

Эволюция кариотипа у *Eranthis* Salisb. (Ranunculaceae) Karyotype evolution of the genus *Eranthis* Salisb. (Ranunculaceae)

Митренина Е. Ю.¹, Эрст А. С.^{1,2}

Mitrenina E. Yu.¹, Erst A. S.^{1,2}

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

¹Tomsk State University, Tomsk, Russia

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

²Central Siberian Botanical Garden SB RAS, Novosibirsk, Russia

Реферат. Проведено сравнительное изучение кариотипов у девяти видов рода *Eranthis* Salisb.: *E. bulgarica* (Stef.) Stef., *E. hyemalis* (L.) Salisb., *E. longistipitata* Regel (секция *Eranthis*), *E. byunsanensis* B. Y. Sun, *E. lobulata* W. T. Wang, *E. pinnatifida* Maxim., *E. sibirica* DC., *E. stellata* Maxim. и *E. tanhoensis* Erst (секция *Shibateranthis*). Нами установлена видоспецифичность кариотипов для всех изученных видов. Для эрантисов свойственны крупные и среднего размера хромосомы 4–12 мкм длиной. Для всех исследованных нами образцов, кроме *E. sibirica* и *E. tanhoensis*, характерны диплоидные цитотипы с $2n = 16$ и основным числом хромосом $x = 8$. В изученных пяти популяциях *E. sibirica* мы выявили растения с тетра- и гексаплоидными цитотипами с $x = 7$, $2n = 28$ и $2n = 42$. Для семи популяций *E. tanhoensis* характерны диплоидные растения с $x = 7$ и $2n = 14$. Диплоидные кариотипы эрантисов представлены 4–5 парами крупных равноплечих (метацентрических) и 2–4 парами неравноплечих хромосом разных морфологических типов (субметацентрических, субтелоцентрических и акроцентрических). Нами впервые для рода выявлены В-хромосомы в клетках корневой меристемы у *E. lobulata* и *E. tanhoensis*. Мы предполагаем, что ключевыми событиями в эволюции кариотипов у *Eranthis* были перичентрические инверсии, полиплоидия и, возможно, транслокации.

Ключевые слова. Весенник, кариотип, хромосомы, эволюция кариотипа, *Eranthis* Salisb., Ranunculaceae Juss.

Summary. We have conducted comparative study of karyotypes for nine *Eranthis* Salisb. species: *E. bulgarica* (Stef.) Stef., *E. hyemalis* (L.) Salisb., *E. longistipitata* Regel (section *Eranthis*), *E. byunsanensis* B. Y. Sun, *E. lobulata* W. T. Wang, *E. pinnatifida* Maxim., *E. sibirica* DC., *E. stellata* Maxim., and *E. tanhoensis* Erst (section *Shibateranthis*). The species-specificity of karyotypes was established for all species investigated. The chromosomes of each species were medium or large in size (4–12 μm). Besides *E. sibirica* and *E. tanhoensis*, all the investigated specimens had diploid cytotypes with $2n = 16$ and the basic chromosome number $x = 8$. Plants from five *E. sibirica* populations were tetraploid and hexaploid with $x = 7$, $2n = 28$ and $2n = 42$ respectively. Plants from seven *E. tanhoensis* populations were diploid with $x = 7$ and $2n = 14$. Diploid karyotypes of *Eranthis* included 4–5 pairs of large equal-armed (metacentric) chromosomes, and 2–4 pairs of unequal-armed chromosomes belonging to different morphological types (submetacentric, subtelocentric, and acrocentric ones). We have revealed B chromosomes in root meristematic cells of *E. lobulata* and *E. tanhoensis* for the first time. We suppose that the key developments in *Eranthis* karyotype's evolution were pericentric inversions, polyploidy, and probably translocations.

Key words. Chromosomes, *Eranthis* Salisb., karyotype, karyotype evolution, Ranunculaceae Juss., winter aconite.

Введение. Хромосомный анализ широко используется в исследованиях растений (Бадаева, Салина, 2013; Sharma, Sharma, 2019). Один из его аспектов – это описание кариотипа, или хромосомного набора, основными характеристиками которого являются число, размеры и морфология хромосом. Еще в ранних цитологических работах было установлено, что разные виды растений и животных различаются по параметрам кариотипа. То есть в процессе эволюции живых организмов изменяется их хромосомный набор (Грант, 1981). Впоследствии было выявлено, что может наблюдаться внутривидовой по-

лиморфизм кариотипа по числу и морфологии хромосом. Несмотря на это, хромосомный набор остается значимым видовым признаком.

Eranthis Salisb. – род многолетних травянистых растений сем. Ranunculaceae Juss., включающий около 10–13 видов, произрастающих в Южной Европе, Средней Азии, на востоке России, в Китае, Корее и Японии (Stefanoff, 1963; Park et al., 2019; Rukšāns, Zetterlund, 2019; Erst et al., 2020). Большая часть видов рода являются узколокальными эндемиками и имеют ограниченное распространение. Род делят на две секции по окраске цветка, форме клубневидного корневища и другим морфологическим признакам. К секции *Eranthis* относят виды с желтыми цветками и вытянутыми корневищами: *E. bulgarica* (Stef.) Stef., *E. cilicica* Scott & Kotschy, *E. hyemalis* (L.) Salisb., *E. iranica* Rukšāns & Zetterl и *E. longistipitata* Regel. В секцию *Shibateranthis* включают виды с белыми цветками и округлыми корневищами: *E. albiflora* Franch., *E. byunsanensis* B.Y. Sun, *E. lobulata* W.T. Wang, *E. pinnatifida* Maxim., *E. pungdoensis* B.U. Oh, *E. sibirica* DC., *E. stellata* Maxim. Недавно был описан еще один вид из второй секции – *Eranthis tanhoensis* Erst (Erst et al., 2020).

До начала нашей работы по изучению кариотипов *Eranthis*, числа хромосом $2n = 2x = 16$ были известны для шести видов рода: *E. byunsanensis* (Kim et al., 2011), *E. cilicica* (Langlet, 1932, цит. по Rice et al., 2015), *E. hyemalis* (Tak, Wafai, 1996; Gömürgen, 1997), *E. pinnatifida* (Kurita, 1955), *E. sibirica* (Gnutikov et al., 2016; 2017), *E. stellata* (Yuan, Yang, 2006). Кроме этого, у *E. hyemalis* были выявлены три- и гексаплоиды с $2n = 24$ и $2n = 48$ (Rice et al., 2015), у *E. sibirica* – тетраплоиды с $2n = 32$ (Крогулевич, 1976). Хромосомные наборы были описаны только для трех видов: *E. pinnatifida* (Kurita, 1955), *E. hyemalis* (Gömürgen, 1997) и *E. stellata* (Yuan, Yang, 2006). В настоящей работе мы представляем результаты сравнительного изучения кариотипов у 9 видов рода *Eranthis*.

Материал и методы. Методики сбора материала, приготовления препаратов метафазных митотических хромосом и кариоморфологического анализа описаны в наших предыдущих работах (Митренина, Эрст, 2019; Erst et al., 2020).

Результаты и обсуждение. Мы исследовали кариотипы трех видов эрантисов из секции *Eranthis*: *E. bulgarica*, *E. hyemalis*, *E. longistipitata*, а также шести видов из секции *Shibateranthis*: *E. byunsanensis*, *E. lobulata*, *E. pinnatifida*, *E. sibirica*, *E. stellata* и *E. tanhoensis*. Установлена видоспецифичность кариотипов всех видов. Для эрантисов свойственны хромосомы среднего и крупного размеров (4–12 мкм), относящиеся к R-типу по Langlet (1932) (рис.). Для всех изученных нами образцов, кроме *E. sibirica* и *E. tanhoensis*, характерны диплоидные цитотипы с $2n = 16$ и основным числом хромосом $x = 8$. В исследованных пяти популяциях *E. sibirica* мы выявили тетра- и гексаплоидные растения с $x = 7$ и $2n = 28$, $2n = 42$ соответственно. Для семи популяций *E. tanhoensis* характерны диплоидные растения с $x = 7$ и $2n = 14$. Диплоидные кариотипы эрантисов представлены 4–5 парами крупных равноплечих (метацентрических) и 2–4 парами неравноплечих хромосом разных морфологических типов (субметацентрических, субтелоцентрических и акроцентрических). Нами впервые для рода в клетках корневой апикальной меристемы выявлены В-хромосомы у *E. lobulata* и *E. tanhoensis* размером 1,3–2,5 мкм (Митренина, Эрст, 2019; Erst et al., 2019, 2020).

Родственные виды белоцветковых эрантисов *E. lobulata* и *E. stellata*, произрастающие в Китае и на Дальнем Востоке России, имеют схожие кариотипы. Тем не менее они различаются морфологией одной неравноплечей пары хромосом и положением вторичной перетяжки на другой неравноплечей (субметацентрической) паре. Ее различная локализация, очевидно, связана с парацентрической инверсией, произошедшей при видообразовании (Митренина, Эрст, 2019). Эти виды филогенетически близки другой паре симпатричных видов, характерных для флоры Прибайкалья, – *Eranthis sibirica* и *E. tanhoensis*. Однако последние отличаются основным числом хромосом: $x = 7$, которое является неканоническим для рода (Erst et al., 2020). Ранее в литературе для *E. sibirica* указывались числа хромосом $2n = 16$ (Gnutikov et al., 2016; 2017) и $2n = 32$ (Крогулевич, 1976), то есть основное число хромосом было определено как $x = 8$. Изученные нами полиплоидные растения *E. sibirica* имеют одинаковые с диплоидными *E. tanhoensis* морфологические типы хромосом (метацентрики и субметацентрики). Тем не менее их кариотипы не являются простым кратным увеличением одного моноплоидного набора, что говорит в

пользу структурных преобразований кариотипов у полиплоидов, либо аллополиплоидного происхождения *E. sibirica*.

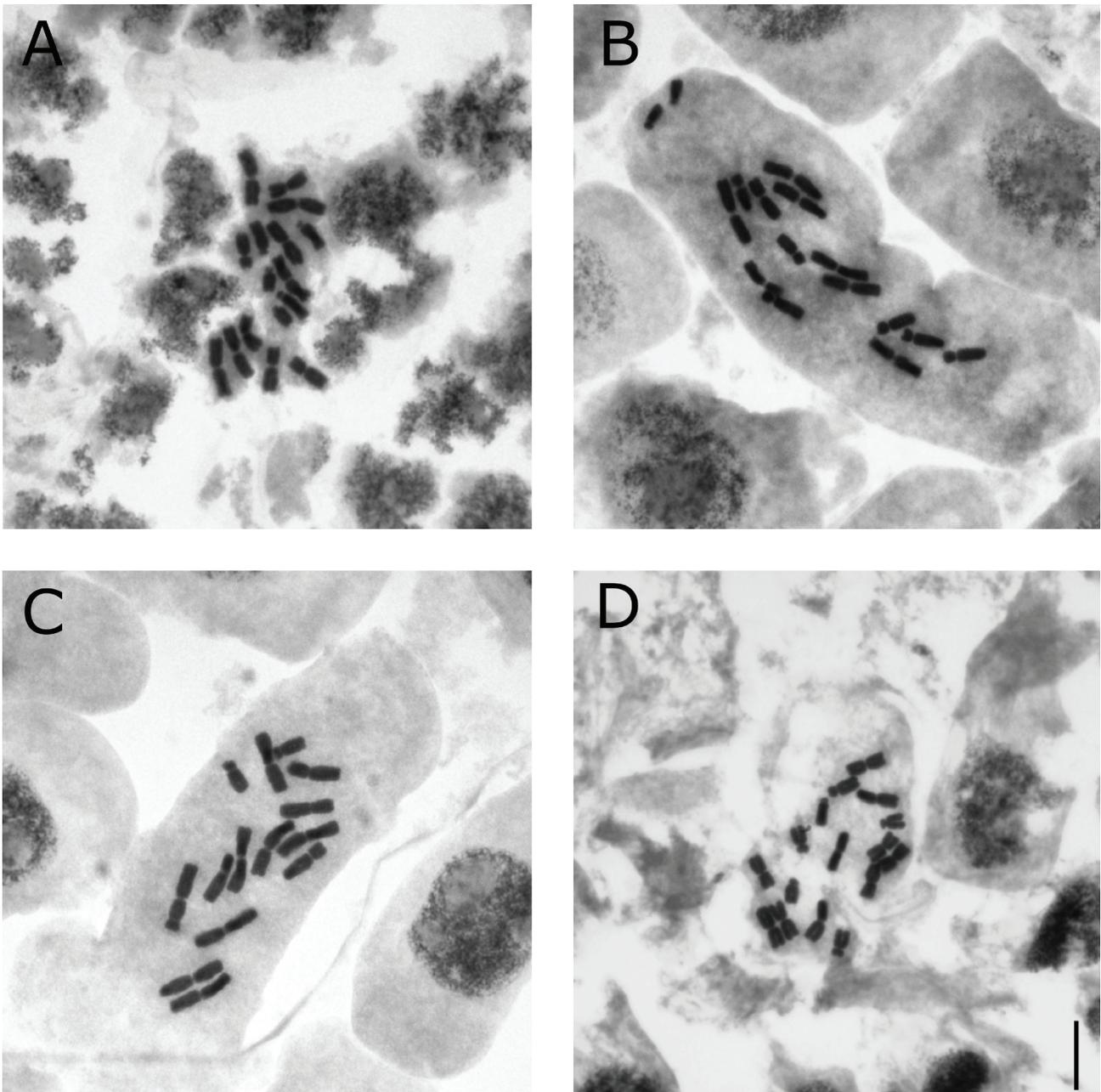


Рис. Метафазные митотические хромосомы: А – *Eranthis byunsanensis*, $2n = 16$; В – *Eranthis pinnatifida*, $2n = 16$; С – *Eranthis tanhoensis*, $2n = 14 + 0-8B$; D – *Eranthis bulgarica*, $2n = 16$. Шкала – 10 мкм.

Хромосомный набор *E. tanhoensis* отличается от набора родственного вида *E. stellata* отсутствием пары акроцентриков. Остальные хромосомы этих двух видов близки по морфологии (5 пар метацентриков и 2 пары субметацентриков). Вероятно, в процессе эволюции предкового кариотипа имела место частичная транслокация материала акроцентриков на другие хромосомы набора, тогда как другая их часть могла элиминировать. Выявленные нами у некоторых представителей *E. tanhoensis* В-хромосомы могут являться фрагментами утраченных хромосом (Dhar et al., 2002; Jones et al., 2008). Структурная реорганизация кариотипа, приводящая к изменению базового числа хромосом, установлена, например,

в эволюции *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. ($2n = 10$), который отличается от *A. lyrata* L. ($2n = 16$) несколькими слияниями хромосом, реципрокными транслокациями и инверсиями (Koch, Kiefer, 2005). В семействе Ranunculaceae уменьшение базового числа хромосом с $x = 8$ до $x = 7$ в результате перестроек известно у *Ranunculus* L. (Baltisberger, Hörandl, 2016) и *Anemone* L. (Mlinarec et al., 2012).

Два других близких белоцветковых вида, корейский *E. byunsanensis* и японский *E. pinnatifida*, чётко различаются по числу и морфологии неравноплечих хромосом в кариотипе. Первый вид имеет 3, а второй 4 пары. У *E. byunsanensis* одна из этих пар является выражено гетероморфной, что косвенно может свидетельствовать о его гибридном происхождении. Оно предполагается также и на основании современных молекулярно-генетических исследований (Park et al., 2019).

Кариотипы трех изученных нами желтоцветковых видов также имеют видоспецифичные особенности. Два родственных европейских вида – *E. bulgarica* и *E. hyemalis* – имеют схожие хромосомные наборы. Основное их различие заключается в наличии у *E. bulgarica* гетероморфной пары неравноплечих хромосом. Формула кариотипа среднеазиатского вида *E. longistipitata* идентична с формулой *E. hyemalis*, но их наборы хромосом четко различаются по размеру субметацентриков и центромерному индексу субтелоцентриков, что, очевидно, является следствием их структурных перестроек (Митренина, Эрст, 2019).

Таким образом, изученные нами девять видов эрантисов имеют видоспецифичные кариотипы. Наличие у исследованных нами образцов *E. byunsanensis* и *E. bulgarica* гетероморфных пар хромосом не исключает их гибридное происхождение, либо является следствием инверсионного полиморфизма. Мы предполагаем, что ключевыми событиями в эволюции кариотипа *Eranthis* были перичентрические инверсии, полиплоидия и, возможно, транслокации.

Благодарности. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-20056_мол_а_вед. Авторы выражают благодарность Р. В. Анненкову (г. Томск) за подготовку иллюстрации.

ЛИТЕРАТУРА

- 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.
- Грант В.** Видообразование у растений. – М.: Мир, 1984. – 528 с.
- Крогулевич Р. Е.** Числа хромосом некоторых видов растений Тункинских альп (Восточный Саян) // Изв. СО АН СССР. Серия биологические науки, 1976. – № 15, вып. 3. – С. 46–52.
- 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: <https://doi.org/10.14258/pbssm.2019028>
- Baltisberger M., Hörandl E.** Karyotype Evolution Supports the Molecular Phylogeny in the Genus *Ranunculus* (Ranunculaceae) // Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics, 2016. – Vol. 18. – Pp. 1–14.
- Dhar M. K., Friebe B., Koul A. K., Gill B. S.** Origin of an Apparent B Chromosome by Mutation, Chromosome Fragmentation and Specific DNA Sequence Amplification // Chromosoma, 2002. – Vol. 111(5). – Pp. 332–340. DOI: 10.1007/s00412-002-0214-4
- Erst A. S., Mitrenina E. Yu., Sukhorukov A. P., Kuzmin I. V., Gudkova P. D., Tashev A. N., Xiang K., Wang W.** IAPT Chromosome Data 30/2: Asparagaceae, Brassicaceae, Lamiaceae, Nictaginaceae, Poaceae, Ranunculaceae, Rosaceae. In: IAPT/IOPB Chromosome Data 30. Eds. K. Marhold et al. // Taxon, 2019. – Vol. 68, № 5. – Pp. 1126, E4–E6. DOI: 10.1002/tax.12156
- Erst A. S., Sukhorukov A., Mitrenina E., Skaptsov M., Kostikova V., Krivenko D., Chernisheva O., Troshkina V., Kushunina M., Xiang K., Wang W.** Integrative Taxonomic Approach Reveals a New Species of *Eranthis* (Ranunculaceae) from North Asia // PhytoKeys, 2020. – Vol. 140. – Pp. 75–100. DOI: 10.3897/phytokeys.140.49048
- Gnutikov A. A., Protopopova M. V., Chepinoga V. V., Konovalov A. D., Zolotovskaya E. D., Pavlichenko V. V.** Amaryllidaceae, Apiaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Fabaceae, Gentianaceae, Geraneaceae, Lamiaceae, Liliaceae, Primulaceae, Ranunculaceae etc. In: IAPT/IOPB Chromosome Data 26. Eds. K. Marhold & J. Kucera // Taxon, 2016. – Vol. 66, № 6. – Pp. 1488–1489.
- Gnutikov A. A., Protopopova M. V., Pavlichenko V. V., Chepinoga V. V.** Apiaceae, Gentianaceae, Onagraceae, Primulaceae, Ranunculaceae. In: IAPT/IOPB Chromosome Data 22. Eds. K. Marhold & J. Kucera // Taxon, 2016. – Vol. 65, № 5. – P. 1201.

- Gömürgen A. N.** Chromosome Numbers and Karyotype Analysis of *Eranthis hyemalis* (L.) Salisb. In: Tsekos I, Moustakas M, eds. Progress in Botanical Research. Proceedings of the 1-st Balkan Botanical Congress. – Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1997. – Pp. 489–492.
- Jones R. N., González-Sánchez M., González-García M., Vega J. M., Puertas M. J.** Chromosomes with a Life of Their Own // Cytogenet Genome Res, 2008. – Vol. 120. – Pp. 265–280. DOI: 10.1159/000121076
- Kim S.-Y., Lee K. J., Kim M.-H.** Chromosome Information of Endangered Species and Important Biological Resources (I) // The Bulletin of National Institute of Biological Resources, 2011. – Vol. 2(2). – Pp. 10–26.
- Koch M., Kiefer M.** Genome Evolution among Cruciferous Plants – a Lecture from the Comparison of the Genetic Maps of Three Diploid Species: *Capsella rubella*, *Arabidopsis lyrata* ssp. *petraea* and *Arabidopsis thaliana* // Am. J. Bot., 2005. – Vol. 92. – Pp. 761–767.
- Kurita M.** Cytological Studies in Ranunculaceae IV. The Karyotype Analysis in *Actaea* and Some Other Genera // Jap. Jour. Genet., 1955. – Vol. 30. – Pp. 124–127.
- Langlet O.** Über Chromosomenverhältnisse und Systematik der Ranunculaceae // Svensk Botanisk Tidskrift, 1932. – Vol. 26. – Pp. 381–400.
- Levan A., Fredgam K., Sandberg A.** Nomenclature for Centrometric Position of Chromosomes // Hereditas, 1964. – Vol. 52. – Pp. 201–220.
- Mlinarec J., Štović Z., Mihelj D., Malenica N., Besendorfer V.** Cytogenetic and Phylogenetic Studies of Diploid and Polyploid Members of Tribe *Anemoninae* (Ranunculaceae) // Plant Biology, 2012. – Vol. 14. – Pp. 525–536. doi:10.1111/j.1438-8677.2011.00519.x
- Park S. Y., Jeon M. J., Ma S. H., Wahlsteen E., Amundsen K., Kim J. H., Suh J. K., Chang J. S., Joung Y. H.** Phylogeny and Genetic Variation in the Genus *Eranthis* Using nrITS and cpIS Single Nucleotide Polymorphisms // Horticulture, Environment, & Biotechnology, 2019. – Vol. 60. – Pp. 239–252. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13580-018-0113-0>
- Rice A., Glick L., Abadi Sh., Einhorn M., Kopelman N. M., Salman-Minkov A., Mayzel J., Chay O., Mayrose I.** The Chromosome Counts Database (CCDB) – a Community Resource of Plant Chromosome Numbers // New Phytologist, 2015. – Vol. 206, № 1. – Pp. 19–26.
- Sharma A. K., Sharma A.** Plants Chromosomes: Analysis, Manipulation and Engineering. – CRC Press Taylor & Francis Group, 2019. – 365 p.
- Stefanoff B.** Weitere Materialien zur Flora Bulgariens // Izvestiya na Botanicheskiya Institut, 1963. – Vol. 11. – Pp. 151–157.
- Tak M. A., Wafai B. A.** Somatic Chromosome Structure and Nucleolar Organization in *Anemone coronaria* L., *Ranunculus asiaticus* L. and *Eranthis hyemalis* Salisb. (Ranunculaceae) // Phytomorphology, 1996. – Vol. 46. – Pp. 377–385.
- Rukšāns J., Zetterlund H.** *Eranthis iranica* (Ranunculaceae) Rukšāns & Zetterlund – New Species of Winter Aconite From Iran // International Rock Gardener, 2018. – Vol. 108. – Pp. 2–19.
- Yuan Q., Yang Q.-E.** Tribal Relationships of *Beesia*, *Eranthis* and Seven Other Genera of Ranunculaceae: Evidence from Cytological Characters // Botanical Journal of the Linnean Society, 2006. – Vol. 150. – Pp. 267–289.