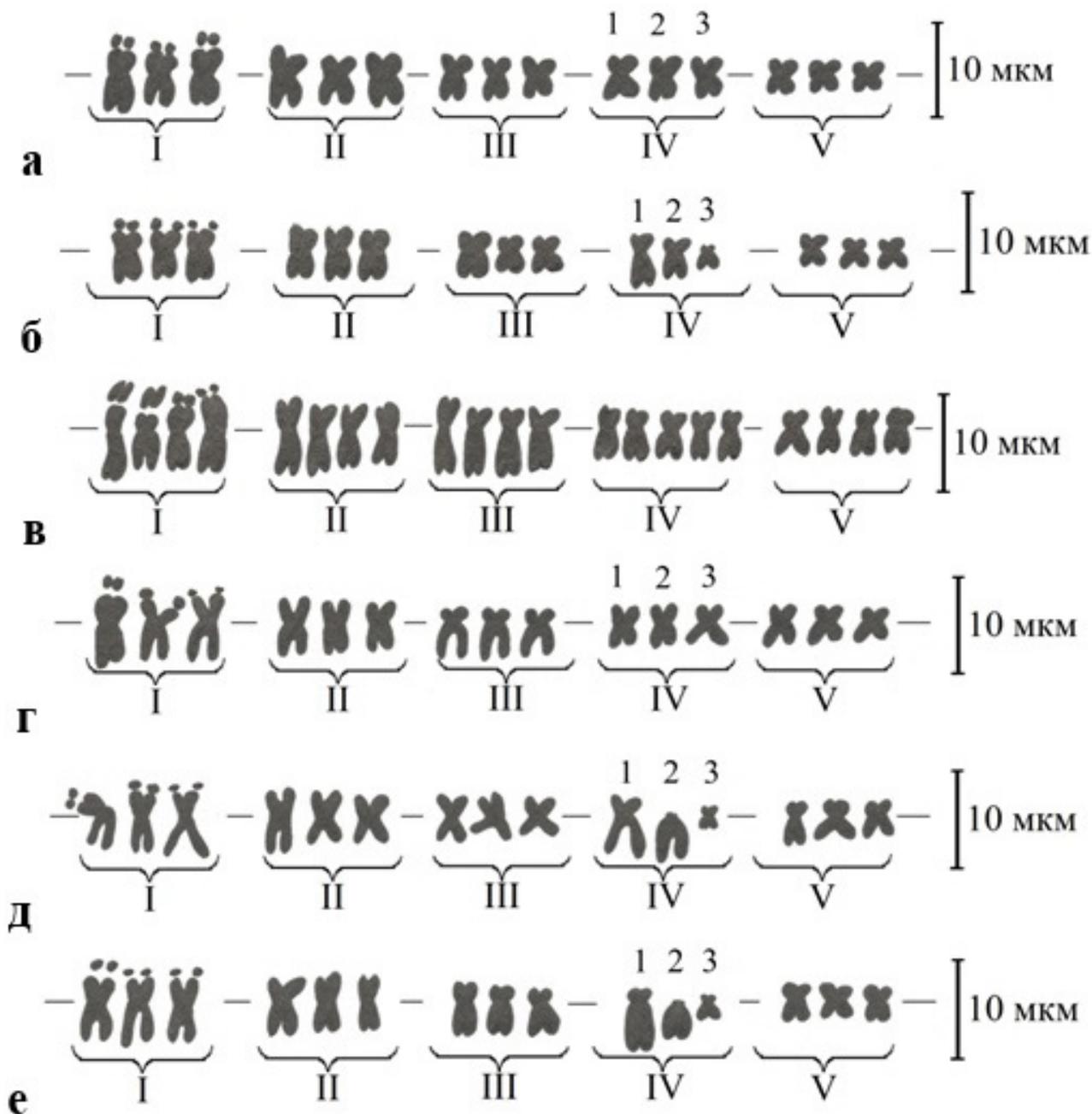


Рис. 4. Систематизированные кариотипы *C. brevirostris*: а – популяции №№ 29, 46, 55, 58 и 77; б – популяции №№ 29, 46, 55, 58 и 59; в – популяция № 29 – (4x+1); г – популяции №№ 46 и 55; д – популяция № 59; е – популяция № 59.

Кроме того, в популяции № 59 наблюдался полиморфизм по морфологии второй хромосомы в IV группе. В кариотипах 17 % растений эта хромосома была акроцентрической (рис. 4д, е), а в остальных случаях – метацентрической (рис. 4б). Те кариотипы особей *C. brevirostris*, которые содержали акроцентрическую хромосому, были очень похожи на кариотипы *C. laticoronata* (рис. 3, 4б), что, скорее всего, объясняется аналогичной внутривидовой перестройкой (перичентрической инверсией) и свидетельствует о близкородственности этих таксонов.

Таким образом, предложить одну формулу кариотипа, которая подходила бы для всех изученных популяций *C. brevirostris* не представляется возможным. Для популяций, в которых отмечены внутривидовые изменения на хромосомном уровне, можно составить сразу несколько формул кариотипов. Например, для кариотипов популяций №№ 29 и 58 будут соответствующими следующие формулы: $3 \times (L_m^c + 2L_m) + (L_s + M_m + S_s) + 3M_m$, или формула кариотипа $3 \times (L_m^c + 2L_m + 2M_m)$ которая также соответствует и популяции № 77. Для популяций №№ 46 и 55 – $3 \times (L_m^c + L_m + L_{m(s)} + 2M_m)$ или $3 \times (L_m^c + 2L_m) + (L_s + M_m + S_s) + 3M_m$. Для популяции № 59 будет верна формула кариотипа $3 \times (L_m^c + L_m + L_{m(s)}) + (L_s + M_{m(a)} + S_s) + 3M_m$, а для тетраплоида из популяции № 29 – $4 \times (L_m^c + L_m + M_s + 2M_m)$.

Помимо полиморфизма в морфологии хромосом в популяциях №№ 29, 46, 55, 58 и 77 были отмечены случаи миксоплоидии, связанные с потерей хромосом. Так, в популяциях №№ 29 и 58 на одной метафазной пластинке не хватало второй хромосомы в IV группе. В популяции № 46 в одном случае отсутствовала хромосома в V группе, а в другом – не хватало сразу двух хромосом (во II и в IV группах). В популяции № 55 отмечено 3 метафазных пластинки с недостающими хромосомами: на одной – не хватало второй хромосомы в IV группе, на другой – отсутствовали сразу три хромосомы – одна в I и две в V группе, на третьей – не было одной хромосомы в I группе. В популяции № 77 на одной метафазной пластинке во II группе было только две хромосомы, а в V группе содержала только одну хромосому.

Исходя из вышесказанного, очевидно, что для *C. brevirostris* характерен не только межпопуляционный, но и внутривидовой полиморфизм по морфологии хромосом. Кариотип популяции № 77 морфологически аналогичен или близок описанному ранее кариотипу *C. pauciflora* популяции № 78 (Пархоменко и др., 2018), а некоторые кариотипы особей в популяции № 59 имеют общие черты строения с исследованными кариотипами популяций *C. laticoronata*. Таким образом, *C. brevirostris*, скорее всего, является эволюционно более молодой, чем *C. pauciflora* и *C. laticoronata*, либо является следствием отдаленной гибридизации между ними или близкими к ним таксонами.

Высказанные предположения носят сугубо гипотетический характер. Для проверки их справедливости необходимы молекулярно-цитогенетические исследования с использованием дифференциального окрашивания хромосом.

Благодарности. Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ (проект № 15-04-04087).

ЛИТЕРАТУРА

- Адомина И. Г., Леонова И. Н., Бадаева Е. Д., Салина Е. А. Генотипирование сортов мягкой пшеницы разных регионов России // Вавиловский журнал генетики и селекции, 2016. – Т. 20, № 1. – С. 44–50.
- Гриф В. Г., Аганова Н. Д. К методике описания кариотипов растений // Бот. журн., 1986. – Т. 71, № 4. – С. 550–553.
- Пархоменко А. С., Кашин А. С. Особенности кариотипической изменчивости у некоторых видов рода *Chondrilla* (Asteraceae) // Бот. журн., 2018. – Т. 103, № 6. – С. 726–739.
- Пархоменко А. С., Кашин А. С., Гребенюк Л. В. Кариологический анализ видов *Chondrilla* подрода *Brachyrhynchus* (Pjin) (Asteraceae) европейской части ареала // Вавиловские чтения – 2018. – Саратов, 2018. – С. 369–372.
- Угольникова Е. В., Кашин А. С., Кондратьева А. О. Частота апомиксиса в популяциях видов *Chondrilla* L. юга европейской части России // Известия Саратовского университета. Новая серия. Сер. Химия. Биология. Экология, 2017. – Т. 17, № 1. – С. 53–61.
- Badaeva E. D., Shishkina A. A., Goncharov N. P., Zuev E. V., Lysenko N. S., Mitrofanova O. P., Novoselskaya-Dravovich A. Yu., Kudriavtsev A. M. Evolution of *Triticum aethiopicum* Jakubz. from the Position of Chromosome Analysis // Russian Journal of Genetics, 2018. – Vol. 54, № 6. – P. 629–642.

Belay G., Merker A. Cytogenetic analysis of a spontaneous 5B/6B translocation in tetraploid wheat landraces from Ethiopia, and implications for breeding // *Plant Breed*, 1998. – Vol. 11, № 6. – P. 537–542.

Bergman B. T. Chromosome morphological studies in *Chondrilla juncea* and some remarks on the microsporogenesis // *Hereditas*, 1952. – Vol. 38, № 2. – P. 128–130.

Chester M., Riley R. K., Soltis P. S., Soltis D. E. Patterns of chromosomal variation in natural populations of the neopolyploid *Tragopogon mirus* (Asteraceae) // *Heredity*, 2015. – Vol. 114. – P. 309–317.

Lim K. Y., Soltis D. E., Soltis P. S., Tate J., Matyasek R., Srubarova H., Kovarik A., Pires J. C., Xiong Z., Leitch A. R. Rapid Chromosome Evolution in Recently Formed Polyploids in *Tragopogon* (Asteraceae) // *PLoS ONE*, 2008. – Vol. 3, № 10. – P. 33–53.

Poddubnaja-Arnoldi W. A. Geschlechtliche und ungeschlechtliche Fortpflanzung bei einigen *Chondrilla*-Arten // *Planta*, 1933. – Vol. 19, № 1. – P. 46–86.