

## БИОЛОГИЯ

Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 2. С. 197–208

*Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 2, pp. 197–208  
<https://ichbe.sgu.ru> <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-2-197-208>

EDN: PPPUOB

Научная статья

УДК 576.08+58.087+575.224.234

# Предварительная оценка содержания ядерной ДНК в растениях *Chondrilla* (Asteraceae) Европейской России и Западного Казахстана с использованием проточной цитометрии

А. С. Пархоменко<sup>1</sup>, У. Ш. Кузьмина<sup>2</sup>, Х. Г. Мусин<sup>2</sup>,  
С. Ф. Ефименко<sup>1</sup>, В. С. Епифанов<sup>1</sup>, А. С. Кашин<sup>1</sup>✉

<sup>1</sup>Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

<sup>2</sup>Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, Россия, 450054, Республика Башкортостан, г. Уфа, проспект Октября, д. 71

Пархоменко Алена Сергеевна, кандидат биологических наук, заведующий отделом биологии и экологии растений УНЦ «Ботанический сад», [parkhomenko\\_as@mail.ru](mailto:parkhomenko_as@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-9948-7298>

Кузьмина Ульяна Шафкатовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной фармакологии и иммунологии, [ukuzmina87@gmail.com](mailto:ukuzmina87@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0001-7056-7895>

Мусин Халит Галеевич, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории геномики растений, [khalit.musin@yandex.ru](mailto:khalit.musin@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0001-7336-2027>

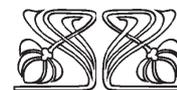
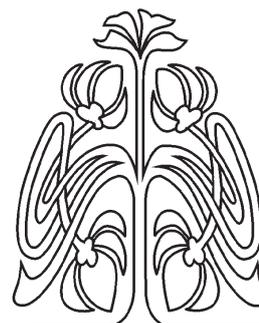
Ефименко Савелий Федорович, бакалавр кафедры генетики, [savchik.efimenko@mail.ru](mailto:savchik.efimenko@mail.ru), <https://orcid.org/0009-0007-7828-9499>

Епифанов Владимир Сергеевич, магистр биологического факультета, [epifanov.v2015@yandex.ru](mailto:epifanov.v2015@yandex.ru), <https://orcid.org/0009-0007-5229-B151>

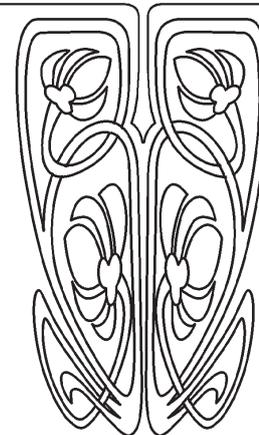
Кашин Александр Степанович, доктор биологических наук, профессор кафедры генетики, [kashinas2@yandex.ru](mailto:kashinas2@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0002-2342-2172>

**Аннотация.** Получены предварительные данные о размере генома представителей рода *Chondrilla* (Asteraceae) Европейской России и Западного Казахстана с использованием проточной цитометрии. Среди всех исследованных образцов рода для образцов *C. ambigua* и *C. pauciflora* установлена прямая зависимость размера генома от количества хромосом. В нашем исследовании содержание ДНК диплоида *C. ambigua* составило  $2C = 1.69$  пг, а триплоида *C. pauciflora* –  $2C = 2.65$  пг. Значения  $2C$  в пределах 2.29–2.69 пг имеют большинство образцов рода *Chondrilla* (характерно для 13 из 23 образцов), принадлежащих к следующим таксонам: *C. pauciflora*, *C. laticoronata*, *C. brevirostris*, *C. canescens*, *C. graminea*, *C. latifolia*, *C. juncea*. Скорее всего, они являются триплоидами, причём во многих случаях с отклоняющимся от кратного основному числу числом хромосом. Образец *C. latifolia* из популяции Камышинского района Волгоградской области на гистограмме относительной интенсивности флуоресценции показал два пика, соответствующие двум значениям относительного содержания ДНК – 1.68 пг и 2.58 пг, т.е. он оказался миксоплоидом с двумя уровнями пloidности ( $2n = 2x = 10$  и  $2n = 3x = 15$ ). Разнообразие размеров генома внутри рода можно объяснить установленной ранее высокой изменчивостью числа хромосом, связанной с анеу- и миксоплоидией.

**Ключевые слова:** проточная цитометрия, *Chondrilla*, содержание ядерной ДНК, анеуплоидия, миксоплоидия



НАУЧНЫЙ  
ОТДЕЛ





**Благодарности:** Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 22-24-00340, <https://rscf.ru/project/22-24-00340/>).

**Для цитирования:** Пархоменко А. С., Кузьмина У. Ш., Мусин Х. Г., Ефименко С. Ф., Епифанов В. С., Кашин А. С. Предварительная оценка содержания ядерной ДНК в растениях *Chondrilla* (Asteraceae) Европейской России и Западного Казахстана с использованием проточной цитометрии // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 2. С. 197–208. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-2-197-208>, EDN: PPPUOB

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

## Preliminary assessment of nuclear DNA content in *Chondrilla* (Asteraceae) plants of European Russia and Western Kazakhstan using flow cytometry

A. S. Parkhomenko<sup>1</sup>, U. Sh. Kuzmina<sup>2</sup>, Kh. G. Musin<sup>2</sup>, S. F. Efimenko<sup>1</sup>, V. S. Epifanov<sup>1</sup>, A. S. Kashin<sup>1</sup>✉

<sup>1</sup>Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

<sup>2</sup>Institute of Biochemistry and Genetics UFRC RAS, 71 Oktyabrya Ave., Ufa 450054, Republic of Bashkortostan, Russia

Alena S. Parkhomenko, parkhomenko\_as@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9948-7298>

Ulyana Sh. Kuzmina, ukuzmina87@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7056-7895>

Khalit G. Musin, khalit.musin@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7336-2027>

Savelii F. Efimenko, savchik.efimenko@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0007-7828-9499>

Vladimir S. Epifanov, epifanov.v2015@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0007-5229-B151>

Aleksandr S. Kashin, kashinas2@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2342-2172>

**Abstract.** Preliminary data on the genome size of representatives of the genus *Chondrilla* (Asteraceae) of European Russia and Western Kazakhstan were obtained using flow cytometry. Among all studied specimens of the genus, for specimens of *C. ambigua* and *C. pauciflora*, a direct dependence of the genome size on the number of chromosomes was established. In our study, the DNA content of the diploid *C. ambigua* was  $2C = 1.69$  pg, and that of the triploid *C. pauciflora* was  $2C = 2.65$  pg.  $2C$  values are within 2.29–2.69 pg in most specimens of the genus *Chondrilla* (typical for 13 out of 23 specimens) belonging to the following taxa: *C. pauciflora*, *C. laticoronata*, *C. brevirostris*, *C. canescens*, *C. graminea*, *C. latifolia*, *C. juncea*. Most likely, they are triploids, and in many cases with a number of chromosomes deviating from a multiple of the main number of chromosomes. The *C. latifolia* sample from the population of the Kamyshinsky district of the Volgograd region showed two peaks on the histogram of the relative fluorescence intensity, corresponding to two values of the relative DNA content, 1.68 and 2.58 pg, i.e. it turned out to be a mixoploid with two levels of ploidy ( $2n = 2x = 10$  and  $2n = 3x = 15$ ). The diversity of genome sizes within the genus can be explained by the previously established high variability in the number of chromosomes associated with aneu- and mixoploidy.

**Keywords:** flow cytometry, *Chondrilla*, nuclear DNA content, aneuploidy, mixoploidy

**Acknowledgements:** This research was supported by the Russian Science Foundation (grant No. 22-24-00340, <https://rscf.ru/project/22-24-00340/>).

**For citation:** Parkhomenko A. S., Kuzmina U. Sh., Musin Kh. G., Efimenko S. F., Epifanov V. S., Kashin A. S. Preliminary assessment of nuclear DNA content in *Chondrilla* (Asteraceae) plants of European Russia and Western Kazakhstan using flow cytometry. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 2, pp. 197–208 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-2-197-208>, EDN: PPPUOB  
This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

### Введение

В роде *Chondrilla* L. (Asteraceae) числятся около 30 видов [1–3]. В европейской части России естественно встречаются, по меньшей мере, семь таксонов. Шесть из них принадлежат к секции *Chondrilla* подрода *Chondrilla* (*C. acantholepis* Boiss., *C. brevirostris* Fisch. Et Mey, *C. canescens* Kat. Et Kir., *C. graminea* Bieb., *C. juncea* L. и *C. latifolia* Bieb.) и один (*C. ambigua* Fisch.) – к подроду *Brachyrinchus* [4]. Кроме того, в последнее время всё чаще обнаруживаются популяции *C. laticoronata* Леопова, принадлежащая к секции *Arthrhorinchus* подрода *Chondrilla* [5, 6]. Для Нижнего Поволжья указывался также *C. pauciflora* Ledeb. [2], однако нами он на этой территории не был обнаружен.

В настоящее время нет однозначного представления о таксономической структуре рода. В частности, *C. juncea* и *C. graminea* одни авторы рассматривают как самостоятельные виды [2, 4, 5], другие объединяют в один вид *C. juncea*, включая также *C. latifolia*, *C. canescens* и *C. brevirostris* [1, 7–13].

По результатам морфологического [14] и молекулярно-генетического [6] анализов показано, что из таксонов, указанных для европейской части ареала, лишь *C. ambigua* хорошо обособлен морфологически и заслуживает признания в ранге вида. Менее очевидна видовая самостоятельность *C. brevirostris* и *C. laticoronata*. *C. juncea*, *C. latifolia*, *C. graminea*, *C. acantholepis* и *C. canescens* по морфологи-



ческим признакам и по ISSR маркерам не разделяются и их следует считать синонимами *C. juncea*.

Кариологический анализ представителей рода *Chondrilla* выявил изменчивость числа хромосом от  $2n = x = 5$  до  $2n = 5x = 25$  с высокой долей анеу- и миксоплоидов у *C. brevirostris*, *C. laticoronata*, *C. juncea*, *C. latifolia*, *C. graminea* и *C. canescens*. Стабильное число хромосом отмечено только для *C. ambigua* ( $2n = 2x = 10$ ) и *C. pauciflora* ( $2n = 3x = 15$ ) [15].

Относительно большое количество таксонов *Chondrilla*, многие из которых характеризуются апомиктичным способом размножения [16, 17], сопряжённым с межвидовой гибридизацией, полиплоидией, анеуплоидией и другими изменениями в структуре генома, затрудняет идентификацию, а также характеристику таксонов данного рода.

Размер генома является одним из важных критериев выявления особенностей эволюции организмов и имеет видоспецифичный характер, что может помочь объяснить взаимоотношения между видами [18]. Размер генома до сих пор не выявлен у 97.5% покрытосеменных видов растений [19].

У представителей рода *Chondrilla* размер генома ранее не изучался, поэтому любая информация по размеру генома у них имеет большое значение. Сведения о размере генома имеют

решающее значение для многих областей исследований, включая таксономию и эволюционные изменения. Представления о нём необходимы, например, для планирования и реализации проектов по клонированию генов и секвенированию генома.

Цель данного исследования состояла в предварительной оценке содержания ядерной ДНК в растениях рода *Chondrilla* Европейской России и Западного Казахстана с использованием точной цитометрии.

### Материалы и методы

Исследования проводили на молодых растениях, выращенных в лабораторных условиях из семян, собранных в течение полевого сезона 2022 г. в 22 популяциях 8 таксонов рода *Chondrilla* (*C. brevirostris*, *C. laticoronata*, *C. juncea*, *C. latifolia*, *C. graminea*, *C. canescens*, *C. ambigua* и *C. pauciflora*) (табл. 1). В одной из популяций *Chondrilla* растения имели признаки *C. juncea* и *C. graminea*, поэтому популяция анализировалась как смешанная *C. juncea* / *graminea*. Из каждой популяции было отобрано по одному образцу.

Семянки проращивали на влажной фильтровальной бумаге в чашках Петри в термостате при температуре +28°C, а затем пересаживали в сосуды с землей и доращивали в теплице до размера листовой пластинки 0.5 × 0.5 см<sup>2</sup>.

Таблица 1 / Table 1

Местонахождение исследованных популяций рода *Chondrilla*  
Location of the researched populations of the genus *Chondrilla*

Условное сокращение / Conditional abbreviation	Координаты / Coordinates		Место сбора / Gathering place
	Северная широта, ° / Northern latitude, °	Восточная долгота, ° / Eastern longitude, °	
<i>C. ambigua</i>			
Dos-A	46.909118	47.922671	Астраханская обл., Красноярский р-н, окр. п. Досанг / Astrakhan region, Krasnoyarsky district, Dosang village
<i>C. pauciflora</i>			
Kazp	48.819667	47.504861	Казахстан, Бокейординский р-н, окр. с. Урда / Kazakhstan, Bokeiordinsky district, Urda village
<i>C. laticoronata</i>			
Kazl	48.819667	47.504861	Казахстан, Бокейординский р-н, окр. с. Урда / Kazakhstan, Bokeiordinsky district, Urda village
Werl	47.718769	46.886275	Астраханская обл., Ахтубинский р-н, окр. п. Верблюжий / Astrakhan region, Akhtubinsky district, Verbliuzhii village
Tam	47.328861	47.39269	Астраханская обл., Харабалинский р-н, окр. с. Тамбовка / Astrakhan region, Kharabalinsky district, Tambovka village



Окончание таблицы 1 / Continuation of the Table 1

Условное сокращение / Conditional abbreviation	Координаты / Coordinates		Место сбора / Gathering place
	Северная широта, ° / Northern latitude, °	Восточная долгота, ° / Eastern longitude, °	
<i>C. brevirostris</i>			
Kazb	48.819667	47.504861	Казахстан, Бокейординский р-н, окр. с. Урда / Kazakhstan, Bokeiordinsky district, Urda village
Werb	47.718769	46.886275	Астраханская обл., Ахтубинский р-н, окр. п. Верблюжий / Astrakhan region, Akhtubinsky district, Verbluzhii village
Nor	46.539917	47.926117	Астраханская обл., Наримановский р-н, окр. с. Волжское / Astrakhan region, Narimanovsky district, Volzhskoe village
Bugb	47.569159	46.914459	Астраханская обл., Харабалинский р-н, окр. п. Бугор / Astrakhan region, Kharabalinsky district, Bugor village
Vln	47.137073	47.67247	Астраханская обл., Харабалинский р-н, окр. с. Вольное / Astrakhan region, Kharabalinsky district, Volnoe village
Bol	47.989694	46.55075	Астраханская обл., Ахтубинский р-н, окр. п. Болхуны / Astrakhan region, Akhtubinsky district, Bolkhuny village
<i>C. juncea</i>			
Hvl-jun	52.478944	48.059056	Саратовская обл., Хвалынский р-н, окр. г. Хвалынска, гора Беленькая / Saratov region, Khvalynsky district, Khvalynsk town, mountain Belenkaya
Al	52.230361	46.318306	Саратовская обл., Базарно-Карабулакский р-н, окр. с. Алексеевка / Saratov region, Bazarno-Karabulaksky district, Alekseevka village
Vol	51.92319	47.32635	Саратовская обл., Марксовский р-н, окр. с. Волково / Saratov region, Marksovsky district, Volkovo village
Botsad	51.565806	46.011667	Саратовская обл., г. Саратов, Кировский р-н, Ботанический сад / Saratov region, Saratov, Kirovsky district, Botanical garden
Melj	50.803167	45.575639	Саратовская обл., Красноармейский р-н, окр. с. Меловое / Saratov region, Krasnoarmeisky district, Melovoe village
<i>C. graminea</i>			
Hvl-gr	52.478944	48.059056	Саратовская обл., Хвалынский р-н, окр. г. Хвалынска, гора Беленькая / Saratov region, Khvalynsky district, Khvalynsk, mountain Belenkaya
Al-gr	52.230361	46.318306	Саратовская обл., Базарно-Карабулакский р-н, окр. с. Алексеевка / Saratov region, Bazarno-Karabulaksky district, Alekseevka village
<i>C. juncea / graminea</i>			
Pri	51.746472	45.929139	Саратовская обл., Аткарский р-н, окр. с. Приречное / Saratov region, Atkarsky district, Prirechnoe village
<i>C. latifolia</i>			
Kmh	50.134747	45.437472	Волгоградская обл., Камышинский р-н, окр. г. Камышин / Volgograd region, Kamyshinsky district, Kamyshin town
Bazl	47.803538	41.057441	Ростовская обл., Константиновский р-н, окр. х. Базки / Rostov region, Konstantinovsky district, Bazki village
<i>C. canescens</i>			
Kap	48.53619	45.85194	Астраханская обл., Ахтубинский р-н, окр. с. Капустин Яр / Astrakhan region, Akhtubinsky district, Kapustin Yar village
Al-can	52.230361	46.318306	Саратовская обл., Базарно-Карабулакский р-н, окр. с. Алексеевка / Saratov region, Bazarno-Karabulaksky district, Alekseevka village



Содержание ДНК исследуемых растений определяли с использованием метода проточной цитометрии с окраской изолированных ядер пропидий иодидом (PI). Молодые листья измельчали при помощи лезвия в 500 мкл охлажденного буфера Otto I с модификациями (0.1 М лимонной кислоты, 0.5% Triton) и инкубировали 15 мин при температуре +4°C [20]. Образцы фильтровали через нейлоновую мембрану с размером пор 50 мкм и смешивали с раствором для окрашивания, состоящим из 500 мкл Tris-MgCl<sub>2</sub> буфера (0.4 М Tris-основание, 4 mM MgCl<sub>2</sub> × 6H<sub>2</sub>O) с PI (50 мкг/мл), РНКазой (50 мкг/мл) и β-меркаптоэтанолом (2 мкг/мл) [21, 22], и инкубировали 10 мин при температуре +40°C.

Важным этапом в данном исследовании являлся выбор оптимального стандарта. Для анализа нужно использовать минимум два стандарта, особенно для групп растений, характеризующихся полиплоидией. Кроме того, тот факт, что геном растений может быть достаточно пластичен, подобная техника исследований позволяет «откалибровать» стандарты друг относительно друга и улучшить условия эксперимента [23]. В качестве стандартов использовали *Petroselinum crispum* 'Листовая' (2C = 4.46 pg) и *Pisum sativum*

'Кельведонское чудо' (2C = 9.09 pg) [22, 24, 25]. Преимущества данных стандартов состоят в стабильности размера их генома и низком уровне у них вторичных метаболитов [26].

Исследование каждого образца проводили в два этапа. На первом этапе подбирали параметры детекции флуоресценции и выявления положения пика стандарта на графике и отмечали канал флуоресценции стандарта. На втором этапе материал стандарта добавляли к исследуемому образцу, готовили пробу и проводили уже полноценное исследование. Для дальнейшей интерпретации данных использовали пики с не менее чем 1000 детектируемых частиц.

Данные флуоресценции изолированных ядер детектировали при помощи проточного цитофлуориметра BD FACS Canto II (США).

Цитофлюорограммы и гистограммы распределения ядер анализировали на компьютере с помощью программы FCS Express 7 [27].

Относительное содержание ядерной ДНК (2C) рассчитывали исходя из линейной зависимости между флуоресцентными сигналами от окрашенных ядер исследованных образцов и внутреннего стандарта. Количество ядерной ДНК образца рассчитывали по формуле:

$$2C \text{ ДНК (pg)} = \frac{\text{среднее значение пика образца}}{\text{среднее значение пика стандарта}} \times 2C \text{ ДНК стандарта (pg)}.$$

Оценку качества анализа осуществляли путем проверки симметрии пиков и оценки распределения интенсивностей флуоресценции (ширины пиков), выраженного в виде коэффициента вариации (CV %).

Полученные результаты обрабатывали при помощи ПО Microsoft Office Excel 2008.

### Результаты и их обсуждение

В каждом проанализированном образце большая часть изолированных ядер растений *Chondrilla*, *Petroselinum crispum* и *Pisum sativum* находилась на стадии G<sub>1</sub> клеточного цикла и, таким образом, представляла количество ДНК 2C. Ядра на стадии G<sub>2</sub> либо не обнаруживались, либо присутствовали с низкой частотой. На гистограммах распределения изолированных ядер растений из большинства исследованных популяций *Chondrilla* стадия G<sub>2</sub> перекрывалась со стадией G<sub>1</sub> стандарта *Petroselinum crispum* (рис. 1). Поэтому в дальнейшем, для исключения ошибки в интерпретации распределения ядер на точечных графиках бокового рассеивания (не представлены), сравнение и расчёт относитель-

ного содержания ядерной ДНК велся по второму стандарту – *Pisum sativum*, с которым ядра исследованных образцов не перекрывались.

Расчетное количество ДНК 2C и размер генома 1C всех исследованных таксонов приведены в табл. 2.

Обычно коэффициент вариации находится в пределах 3–5%, но в некоторых образцах CV был больше 5% (см. табл. 2). Это может быть связано с высоким содержанием в растительном материале вторичных метаболитов, таких как полиизопрен (каучук), например. Однако широкое основание пика может говорить и о неоднородности исследуемого материала. В таких случаях коэффициент вариации ниже 5% не может быть достигнут. В нашем случае высока вероятность того, что неоднородность исследуемого материала обусловлена присутствием анеуплоидных клеток наряду с клетками, содержащими число хромосом, кратное основному числу. Для большинства таксонов *Chondrilla* Европейской России это было показано при анализе числа хромосом в клетках корневых меристем на давленных препаратах [15, 28].





Таблица 2 / Table 2

Относительное содержание ДНК в растениях рода *Chondrilla*  
Relative DNA content in plants of the genus *Chondrilla*

Таксон / Taxon	Количество изолированных ядер, шт. / Number of isolated nuclei, pc	Mean	CV, %	2С (содержание ДНК), пг / 2С (DNA content), pg	1С (размер генома), Мбп / 1С (genome size), Mbp
<i>C. ambigua</i> (Dos)	9261	27.78	5.39	1.69	826
<i>C. pauciflora</i> (Kazp)	8396	43.59	4.14	2.65	1296
<i>C. laticoronata</i> (Kazl)	9093	38.46	11.87	2.34	1144
<i>C. laticoronata</i> (Tam)	8725	45.93	5.05	2.79	1364
<i>C. laticoronata</i> (Werl)	9399	44.76	7.36	2.72	1330
<i>C. brevirostris</i> (Bol)	8846	44.56	5.01	2.71	1325
<i>C. brevirostris</i> (Bugb)	8676	40.78	3.89	2.48	1212
<i>C. brevirostris</i> (Kazb)	9493	30.26	5.88	1.84	890
<i>C. brevirostris</i> (Nor)	8478	41.55	5.32	2.53	1237
<i>C. brevirostris</i> (Vln)	8556	47.46	3.09	2.88	1408
<i>C. brevirostris</i> (Werb)	9062	39.80	4.37	2.42	1183
<i>C. canescens</i> (Alcan)	8082	38.82	4.18	2.36	1154
<i>C. canescens</i> (Kap)	8942	13.16	6.08	0.80	391
<i>C. graminea</i> (Algr)	9055	40.01	3.25	2.43	1188
<i>C. graminea</i> (Hvlgr)	9104	14.82	8.81	0.90	440
<i>C. latifolia</i> (Bazl)	4517	38.18	5.15	2.32	1135
<i>C. latifolia</i> (Kmh)	437 8599	27.57 42.50	5.94 3.76	1.68 2.58	822 1262
<i>C. juncea</i> (Melj)	9080	31.94	3.69	1.94	949
<i>C. juncea</i> (Al)	8752	43.02	3.04	2.61	1276
<i>C. juncea</i> (Botsad)	9211	45.79	5.46	2.78	1359
<i>C. juncea</i> (Hvljun)	8999	40.83	5.32	2.48	1213
<i>C. juncea</i> (Vol)	8945	37.64	3.71	2.29	1120
<i>C. juncea</i> / <i>graminea</i> (Pri)	8706	44.30	3.27	2.69	1315

Примечание. 1 пг ДНК = 978 Мбп [29]. Mean – среднее значение пика образца; CV – коэффициент вариации.  
Note. 1 pg DNA = 987 Mbp [29]. Mean – sample peak average; CV – coefficient of variation.

варьируют в пределах от 10 до 3 мкм, поэтому без дополнительного кариологического анализа тех же образцов, которые исследовали на предмет относительного содержания ДНК, затруднительно утверждать о связи значений 2С с числом хромосом. Тем не менее, некоторые предположения на этот счёт на основании полученных гистограмм распределения ядер имеет смысл высказать.

В образцах из популяций *C. laticoronata* (см. рис. 2, б) относительное содержание ДНК варьировало в пределах от 2.34 до 2.79 пг. Минимальное содержание ДНК выявлено в образце из казахстанской популяции (Kazl). При этом гистограмма распределения ядер этого образца имеет широкое основание пика, смещённое в сторону более низкого относительного содержания ДНК,

а коэффициент вариации приближается к 12%. На наш взгляд, всё это говорит в пользу того, что образец в целом имеет уровень плоидности ниже 3х с ярко выраженными анеу- и миксоплоидией. В образцах из двух других популяций *C. laticoronata* из Астраханской области (Tam и Werl) относительное содержание ДНК было примерно на одном уровне 2С = 2.72 и 2.79 пг, т.е. близко к уровню 3х, хотя коэффициент вариации у последнего образца был более 7%, а гистограмма распределения его ядер имела широкое основание пика, также как у образца из казахстанской популяции, смещённое в сторону более низкого относительного содержания ДНК. Это указывает на то, что так же как у казахстанского образца, у него имеет место определённый диапазон анеу- и миксоплоидии.

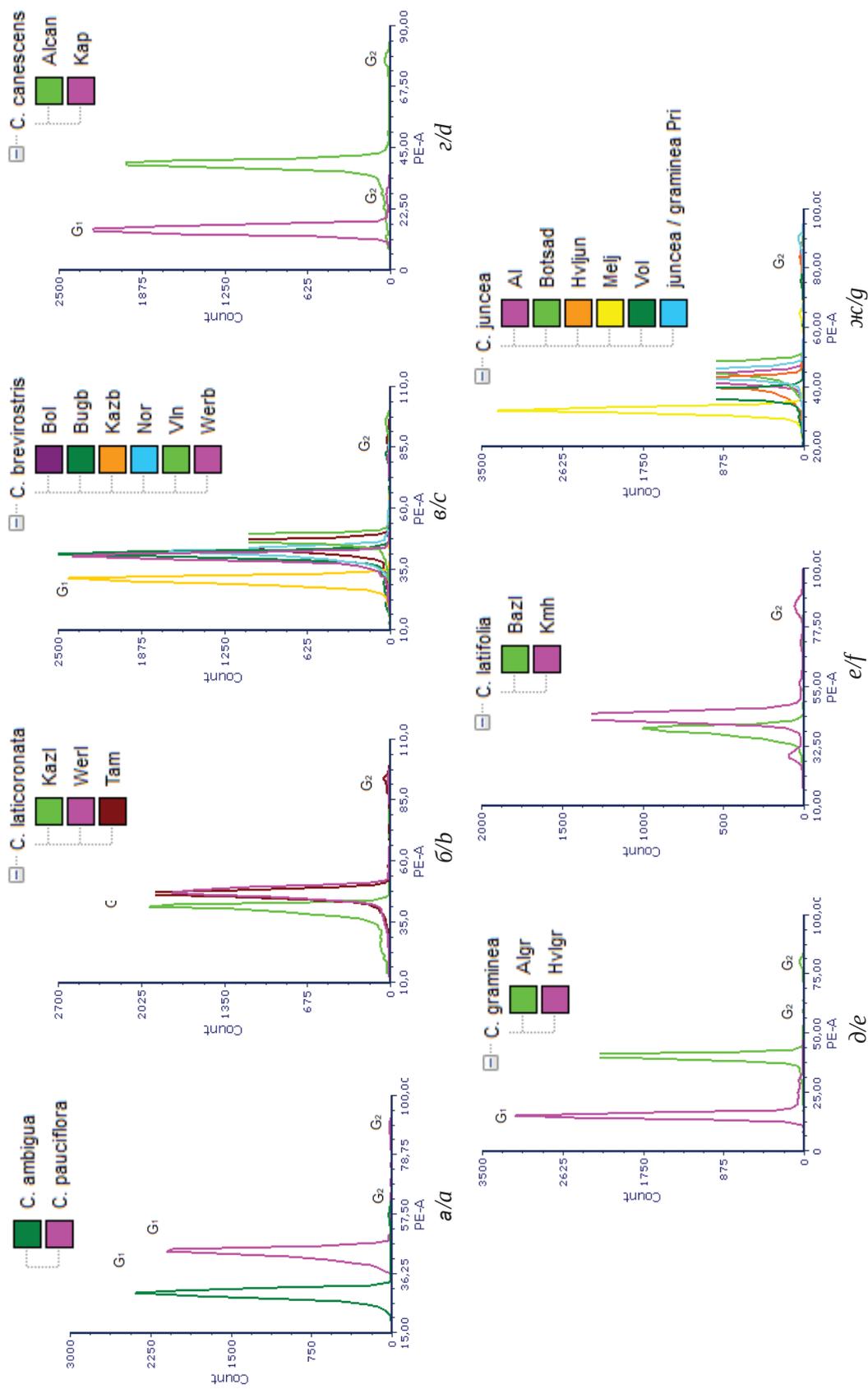


Рис. 2. Гистограммы относительной интенсивности флуоресценции (относительное содержание ядерной ДНК), полученные после анализа изолированных ядер растений рода *Chondrilla*: а – образцы *C. ambigua* и *C. pauciflora*; б – *C. laticoronata*; в – *C. brevisrostris*; г – *C. canescens*; д – *C. graminea*; е – *C. latifolia*; ж – *C. juncea* и *C. juncea / graminea* (цвет онлайн)

Fig. 2. Histograms of relative fluorescence intensity (relative content of nuclear DNA) obtained after analysis of isolated nuclei of plants of the genus *Chondrilla*: а – samples *C. ambigua* and *C. pauciflora*; б – *C. laticoronata*; в – *C. brevisrostris*; г – *C. canescens*; д – *C. graminea*; е – *C. latifolia*; ж – *C. juncea* and *C. juncea / graminea* (color online)



В образцах из шести популяций *C. brevirostris* (см. рис. 2, в) относительное содержание ДНК варьировало в пределах от 1.84 до 2.88 пг. Минимальное содержание ДНК выявлено в образце из казахстанской популяции (Kazb). Оно относительно близко к содержанию ДНК 2С у *C. ambigua*. Максимальное содержание отмечено в образце из популяции Vln. Оно несколько выше содержания ДНК 3С в образце *C. pauciflora*. В образцах из двух географически близко расположенных между собой популяций Werb и Bugb относительное содержание ДНК было примерно одинаковое 2С = 2.42 и 2.48 пг. В образце из популяции Nor относительное содержание ДНК было равно 2.53 пг, а в образце из популяции Vol 2С = 2.71 пг. Высокая внутривидовая изменчивость размера генома у этого вида, вероятно, является следствием анеуплоидии. Однако содержание ДНК в образце из популяции Kazb указывает на то, что этот образец имеет плоидность, близкую к 2х, но также, вероятно, сопряжённую ещё и с анеуплоидией. Таким образом, исследованные образцы этого вида в большинстве своём близки к триплоидному уровню числа хромосом, но один близок к диплоиду.

Обращает на себя внимание тот факт, что у образцов *C. laticoronata* и *C. brevirostris*, из одного местообитания (Казахстан), несмотря на разную видовую принадлежность, относительное содержание ДНК ниже, чем у образцов этих же видов из других локалитетов и оба характеризуются максимальными из всех образцов этих таксонов коэффициентами вариации относительного содержания ДНК (около 12 и около 6% соответственно). Возможно, это связано с межвидовой гибридизацией, сопровождающейся хромосомными перестройками. В пользу этого говорит то, что в данном местообитании были найдены растения, имеющие морфологические признаки и *C. laticoronata*, и *C. brevirostris*.

В двух образцах из популяций *C. canescens*, удаленных друг от друга более чем на 500 км, относительное содержание ДНК сильно отличалось: 0.80 пг (Кар) и 2.36 пг (Alcan) (см. рис. 2, г). Исходя из этого, обоснованно полагать, что образец из первой популяции является гаплоидом, а второй – триплоидом.

Подобная ситуация наблюдалась и в содержании ДНК двух образцов из разных популяций *C. graminea*, расстояние между которыми более 100 км. В образце из Хвалынского района 2С = 0.90 пг (Hvlgr), а в образце из Базарно-Карабулакского района 2С = 2.43 пг (Algr) (см. рис. 2, д). Образец из первой популяции, скорее всего, является гаплоидом, из второй –

триплоидом. При этом гаплоиды и *C. canescens*, и *C. graminea*, скорее всего, имеют число хромосом, отклоняющееся от основного числа  $n$ , так как коэффициенты вариации у обоих образцов существенно превышают 3–5%.

В случае с *C. latifolia* в образце из популяции Kmh на гистограмме относительной интенсивности флуоресценции отмечено два пика (см. рис. 2, е), соответствующие двум значениям относительного содержания ДНК – 1.68 и 2.58 пг. Первому значению соответствует более 400 ядер, а второму – более 8500 ядер, что указывает на миксоплоидию. Полученные значения очень близки к значениям *C. ambigua* и *C. pauciflora*, поэтому можно предположить, что большой пик соответствует 15 хромосомам, а маленький – 10, то есть внутри одного растения встречается в большей степени триплоидные, и в меньшей – диплоидные клетки. Образец *C. latifolia* из второй популяции Bazl имеет относительное содержание ДНК 2С = 2.32 пг и, скорее всего, является триплоидом с некрратным основным числом хромосом.

В образцах из популяций *C. juncea* относительное содержание ДНК варьировало в пределах от 1.94 до 2.78 пг (см. рис. 2, ж). Минимальное содержание ДНК выявлено в образце из популяции Melj и оно примерно соответствует содержанию ДНК у образца *C. ambigua*, что, скорее всего, указывает на его диплоидность. Максимальное содержание ДНК отмечено в образце из популяции Botsad. Оно примерно соответствует содержанию ДНК у образца *C. pauciflora*, что, скорее всего, указывает на его триплоидность. К нему по содержанию ДНК близок образец из популяции Al (2С = 2.61 пг). В образце из популяции Vol относительное содержание ДНК было равно 2.29 пг, а в образце из популяции Hvljun 2С = 2.48 пг., т.е. промежуточное между ди- и триплоидным уровнем, что указывает на высокую вероятность у этих образцов анеу- и/или миксоплоидии. Образец из смешанной популяции *C. juncea / graminea* (Pri) имел относительное содержание ДНК равное 2.69 пг (см. рис. 2, ж), т.е. близкое к триплоидному уровню.

### Заключение

Среди всех исследованных образцов рода для образцов *C. ambigua* и *C. pauciflora* установлена прямая зависимость размера генома от количества хромосом. В нашем исследовании содержание ДНК диплоида *C. ambigua* составило 2С = 1.69 пг, а триплоида *C. pauciflora* – 2С = 2.65 пг. Большинство образцов рода *Chondrilla* имеют значения 2С в пределах



2.29–2.69 пг (характерно для 13 из 23 образцов), принадлежащих к следующим таксонам: *C. pauciflora*, *C. laticoronata*, *C. brevirostris*, *C. canescens*, *C. graminea*, *C. latifolia*, *C. juncea*. Скорее всего, они являются триплоидами, причём во многих случаях с отклоняющимся от кратного основному числу числом хромосом. Наименьшее содержание ДНК обнаружено у *C. canescens* (Кап) (0.80 пг) и *C. graminea* (Hvlg) (0.90 пг), которые, скорее всего, являются гаплоидами. Наибольшее содержание ДНК обнаружено у образца *C. brevirostris* (Vln) (2.88 пг). Образец *C. latifolia* из популяции Камышинского района Волгоградской области на гистограмме относительной интенсивности флуоресценции показал два пика, соответствующие двум значениям относительного содержания ДНК – 1.68 пг и 2.58 пг, т.е. он оказался миксоплоидом с двумя уровнями пloidности ( $2n = 2x = 10$  и  $2n = 3x = 15$ ). Разнообразие размеров генома внутри рода можно объяснить установленной ранее высокой изменчивостью числа хромосом, связанной с анеу- и миксоплоидией [28].

Полученные данные о размере генома представителей рода *Chondrilla* являются предварительными, так как в исследовании использовано только по одному образцу из каждой популяции. В дальнейших исследованиях планируется увеличить количество образцов и количество повторностей.

### Список литературы

1. Ильин М. М. Критический обзор рода *Chondrilla* L. // Бюллетень отделения каучуконосов. 1930. Т. 3. С. 1–61.
2. Леонова Т. Г. Хондрилла – *Chondrilla* L. // Флора Европейской части СССР. Л. : Наука, 1989. Т. 8. С. 57–61.
3. The World Flora Online. URL: <http://www.worldfloraonline.org/search?query=chondrilla&view=&limit=24&start=0&sort=> (дата обращения: 10.01.2023).
4. Леонова Т. Г. Род Хондрилла – *Chondrilla* L. // Флора СССР. М. : Наука, 1964. С. 560–586.
5. Маевский П. Ф. Флора средней полосы Европейской части России. М. : Товарищество научных изданий КМК, 2014. 635 с.
6. Кашин А. С., Крицкая Т. А., Попова А. О., Пархоменко А. С. Генетическая дифференциация видов *Chondrilla* (Asteraceae) европейской части России по данным ISSR маркирования // Бюллетень МОИП. Отдел биологический. 2017. Т. 122, вып. 1. С. 60–70.
7. Tutin T. G., Heywood V. H., Burges N. A., Moore D. M., Valentine D. H., Walters S. M., Webb D. A. Flora Europaea: Plantaginaceae to Compositae (and Rubiaceae). Cambridge University Press, 1976. 534 p.
8. Tuzlacı E. Türkiye Bitkileri Sözlüğü. İstanbul : Alfa, 2006. 353 p.
9. Baytop T. Türkçe Bitki Adları Sözlüğü. Ankara : Türk Dil Kurumu, 2007. 512 p.
10. Еленевский А. Г., Буланый Ю. И., Радыгина В. И. Конспект флоры Саратовской области. Саратов : ИЦ «Наука», 2008. 232 с.
11. Nasseh Y., Joharchi M. A. Revision the genus *Chondrilla* (Asteraceae) in Iran // 15th National & 3rd International Conference of Biology. University of Tehran, 2008. P. 178–179.
12. Flann C. Global Compositae Checklist, 2009. URL: <https://compositae.landcareresearch.co.nz/Default.aspx?Page=NameSearch&searchText=chondrilla> (дата обращения: 12.12.2022).
13. Nasseh Y. A revision on the genera *Chondrilla* and *Heteroderis* (Asteraceae) in Iran // American Journal of Botany. 2010. Vol. 16, № 1. P. 92–95.
14. Кашин А. С., Петрова Н. А., Шанцер И. А., Кондратьева А. О., Шилова И. В., Пархоменко А. С. Изменчивость морфологических параметров некоторых таксонов *Chondrilla* (Asteraceae) европейской России в связи с их систематикой // Ботанический журнал. 2018. Т. 103, № 11. С. 1407–1436. <https://doi.org/10.1134/S0006813618110030>
15. Пархоменко А. С., Кашин А. С. Кариотипическая изменчивость у некоторых видов рода *Chondrilla* (Asteraceae) // Ботанический журнал. 2018. Т. 103, № 6. С. 726–739. <https://doi.org/10.1134/S0006813618060030>
16. Кашин А. С., Попова А. О., Кочанова И. С., Угольникова Е. В., Полякова Ю. А. Некоторые параметры системы семенного размножения в популяциях видов *Chondrilla* L. Нижнего Поволжья // Ботанический журнал. 2015. Т. 100, № 8. С. 828–840. <https://doi.org/10.1134/S0006813615080074>
17. 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. Серия: Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 1. С. 53–61. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2017-17-1-53-61>
18. Gregory T. R. Coincidence, coevolution, or causation? DNA content, cell size, and the C-value enigma // Biological Reviews. 2001. Vol. 76. P. 65–101. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2000.tb00059.x>
19. Bennett M. D., Leitch I. J. Plant DNA C-values database (release 6.0, December 2012). URL: <http://data.kew.org/cvalues/> (дата обращения: 23.12.2022).
20. Otto F. Chapter 11 DAPI Staining of Fixed Cells for High-Resolution Flow Cytometry of Nuclear DNA // Methods in Cell Biology. 1990. Vol. 33. P. 105–110. [https://doi.org/10.1016/S0091-679X\(08\)60516-6](https://doi.org/10.1016/S0091-679X(08)60516-6)
21. Pfosser M., Heberle-Bors E., Amon A., Lelley T. Evaluation of sensitivity of flow cytometry in detecting aneuploidy in wheat using disomic and ditelosomic wheat-rye addition lines // Journal of Quantitative Cell Science. Cytometry Parta. 1995. Vol. 21, iss. 4. P. 387–393. <https://doi.org/10.1002/cyto.990210412>
22. Dolezel J., Lucretti S., Meister A., Lysak M., Nardi L., Obermayer R. Plant genome size estimation by flow



- cytometry: Inter-laboratory comparison // *Annals of Botany*. 1998. Vol. 82. P. 17–26. <https://doi.org/10.1006/anbo.1998.0730>
23. Скапцов М. В., Смирнов С. В., Куцев М. Г. Содержание ядерной ДНК в некоторых сортах растений, используемых в качестве внешних стандартов в проточной цитометрии // *Turczaninowia*. 2014. Т. 17, № 3. С. 72–78.
  24. Dolezel J., Bartos J. Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size // *Annals of Botany*. 2005. Vol. 95. P. 99–110. <https://doi.org/10.1093/aob/mci005>
  25. Скапцов М. В., Смирнов С. В., Куцев М. Г., Шмаков А. И. Проблемы стандартизации в проточной цитометрии растений // *Turczaninowia*. 2016. Т. 19, № 3. С. 120–122. <https://doi.org/10.14258/turczaninowia.19.3.9>
  26. Anshika T., Sandhya P. S., Swati S., Ramavtar S., Amitha Mithra S. V., Amolkumar U. S., Nagendra K. S., Tilak R. S., Kishor G. The genome size of clusterbean (*Cyatopsis tetragonoloba*) is significantly smaller compared to its wild relatives as estimated by flow cytometry // *Gene*. 2019. Vol. 707. P. 205–211. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.02.090>
  27. FCS Express 7. URL: <https://denovosoftware.com/> (дата обращения: 10.01.2023).
  28. Пархоменко А. С., Кашин А. С., Гребенюк Л. В. Полиморфизм хромосом видов *Chondrilla* (Asteraceae) европейской части ареала // *Ботанический журнал*. 2019. Т. 104, № 4. С. 137–154. <https://doi.org/10.1134/S0006813619040069>
  29. Dolezel J., Bartos J., Voglmayr H., Greilhuber J. Nuclear DNA content and genome size of trout and human // *Cytometry*. 2003. Vol. 51. P. 127–128.
  7. Tutin T. G., Heywood V. H., Burges N. A., Moore D. M., Valentine D. H., Walters S. M., Webb D. A. *Flora Europaea: Plantaginaceae to Compositae (and Rubiaceae)*. Cambridge University Press, 1976. 534 p.
  8. Tuzlacı E. *Türkiye Bitkileri Sözlüğü*. Istanbul, Alfa, 2006. 353 p. (in Turkish).
  9. Baytop T. *Türkçe Bitki Adları Sözlüğü*. Ankara, Türk Dil Kurumu, 2007. 512 p. (in Turkish).
  10. Elenevskii A. G., Bulanyi Yu. I., Radygina V. I. *Konspekt flory Saratovskoi oblasti* [Abstract of the Flora of the Saratov Region]. Saratov, ITs "Nauka, 2008. 232 p. (in Russian).
  11. Nasseh Y., Joharchi M. A. Revision the genus *Chondrilla* (Asteraceae) in Iran. *15th National & 3rd International Conference of Biology*. University of Tehran, 2008, pp. 178–179.
  12. Flann C. *Global Compositae Checklist*, 2009. Available at: <https://compositae.landcareresearch.co.nz/Default.aspx?Page=NameSearch&searchText=chondrilla> (accessed December 12, 2022).
  13. Nasseh Y. A revision on the genera *Chondrilla* and *Heteroderis* (Asteraceae) in Iran. *American Journal of Botany*, 2010, vol. 16, no. 1, pp. 92–95.
  14. Kashin A. S., Petrova N. A., Shantser I. A., Kondrateva A. O., Shilova I. V., Parkhomenko A. S. Variability of morphological parameters of some *Chondrilla* (Asteraceae) taxa in European Russia in context of their taxonomy. *Botanicheskii Zhurnal*, 2018, vol. 103, no. 11, pp. 1407–1436 (in Russian). <https://doi.org/10.1134/S0006813618110030>
  15. Parkhomenko A. S., Kashin A. S. Karyotypic variability in some species of the genus *Chondrilla* (Asteraceae). *Botanicheskii Zhurnal*, 2018, vol. 103, no. 6, pp. 726–739 (in Russian). <https://doi.org/10.1134/S0006813618060030>
  16. Kashin A. S., Popova A. O., Kochanova I. S., Ugolnikova E. V., Poliakova Iu. A. Some parameters of the seed reproduction system in populations of *Chondrilla* (Asteraceae) species in the lower Volga region. *Botanicheskii Zhurnal*, 2015, vol. 100, no. 8, pp. 828–840 (in Russian). <https://doi.org/10.1134/S0006813615080074>
  17. Ugolnikova E. V., Kashin A. S., Kondrateva A. O. The Frequency of Apomixis in Populations of *Chondrilla* Species in the South of European Part of Russia. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 1, pp. 53–61 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2017-17-1-53-61>
  18. Gregory T. R. Coincidence, coevolution, or causation? DNA content, cell size, and the C-value enigma. *Biological Reviews*, 2001, vol. 76, pp. 65–101. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2000.tb00059.x>
  19. Bennett M. D., Leitch I. J. *Plant DNA C-values database (release 6.0, December 2012)*. Available at: <http://data.kew.org/cvalues/> (accessed December 23, 2022).
  20. Otto F. Chapter 11 DAPI Staining of Fixed Cells for High-Resolution Flow Cytometry of Nuclear DNA. *Methods in Cell Biology*, 1990, vol. 33, pp. 105–110. [https://doi.org/10.1016/S0091-679X\(08\)60516-6](https://doi.org/10.1016/S0091-679X(08)60516-6)

## References

1. Ilin M. M. Critical review of the genus *Chondrilla* L. *Bulleten otdelenii kauchukonosov* [Bulletin of the Rubber Department], 1930, vol. 3, pp. 1–61 (in Russian).
2. Leonova T. G. *Chondrilla – Chondrilla* L. *Flora Evropeiskoi chasti SSSR* [Flora of the European Part of the USSR]. Leningrad, Nauka, 1989, vol. 8, pp. 57–61 (in Russian).
3. *The World Flora Online*. Available at: <http://www.worldfloraonline.org/search?query=chondrilla&view=&limit=24&start=0&sort=> (accessed January 10, 2023).
4. Leonova T. G. Genus *Chondrilla – Chondrilla* L. In: *Flora SSSR* [Flora of the USSR]. Moscow, Nauka, 1964, pp. 560–586 (in Russian).
5. Maevskii P. F. *Flora srednei polosy evropeiskoi chasti Rossii* [Flora of the Middle Zone of the European Part of Russia]. Moscow, KMK Scientific Press Ltd., 2014. 635 p. (in Russian).
6. Kashin A. S., Kritskaia T. A., Popova A. O., Parkhomenko A. S. ISSR analysis of genetic diversity of *Chondrilla* species (Asteraceae) in European part of Russia. *Bulletin of Moscow Society of Naturalists. Biological series*, 2017, vol. 122, iss. 1, pp. 60–70 (in Russian).



21. Pfosser M., Heberle-Bors E., Amon A., Lelley T. Evaluation of sensitivity of flow cytometry in detecting aneuploidy in wheat using disomic and ditelosomic wheat-rye addition lines. *Journal of Quantitative Cell Science. Cytometry Parta*, 1995, vol. 21, iss. 4, pp. 387–393. <https://doi.org/10.1002/cyto.990210412>
22. Dolezel J., Lucretti S., Meister A., Lysak M., Nardi L., Obermayer R. Plant genome size estimation by flow cytometry: Inter-laboratory comparison. *Annals of Botany*, 1998, vol. 82, pp. 17–26. <https://doi.org/10.1006/anbo.1998.0730>
23. Skaptsov M. V., Smirnov S. V., Kutsev M. G. Nuclear DNA content in some plant kinds used as an external standard in flow cytometry. *Turczaninowia*, 2014, vol. 17, no. 3, pp. 72–78 (in Russian).
24. Dolezel J., Bartos J. Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. *Annals of Botany*, 2005, vol. 95, pp. 99–110. <https://doi.org/10.1093/aob/mci005>
25. Skaptsov M. V., Smirnov S. V., Kutsev M. G., Shmakov A. I. Problems of a standardization in plant flow cytometry. *Turczaninowia*, 2016, vol. 19, no. 3, pp. 120–122 (in Russian). <https://doi.org/10.14258/turczaninowia.19.3.9>
26. Anshika T., Sandhya P. S., Swati S., Ramavtar S., Amitha Mithra S. V., Amolkumar U. S., Nagendra K. S., Tilak R. S., Kishor G. The genome size of clusterbean (*Cyamopsis tetragonoloba*) is significantly smaller compared to its wild relatives as estimated by flow cytometry. *Gene*, 2019, vol. 707, pp. 205–211. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.02.090>
27. *FCS Express 7*. Available at: <https://denovosoftware.com/> (accessed January 10, 2023).
28. Parkhomenko A. S., Kashin A. S., Grebeniuk L. V. Chromosome polymorphism in *Chondrilla* (Asteraceae) species in the European part of the range. *Botanicheskii Zhurnal*, 2019, vol. 104, no. 4, pp. 137–154 (in Russian). <https://doi.org/10.1134/S0006813619040069>
29. Dolezel J., Bartos J., Voglmayr H., Greilhuber J. Nuclear DNA content and genome size of trout and human. *Cytometry*, 2003, vol. 51, pp. 127–128.

Поступила в редакцию 06.03.23; одобрена после рецензирования 10.03.23; принята к публикации 11.03.23

The article was submitted 06.03.23; approved after reviewing 10.03.23; accepted for publication 11.03.23