

МИНОБРНАУКИ РОССИИ  
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра генетики

**ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ  
ОТНОСИТЕЛЬНОГО СОДЕРЖАНИЯ ЯДЕРНОЙ ДНК НЕКОТОРЫХ  
ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *CHONDRILLA* (ASTERACEAE)**

Автореферат бакалаврской работы

Студента 4 курса 422 группы

Направления подготовки бакалавриата 06.03.01 Биология

Биологического факультета

Ивкина Игоря Дмитриевича

Научный руководитель:

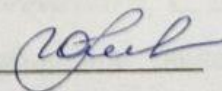
профессор, д. б. н.

01.06.23 

А. С. Кашин

Зав. кафедрой:

доцент, д. б. н.

01.06.23 

О. И. Юдакова

Саратов 2023

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

По современным представлениям в роде *Chondrilla* L. (Asteraceae) насчитывается до 30 видов. Из всех таксонов рода, выделяемых в отечественной флористике в ранге вида, для европейской части России Т. Г. Леонова указывает восемь. Шесть из них относит к секции *Chondrilla* подрода *Chondrilla* (*C. acantholepis* Boiss., *C. brevirostris* Fisch. et C.A. Mey., *C. canescens* Kat. et Kir., *C. graminea* Vieb., *C. juncea* L., *C. latifolia* Vieb.), и два (*C. ambigua* Fisch. ex Kat. et Kir., *C. pauciflora* Ledeb.) – к подроду *Brachyrhynchus* (Pjin) Leonova. На юго-востоке данной территории нами найдены популяции растений ещё одного таксона рода – *C. laticoronata* Leonova, который относится к секции *Arthrorhynchus* Fisch. et C.A. Mey. подрода *Chondrilla*.

До настоящего времени остается много противоречий в представлениях об объеме и ранге таксонов данного рода. В частности, *C. juncea* и *C. graminea* одни авторы рассматривают как самостоятельные виды, другие объединяют в один вид *C. juncea*, включая также *C. latifolia*, *C. canescens* и *C. brevirostris*.

По результатам морфологического и молекулярно-генетического 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 морфологическим 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* ( $2n=3x=15$ ).

Большое количество видов рода *Chondrilla*, многие из которых характеризуются апомиктичным способом размножения, в совокупности с наличием межвидовой гибридизации, полиплоидии, анеуплоидии и других

изменений в структуре генома затрудняет идентификацию, а также характеристику данного рода.

Размер генома является одним из важных критериев в эволюции организмов и имеет видоспецифичный характер, что может помочь объяснить взаимоотношения между видами. Как показали Bennett и Leitch, размер генома до сих пор не выявлен у 97.5 % покрытосеменных видов растений.

У представителей рода *Chondrilla* размер генома ранее не изучался. Поэтому в настоящее время любая информация по размеру генома из этой группы растений будет иметь важное научное значение. Доступность данных о размере генома имеет решающее значение для многих областей исследований, включая таксономию и эволюционные изменения. Его знания необходимы для планирования проектов по клонированию генов и секвенированию генома.

Цель исследования – предварительная оценка содержания ядерной ДНК в растениях рода *Chondrilla* Европейской России и Западного Казахстана с использованием проточной цитометрии.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Определить относительное содержание ядерной ДНК в растениях подрода *Brachyrinchus*;
2. Оценить относительное содержание ядерной ДНК в растениях подрода *Chondrilla*;
3. Охарактеризовать причину полиморфизма относительного содержания ядерной ДНК в исследованных образцах.

**Структура и объём.** Выпускная квалификационная работа состоит из введения, трех глав, заключения, выводов, списка использованных источников и содержит 12 рисунков и 3 таблицы. Общий объем работы составляет 49 страниц. Количество использованных литературных источников составило 86 шт., из них 72 шт. на иностранном языке.

**Научная новизна и значимость работы.** У представителей рода *Chondrilla* размер генома ранее не изучался. Поэтому любая информация по размеру генома у них имеет большое значение. Доступность данных сведений 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.

**Публикации.** По теме выпускной квалификационной работы опубликована 1 работа, которая была представлена на международной научной конференции «Исследования молодых ученых в биологии и экологии».

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**1 Проточная цитометрия как современный метод анализа в биологии.** В данной главе представлен литературный обзор метода проточной цитометрии.

**2 Материалы и методы.** В ходе экспедиций с июля по август 2022 г. был собран материал для проведения цитогенетических исследований. В каждой из 28 популяций 8 видов *Chondrilla* (*C. canescens*, *C. graminea*, *C. juncea*, *C. laticoronata*, *C. latifolia*, *C. brevirostris*, *C. ambigua*, *C. pauciflora*) собирались семянки не менее чем с 30 растений. В общей сложности собрано более 40 тыс. зрелых семян.

**3 Результаты и их обсуждения. 3.1 Относительное содержание ядерной ДНК в растениях подрода *Brachyrinchus*.** В каждом проанализированном образце большая часть изолированных ядер растений *Chondrilla* находились на стадии G1 клеточного цикла и, таким образом, представляла количество ДНК 2С. Ядра на стадии G2 либо не обнаруживались, либо присутствовали с низкой частотой.

С помощью проточной цитометрии установлено относительное содержание ДНК у образцов *C. ambigua*, равное 1,69 пг, и у *C. pauciflora*, – равное 2,65 пг. То есть, относительное содержание ДНК у *C. pauciflora* в 1,5 раза больше, чем у *C. ambigua* (таблица 1), что подтверждает их установленную ранее ploidy. При прямом подсчете хромосом ранее было установлено, что *C. ambigua* является диплоидом ( $2n = 2x = 10$ ), а *C. pauciflora* – триплоидом ( $2n = 3x = 15$ ). Анеуплоидия и миксоплоидия у этих таксонов не обнаружены.

Таблица 1 – Относительное содержание ДНК в растениях подрода *Brachyrinchus*

Таксон	Количество изолированных ядер, шт.	Mean	CV, %	2С (содержание ДНК), пг	1С (размер генома), Мбп
<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

Примечание: 1 пг ДНК = 978 Мбп. Mean – среднее значение пика образца; CV – коэффициент вариации.

У растений подрода *Brachyrynchus* установлена прямая зависимость размера генома от количества хромосом

**3.2 Относительное содержание ядерной ДНК в растениях подрода *Chondrilla*.** Был проведен анализ относительного содержания ДНК подрода *Chondrilla* (таблица 2).

В образцах из популяций *C. laticoronata* относительное содержание ДНК варьировало в пределах от 2,34 до 2,79 пг. Минимальное содержание ДНК выявлено в образце из казахстанской популяции (Kaz1). Всё это говорит в пользу того что образец в целом имеет уровень ploидности ниже 3x с ярко выраженными анеу- и миксоploидией.

В образцах из двух других популяций *C. laticoronata* из Астраханской области (Tam и Werl) относительное содержание ДНК было примерно на одном уровне  $2C = 2,72$  и  $2,79$  пг, т.е. близко к уровню 3x, хотя коэффициент вариации у последнего образца был более 7%,

В образцах из шести популяций *C. brevirostris* 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  $2C$  у *C. ambigua*. Максимальное содержание отмечено в образце из популяции Vln.

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 ploидность, близкую к 2x, но также, вероятно, сопряжённую ещё и с анеуплоидией. Таким образом, исследованные образцы этого вида в большинстве своём близки к триploидному уровню числа хромосом, но один близок к диплоиду. В двух образцах из популяций *C. canescens*, удаленных друг от друга более чем на 500 км, относительное содержание ДНК сильно отличалось: 0,80 пг (Kap) и 2,36 пг (Alcan). Исходя из этого, обоснованно полагать, что образец из первой популяции является гаploидом, а второго – триploидом.

Таблица 2 – Относительное содержание ДНК в растениях подрода *Chondrilla*

Таксон	Количество изолированных ядер, шт.	Mean	CV, %	2С (содержание ДНК), пг	1С (размер генома), Мбп
<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	27,57	5,94	1,68	822
	8599	42,50	3,76	2,58	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

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  $2C = 0,90$  пг (Hvlgr), а в образце из Базарно-Карабулакского района  $2C = 2,43$  пг (Algr). Образец из первой популяции, скорее всего, является гаплоидом, из второй – триплоидом.

В случае с *C. latifolia* в образце из популяции Kmh имеет значения относительного содержания ДНК – 1,68 пг и 2,58 пг. Первому значению соответствует более 400 ядер, а второму – более 8500 ядер, что указывает на миксоплоидию. 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  $2C = 2,32$  пг и, скорее всего, является триплоидом с некратным основному числу числом хромосом.

В образцах из популяций *C. juncea* относительное содержание ДНК варьировало в пределах от 1,94 до 2,78 пг. 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 Wotsad. Образец из смешанной популяции *C. juncea / graminea* (Pri) имел относительное содержание ДНК равное 2,69 пг, т.е. близкое к триплоидному уровню.

Большинство образцов подрода *Chondrilla* имеют значения относительного содержания ДНК в пределах 2,29–2,69 пг. Скорее всего, они являются триплоидами, но присутствуют также гаплоидные образцы (*C. canescens* равно Кар = 0,80 пг, *C. graminea* равно Hvlgr = 0,90 пг) и диплоидные образцы (*C. brevirostris* равно Kazb = 1,84 пг, *C. latifolia* равно Kmh = 1,68 пг, *C. juncea* равно Melj = 1,94 пг). У *C. latifolia* из популяции Kmh два значения относительного содержания ДНК в одном растении, что говорит о наличии миксоплоидии. Полиморфизм относительного числа ДНК в образцах подрода *Chondrilla* связан с анеу- и/или миксоплоидией.



## ВЫВОДЫ

1. 1. Содержание ДНК у образцов диплоида *C. ambigua* составило 1,69 пг, а триплоида *C. pauciflora* в 1,5 раза больше – 2,65 пг, что соответствует их ранее установленной ploидности.

2. У образцов подрода *Chondrilla* относительное содержание ДНК варьировало от 0,80 до 2,88 пг: у *C. laticoronata* – от 2,34 до 2,79 пг; у *C. brevirostris* – от 1,84 до 2,88 пг; у *C. canescens* – от 0,80 до 2,36 пг; у *C. graminea* – от 0,90 до 2,43 пг; у *C. latifolia* – от 1,68 до 2,58 пг; у *C. juncea* – от 1,94 до 2,78 пг.

3. Полиморфизм относительного содержания ДНК внутри рода *Chondrilla* связан

