

## ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ РАЗМЕРА ГЕНОМА У СОРТОВ И ГИБРИДОВ ХРИЗАНТЕМЫ САДОВОЙ (*CHRYSANTHEMUM* × *HORTORUM* BAILEY) КОЛЛЕКЦИИ ФИЦ СНЦ РАН

Л.Г. Якушина<sup>1</sup>, м.н.с., [Vishnya584@yandex.ru](mailto:Vishnya584@yandex.ru)

А.О. Мацькив<sup>1</sup>, м.н.с.

Р.М. Шхалахова<sup>1</sup>, м.н.с.

К.А. Манахова<sup>2</sup>, н.с.

<sup>1</sup>ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Субтропический научный центр Российской академии наук», 354002, ул. Яна Фабрициуса, 2/28, г. Сочи, Россия, [subplod@mail.ru](mailto:subplod@mail.ru)

<sup>2</sup>Центр генетики и наук о жизни, НТУ «Сириус» 354340, Олимпийский пр-т, д.1, г. Сочи, Россия, [weener.me@talantiuspeh.ru](mailto:weener.me@talantiuspeh.ru)

### Аннотация

Хризантема садовая (*Chrysanthemum* × *hortorum*) является одной из ведущих цветочно-декоративных культур в мире. Селекция хризантемы садовой ведется с применением преимущественно классических методов селекции (межвидовых и межсортовых скрещиваний, свободного опыления), а также современных методов получения новых адаптированных сортов. Для проведения более успешных направленных скрещиваний при подборе родительских форм немаловажным является знание размера генома. В данной работе методом проточной цитометрии проанализирован размер генома у 12 гибридов и 28 сортов коллекции хризантемы ФИЦ СНЦ РАН, представляющих интерес в качестве доноров хозяйственно-ценных признаков. Большая часть изученных сортов (24) происходят из Нидерландов, 3 сорта и все изученные гибриды выведены в ФГБУН ФИЦ СНЦ РАН (Россия, г. Сочи) и 1 сорт селекции ФГБУН «НБС-ННЦ РАН» (Россия). Из двух буферов для экстракции ядер (Tris-Mg и WPB) более эффективен буфер WPB, так как деградация ядер меньше в процессе пробоподготовки и коэффициент вариации ниже. В результате исследования было выявлено, что размер генома в коллекции варьировал от 8,48 до 20,41 пг. Максимальный размер генома составил 20,49 и 18,39 пг у гибридов С-250-1 и Ж-116-2, соответственно. Минимальный размер генома составил 8,48, 9,3 и 10,5 пг у Desna Pink, Annecy White, Westland red, соответственно. Исследования показали, что некоторые гибриды, полученные от Мона Лиса, имеют отличный от материнского размер генома. Установлено, что родственные сорта Южная и Симфония имеют разный размер генома, который, предположительно, соответствует 6n и 4n набору хромосом, соответственно. На основе полученных результатов по размеру генома можно предположить, что 67,5 % образцов коллекции тетраплоиды, 22,5 % образцов гексаплоиды, 2,5 % пентаплоиды и 7,5 % растений диплоиды. Полученные данные будут полезны для селекции и для поиска корреляций с фенотипическими признаками. При этом, крупноцветковые хризантемы коллекции ФИЦ СНЦ РАН имеют меньший размер генома, и, предположительно, диплоидный и тетраплоидный набор хромосом, тогда как мелкоцветковые сорта и гибриды тетраплоиды и гексаплоиды. В дальнейшем необходимо продолжить изучение коллекции, чтобы выяснить,

есть ли среди крупноцветковой хризантемы гексаплоиды и растения с еще более высокой плоидностью.

**Ключевые слова:** хризантема садовая, сорта и гибриды, проточная цитометрия, буфер WPB, размер генома, хромосомные числа, хозяйственно-ценные признаки

## GENOME SIZE VARIABILITY OF CULTIVARS AND HYBRIDS OF GARDEN CHRYSANTHEMUM (*CHRYSANTHEMUM* × *HORTORUM* BAILEY) OF THE FRC SSC RAS COLLECTION

L.G. Yakushina<sup>1</sup>, junior researcher, [Vishnya584@yandex.ru](mailto:Vishnya584@yandex.ru)

A.O. Matskiv<sup>1</sup>, junior researcher

R. M. Shhalahova<sup>1</sup>, junior researcher

K.A. Manakhova<sup>2</sup>, researcher

<sup>1</sup>Federal Research Centre the Subtropical Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences, Yana Fabritsiusa str., 2/28, Sochi, 354002, Russia, [subplod@mail.ru](mailto:subplod@mail.ru)

<sup>2</sup>Center of Genetics and Life Science, Sirius University of Science and Technology, Olimpiyskiy avenue, 1, Sochi, 354340, Russia, [weener.me@talantiuspeh.ru](mailto:weener.me@talantiuspeh.ru)

### Abstract

Garden chrysanthemum (*Chrysanthemum* × *hortorum*) is one of the leading flowers and ornamental crops in the world. Garden chrysanthemum breeding is carried out with the predominantly usage of classical breeding methods (interspecific and intervarietal crosses, open pollination), as well as modern methods for obtaining new adapted cultivars. For the selection of parental individuals and directed crosses, it is necessary to know the size of the genome of the parental forms. In this work, we have studied the genome size of 12 hybrids and 28 cultivars, which are of interest as a source of agronomically valuable traits. The studied hybrids were obtained at the Federal Research Center of the SSC RAS and are adapted to the growing conditions in the subtropics of Russia. Most of the cultivars (24) are from the Netherlands, 3 cultivars have been bred in the Federal Research Centre the Subtropical Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences (Sochi, Russia) and 1 cultivar has been selected in the Nikitsky Botanical Gardens – National Scientific Center of the RAS (Russia). Of the two nuclei extraction buffers (Tris-Mg and WPB), the WPB buffer is more efficient, since there is less degradation of nuclei during sample preparation and the coefficient of variation is lower. The results showed that the genome size in the collection varied from 8.48 to 20.41 pg. The maximum genome size was 20.49 and 18.39 pg in hybrids S-250-1 and Zh-116-2, respectively. The minimum genome size was 8.48; 9.3 and 10.5 pg in Desna Pink, Annecy White and Westland red, respectively. Studies have shown that some hybrids derived from the seeds of Mona Lisa have a different genome size than the maternal parent. It has been found that the related Yuzhnaya and Symphonia have different genome sizes, which presumably correspond to 6n and 4n sets of chromosomes, respectively. Based on the results obtained for the genome size, it can be assumed that 67.5 % of the samples of the collection are tetraploids, 22.5 % of the samples are hexaploids, 2.5 % are pentaploids and 7.5 % of the plants are diploids. These data will be useful for breeding and searching for correlations with phenotypic traits. At

the same time, large-flowered chrysanthemums of the FRC SSC RAS collection have a smaller genome size and, presumably, a diploid and tetraploid set of chromosomes, while small-flowered cultivars and hybrids are tetraploids and hexaploids. In the future, it is necessary to continue studying the collection in order to find out whether among the large-flowered chrysanthemums there are hexaploids and plants with even higher ploidy.

**Key words:** flow cytometry, WPB buffer, chromosome numbers, a source of agronomically valuable traits

### Введение

Хризантема садовая *Chrysanthemum × hortorum* – важная цветочно-декоративная культура, имеющая высокую экономическую ценность, которую начали выращивать в Китае более трех тысяч лет назад. В настоящее время, благодаря классическим и современным методам селекции, получены сорта с различными формами и окраской соцветий, в то время как прародители хризантемы имели ромашковидные соцветия и желтую окраску (Guo et al., 2012; Su et al., 2019). В Китае в 2011 году насчитывалось около 3 000 сортов крупноцветной хризантемы (*Chrysanthemum × hortorum*), классифицированных по 30 типам соцветий (Ma et al., 2015).

Хризантема рассматривается как гибридный таксон, созданный путем искусственного отбора и межвидовой гибридизации (Dai et al., 2002). Было выявлено, что в процессе эволюции этого таксона произошло по меньшей мере три события полногеномной дупликации (Wang et al., 2015). Как следствие, морфология и уровень пloidности весьма варьируют среди видов этого рода. Род хризантема содержит виды, варьирующиеся по пloidности: от диплоидных ( $2n = 2x = 18$ ) до декапloidных ( $2n = 10x = 90$ ) (Khandakar et al., 2014). Например, *Chrysanthemum rhombifolium* H. Ohashi & Yonek. диплоидный ( $2n = 2x = 18$ ), *Chrysanthemum hypargyrum* Diels = *Dendranthema hypargyrum* (Diels) Y. Ling & C. Shih тетрапloidный ( $2n = 4x = 36$ ) и *Chrysanthemum vestitum* (Hemsl.) Stapf гексапloidный ( $2n = 6x = 54$ ) (Chen et al., 2008; Dowrick, 1953; Li et al., 2013). В целом, по уровню пloidности хризантема представляет собой гетерогенный таксон, и в публикациях имеется достаточно много данных о вариабельности хромосомных чисел хризантемы в природе или коллекциях культурных сортов (Ma et al., 2017). В основном, культурные хризантемы аллогексапloidды ( $2n = 6x = 54$ ), с гапloidным набором  $x = 9$ , а число хромосом в соматических клетках колеблется от  $2n = 47-63$  и  $2n = 36$  до 45, 47, 51-57 (Bala et al., 2020). Анализ, проведенный Yue-ping Ma с коллегами (2017) показал, что большинство из 200 изученных сортов хризантем относятся к гексапloidдам или анеупloidдам с количеством хромосом от 50 до 70 (Ma et al., 2017).

Эволюция рода Хризантемы включает несколько раундов аллополипloidизации от низкой пloidности до высокой. Генетические изменения отразились на внешнем виде растений. Если рассматривать крупноцветковую хризантему, то морфологические изменения корзинки эволюционировали от простого к сложному. Например, как исходный признак можно рассматривать язычковый тип цветка без киля, свойственный диким формам (Wang et al., 2010). От простых язычковых цветков образовались лопаточковидные и язычковые с развитым килем, от которых, в свою очередь, произошли другие типы (Miao et al., 2007). Исходный желтый цвет соцветия в последствии преобразовывался в белый, фиолетовый, красный, оранжевый, розовый и сочетание нескольких цветов (Wang et al., 2010).

До сих пор происхождение культурных хризантем не полностью изучено, но чаще мнения сходятся в том, что культурные растения хризантемы возникли в результате длительных естественных и направленных скрещиваний нескольких диких видов, которые претерпевали полиплоидию (Ma et al., 2015). Существует мнение, что триплоидия и тетраплоидия крупноцветковой хризантемы может образовываться в результате гибридизации диплоидных, тетраплоидных и гексаплоидных диких видов растений (Guo et al., 2012). Возможно, тетраплоидные и гексаплоидные дикие виды дали начало гексаплоидным сортам, которые имеют более близкие родственные связи с дикими растениями. В свою очередь, тетраплоиды возникли при гибридизации гексаплоидных сортовых растений с диплоидными дикими. Это доказывается тем, что в роде Хризантемы и близких родах есть много диких видов, которые могут скрещиваться с современной сортовой хризантемой (Yang et al., 2006; Guo et al., 2012).

При проведении гибридизации и искусственном отборе имеет значение уровень пloidности. Полиплоиды широко представлены среди важнейших декоративных культур: шесть из десяти срезочных цветов на голландских аукционах полиплоидные (Van Geest, 2017). Считается, что полиплоидия дает больше шансов нивелировать неблагоприятные аллели (Otto, Whitton, 2000). Одна из причин – прогрессирующий гетерозис, вызванный специфическими аллельными взаимодействиями. Кроме того, полиплоидия дает возможность взаимодействия между множественными аллелями, что приводит к сверхдоминированию нескольких аллелей (Birchler et al., 2010). Эффект гетерозиса играет большую роль в сохранении полиплоидов, так как они в большей степени гетерозиготны. С одной стороны, включение диплоидов в направленные скрещивания более эффективно для выведения устойчивых сортов. С другой стороны, наличие специфических взаимодействий между множественными аллелями, могут сформировать более конкурентный фенотип по сравнению со взаимодействием каждого отдельного аллеля. Подобно естественному отбору, селекция по хозяйственно-ценным признакам – это не только выбраковка неблагоприятных аллелей, но также выделение наиболее благоприятных взаимодействий между аллелями (Bala et al., 2020). Некоторые неблагоприятные аллели могут стать благоприятными при изменении критериев отбора. Неблагоприятные или «неиспользованные» аллели имеют более высокие шансы остаться в полиплоидных растениях, чем в диплоидных. Так, полиплоиды могут быть более приспособленными в новых условиях, чем диплоиды (Otto, Whitton, 2000). Следовательно, полиплоидия благоприятна для селекции растений (Dubcovsky, Dvorak, 2007; Родионов и др., 2019). Лучшая адаптация к стрессорам снижает агротехнические затраты, что также свидетельствует в пользу полиплоидов (Heslop-Harrison, 2000; Abd El-Twab, Kondo, 2006; Li, Shao, 1990; Zhao et al., 2010; Hwang et al., 2013; Van Geest, 2017). Знание размера генома позволяет сократить сроки селекционной работы, так как позволяет быстрее подбирать пары для осуществления гибридизации, прогнозировать сохранение хозяйственно-ценных признаков у потомства, появление новообразований.

На сегодняшний день по-прежнему отсутствует информация об уровне пloidности для большинства культурных сортов, что связано с быстрым изменением количества хромосом при гибридизации между растениями хризантемы садовой, а также отсутствием возможностей быстрого и дешевого метода определения хромосомных чисел с высоким уровнем точности.

Обычно уровень пloidности определяют микроскопией в пыльцевых зернах, семязачатках, кончике корня, а также косвенными методами, такими как количество хлоропластов в замыкающих клетках устьиц и другими морфологическими наблюдениями (Bala et al., 2020). Одним из современных методов косвенного определения уровня

плоидности является метод проточной цитометрии, который является наиболее быстрым, и успешно использовался для анализа размера генома в коллекциях хризантемы рядом авторов (Chen et al., 2008; Guo et al., 2012; Hwang et al., 2013; Van Geest, 2017; Bala et al., 2020).

В Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Федеральный исследовательский центр «Субтропический научный центр Российской академии наук» (ФИЦ СНЦ РАН) на протяжении многих лет проводятся интродукционные и селекционные исследования на культуре хризантемы. Поддерживается коллекция, включающая крупноцветковые и мелкоцветковые сортообразцы, в том числе селекции Центра, а также гибридный фонд, обладающий высокой декоративностью, продуктивностью и длительностью цветения (Рындин, Слепченко, 2019; Рындин и др., 2021).

Целью данного исследования был анализ вариабельности размера генома в коллекции основных отечественных генотипов хризантемы методом проточной цитометрии.

### Материалы и методы

В работу были взяты растения коллекции ФИЦ СНЦ РАН (г. Сочи): сорта и гибриды крупноцветной и мелкоцветной хризантемы селекции Нидерландов и России (ФГБУН ФИЦ СНЦ РАН и ФГБУН «НБС-ННЦ РАН»). Фенотипически генотипы отличаются по габитусу, форме корзинки и окраске соцветия, имеют разные сроки цветения, разную степень устойчивости к биотическим и абиотическим стрессорам (таблица 1).

Таблица 1 – Список сортов и гибридов хризантемы садовой, включенных в исследование

№ п/п	Сорт, гибрид	Страна происхождения	№ п/п	Сорт, гибрид	Страна происхождения
Крупноцветковая			20	Jaguar Purple	Нидерланды
1	Ariana	Нидерланды	21	Baltica White	
2	Bigoudi Purple		22	Tigerrag	
3	Grand Pink		23	Annecy White	
4	Natalia		24	Westland red	
5	Saratov		25	Симфония	
6	Sevan		26	Южная	
7	Izetka Bernstein		27	Горянка	
8	Vesuvio		28	Садко	
9	Rossano		29	P-196-4	
10	Zembla Brasil		30	C-250-7	
11	Anastasia Green		31	P-196-25	
12	Desna Pink		32	P-201-1	
13	Gilbert Leigh Purple		33	И-34-5	
14	Princess Armgard Bronze		34	C-250-7	
Мелкоцветковая			35	C-250-7	
15	Balloon	Нидерланды	36	Ж-116-2	
16	Rebonnet		37	C-250-1	
17	Viena Cream		38	P-30-24	
18	Mona Lisa		39	P-181-1	
19	Angelys Jaune		40	P-192-4	

Перед исследованием плоидности образцов хризантемы провели оптимизацию протокола проточной цитометрии для получения суспензии ядер. Оценивали эффективность двух буферов для экстракции ядер: WPB (Huang et al., 2014) и Tris-Mg (Dolezel et al., 2007). Состав

буфера WPB: 0,2 М Tris-HCl, 4 мМ MgCl<sub>2</sub>•6H<sub>2</sub>O, 2 мМ EDTA Na<sub>2</sub>•2H<sub>2</sub>O, 86 мМ NaCl, 10 мМ метабисульфит натрия, 1 % PVP-10, 1 % (v/v) Triton X-100, рН 7,5. Состав буфера Tris-Mg: 200 мМ Tris, 4 мМ MgCl<sub>2</sub>•6H<sub>2</sub>O, 0,5 % (v/v) Triton X-100, рН 7,5.

Высечки молодых листьев площадью 2 см<sup>2</sup> были подготовлены для проточной цитометрии: листья гомогенизировали в 1000 мкл охлажденного буфера острием лезвия в пластиковой чашке Петри на ледяной подложке. Суспензию пропускали через фильтры с размером пор 40 мкм. В фильтрат добавляли 50 мкг/мл RNКазы и 50 мкг/мл иодида пропидия. Далее образцы инкубировали в темноте 2 часа на охлаждающей подложке, затем проводили измерение. Анализ размера генома сортов и гибридов хризантемы проведен на базе НТУ «Сириус» (г. Сочи) на приборе Beckman Coulter.

Для детекции популяции ядер использовали фронтальное (FCS) и боковое (SSC) светорассеивание и канал флуоресценции ECD. После оптимизировали настройки детекторов цитофлуориметра с использованием канала ECD. Первый пик учитывали, как соответствующий 2С фазе митоза (ядра, содержащие n или 2n набор хромосом), второй пик – ядра 4С пролиферирующих клеток. Популяция для анализа выделялась по отношению сигналов PE-A и PE-H и PE-A и SSC. Для достоверного анализа набирали не менее 300 событий. В качестве внешнего стандарта использовали диплоидный генотип лука (*Allium cepa* L.) размер генома 2С = 33,2 пг, который сравнивали с геномом хризантемы Izetka Bernstein, который затем являлся контролем.

Статистическую обработку данных проводили методом однофакторного дисперсионного анализа при помощи пакета MS Excel 2010.

### Результаты и их обсуждение

Оценка эффективности буферов для экстракции ядер показала, что буфер WPB эффективнее, чем Tris-Mg. При проведении оптимизации были получены пики для сортов: Vesuvio, Jaguar Purple, Baloone (рисунок 1).

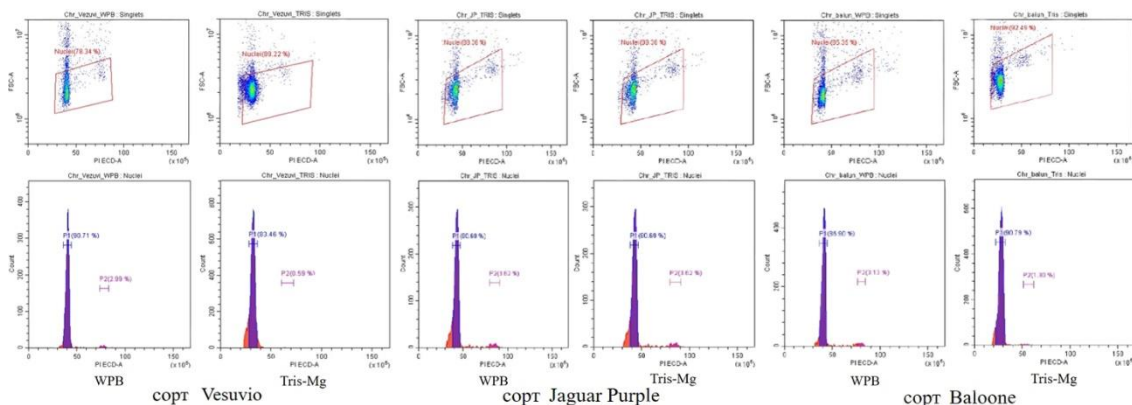
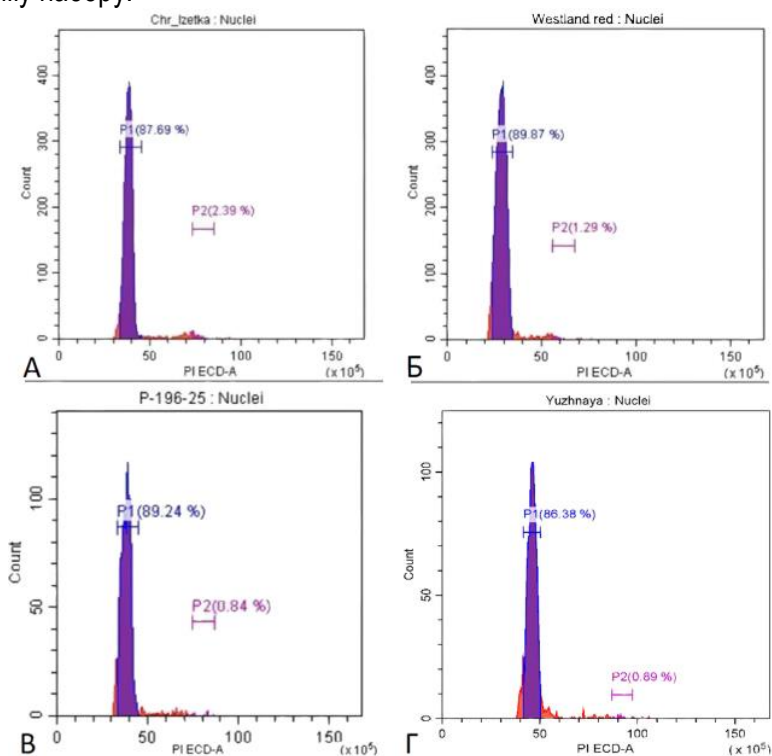


Рисунок 1 – Гистограммы проточной цитометрии ядер, выделенных с помощью буфера WPB и буфера Tris-Mg у трех сортов хризантемы

Коэффициент вариации при использовании буфера WPB был ниже, что свидетельствует о том, что деградация ядер меньше в процессе пробоподготовки, в сравнении с буфером Tris-Mg.

Размер генома контрольного Izetka Bernstein составил от 13,95 до 14,43 пг (рисунок 2А). Исходя из того, что 54 хромосомы ~ 8...20 пг, то есть 1 хромосома ~ 0,35...0,40 пг (Guo

et al., 2012), можно предположить, что у *Izetka Bernstein* 36 хромосом, что соответствует тетраплоидному набору.



*A – Izetka Bernstein (предположительно 4n); Б – Westland red (предположительно 2n); В – гибрид P-196-25 (предположительно 4n); Г – Южная (предположительно 6n).*

**Рисунок 2 – Гистограммы проточной цитометрии ядер, выделенных из хризантемы и сортов и гибридов различной ploидности**

Согласно полученным данным, коэффициент вариации пиков (CV) составлял менее 10 %, что является допустимым значением для анализа (Srisawat et al., 2012). Некоторые исследователи добиваются снижения коэффициента вариации (CV, %) ниже 5 %, но этот показатель сильно зависит от генотипа (Guo et al., 2012).

В целом, по размеру генома исследуемые генотипы условно разделились на три группы: от 8,48 до 10,52 пг (предполагаемые диплоиды); от 12,44 до 13,67 пг (предполагаемые тетраплоиды); от 16 до 18,39 пг (предполагаемые гексаплоиды) (рисунок 2 Б, В, Г). В первую группу вошли три сорта зарубежной селекции (таблица 2).

Вторая, наиболее многочисленная группа объединила 27 генотипов (сортов и гибридов) отечественной и зарубежной селекции. Третья группа с наибольшим размером генома включила 10 генотипов в основном отечественной селекции. Внутри каждой из трех групп размер генома (предположительно одном уровне ploидности) варьировал в пределах 2...3 пг, что может быть следствием различий по размеру хромосом, о чем сообщалось в ранее опубликованных исследованиях (Roux et al., 2003; Dowrick et al., 1969).

Полученные результаты показали, что крупноцветные хризантемы коллекции Центра предположительно имеют диплоидный и тетраплоидный набор хромосом, тогда как мелкоцветные сорта и гибриды предположительно относятся к тетраплоидам и гексаплоидам. Среди исследуемых растений большая часть (67,5 %) предполагаемые тетраплоиды, 22,5 % – гексаплоиды, 2,5 % – пентаплоидов и 7,5 % – диплоиды.

Таблица 2 – Вариабельность размера генома в коллекции хризантемы

N п/п	Сорт, гибрид	Количество событий	Коэффициент вариации (CV, %)	Размер генома (2С ДНК, пг)	Плоидность	Хромосомное число
1	Desna Pink	551	14,01	8,48	2n	18
2	Annecy White	2982	9,67	9,30	2n	18
3	Westland red	3975	9,37	10,52	2n	18
4	P-181-1	453	6,92	11,46	4n	36
5	Princess Armgard Bronze	530	7,72	12,07	4n	36
6	Grand Pink	731	7,15	12,22	4n	36
7	Natalia	840	7,07	12,25	4n	36
8	Gilbert Leigh Purple	2096	5,95	12,34	4n	36
9	Bigoudi Purple	901	7,46	12,38	4n	36
10	Ariana	1143	5,96	12,44	4n	36
11	Sevan	803	7,33	12,49	4n	36
12	P-196-25	1062	7,06	12,75	4n	36
13	Saratov	2151	7,17	12,94	4n	36
14	P-30-24	501	5,95	13,00	4n	36
15	Zembla Brasil	928	6,60	13,09	4n	36
16	Angelys Jaune	2174	8,89	13,50	4n	36
17	Tigerrag	1780	6,04	13,57	4n	36
18	Baltica White	991	5,75	13,63	4n	36
19	Jaguar Purple	836	4,15	13,65	4n	36
20	Горянка	1636	5,72	13,67	4n	36
21	Anastasia Green	1017	5,92	13,70	4n	36
22	P-196-4	796	4,94	13,92	4n	36
23	Vesuvio	2061	3,77	13,99	4n	36
24	Izetka Bernstein	1200	5,76	14,00	4n	36
25	Mona Lisa	771	4,35	14,09	4n	36
26	Rossano	952	4,94	14,14	4n	36
27	Balloon	2911	4,27	14,22	4n	36
28	Симфония	5992	6,26	14,22	4n	36
29	P-192-4	2411	7,09	14,95	4n	36
30	Rebonnet	473	4,38	15,22	4n	36
31	P-201-1	1651	4,04	16,44	5n	45
32	И-34-5	1126	3,96	16,48	6n	54
33	Viena Cream	418	4,17	16,69	6n	54
34	C-250-7	1025	6,30	16,76	6n	54
35	P-120-7	951	3,96	16,77	6n	54
36	Садко	866	4,65	17,45	6n	54
37	C-250-2	1475	3,90	17,76	6n	54
38	Южная	869	4,71	17,87	6n	54
39	Ж-116-2	469	5,14	18,39	6n	54
40	C-250-1	1333	4,07	20,41	6n	54

В результате проведенных исследований установлено, что крупноцветковая хризантема коллекции Центра имеет в среднем меньший размер генома, чем мелкоцветковая. Причем, потомки тетраплоидного Mona Lisa: C-250-1, C-250-2, C-250-7 имеют гексаплоидный набор хромосом, но есть и тетраплоидные потомки: P-196-4, P-196-25. Потомок гексаплоидного Садко – И-34-5 также гексаплоидный. Родственные сорта Южная (предположительно 6n) и Симфония (предположительно 4n) имеют разный размер генома. Вероятно, среди растений



хризантемы садовой достаточно легко происходит изменение хромосомных чисел в процессе гибридизации. Это объясняет значительную изменчивость фенотипов изучаемых растений и усложняет работу селекционера по изучению ассоциации ген-признак. Среди исследуемых сортов были обнаружены растения с отличающимся размером генома на 0,7...0,8 пг, которые ранее были отнесены к растениям с одинаковой ploидностью. Возможно, это связано с распространенной среди хризантемы анеуплоидией (Guo et al., 2012), а также различным размером самих хромосом. Полученные результаты по размеру генома не совсем согласуются с выводами других исследователей. К примеру, по мнению В.Н. Шмыгун, у крупноцветковых сортов, полученных в результате полиплоидии, как правило, число хромосом больше, чем у мелкоцветковых (Шмыгун, 1972). Также сообщалось, что количество хромосом у крупноцветковой хризантемы варьирует от 45 до 71, а это означает, что гексаплоиды и анеуплоиды на основе гексаплоидов являются наиболее часто встречающимися генотипами (Li, Shao, 1990; Van Geest, 2017). Необходимо продолжить изучение коллекции хризантемы, чтобы выяснить, есть ли среди крупноцветковой хризантемы гексаплоиды и растения с еще более высокой ploидностью.

### **Заключение**

Использование проточной цитометрии в качестве косвенного метода анализа размера генома является удобным и качественным инструментарием в селекционной работе с хризантемой садовой. Вариабельность размера генома в коллекции хризантемы ФИЦ СЦ РАН (г. Сочи) составила от 8,48 пг у Desna Pink до 20,49 пг у гибрида С-250-1. Исследования показали, что коллекция представляет ценный селекционный материал, который состоит из хризантем, имеющих разный размер генома и предположительно разную ploидность. Вероятно, большая часть коллекции это тетраплоиды и гексаплоиды. Полученные данные будут полезны в селекционных исследованиях.

### **Благодарности**

Публикация подготовлена в рамках реализации государственного задания ФИЦ СЦ РАН № FGRW-2021-0006 – Поиск и исследование молекулярно-генетических механизмов и разработка современных инструментов создания качественно новых генотипов цветочно-декоративных, субтропических и южных плодовых культур и № FGRW-2021-0009 – Изучение механизмов наследования значимых признаков и создание новых высокоэффективных сортов субтропических и цветочно-декоративных культур по комплексу хозяйственно-ценных признаков.

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### **Литература**

1. Родионов А.В., Амосова А.В., Беляков Е.А., Журбенко П.М., Михайлова Ю.В., Пунина Е.О., Шнеер В.С., Лоскутов И.Г., Муравенко О.В. Генетические последствия межвидовой гибридизации, ее роль в видообразовании и фенотипическом разнообразии растений // Генетика. 2019. Т. 55, № 3. С. 255-272. DOI:10.1134/S0016675819030159. EDN: [VTGASK](#).
2. Рындин А.В., Слепченко Н.А. Цветочно-декоративные культуры в ФГБНУ ВНИИЦиСК: состояние и пополнение коллекций // Научные труды Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия. 2019. № 25. С. 206-210. DOI: 10.30679/2587-9847-2019-25-206-210. EDN: [AVKFCX](#).
3. Рындин А.В., Кулян Р.В., Слепченко Н.А. Селекция субтропических и цветочных культур в ФИЦ «Субтропический научный центр РАН» // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2021. Т. 25, № 4. С. 420-432. DOI:10.18699/VJ21.047. EDN: [MKMUNT](#).

4. Шмыгун В.Н. Хризантемы. М.: Наука. 1972. 115 с.
5. Abd El-Twab M.H., Kondo K. FISH physical mapping of 5S, 45S and *Arabidopsis*-type telomere sequence repeats in *Chrysanthemum zawadskii* showing intra-chromosomal variation and complexity in nature // *Chromosome Botany*. 2006. Vol. 1, № 1. P. 1-5. DOI:10.3199/iscb.1.1.
6. Bala A., Bala M., Khare V. A review on cytological study in *Chrysanthemum* species // *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2020. Vol. 9, № 5. P. 549-553.
7. Birchler J.A., Yao H., Chudalayandi S., Vaiman D., Veitia R.A. Heterosis // *The Plant Cell*. 2010. Vol. 22, № 7. P. 2105-2112. DOI:10.1105/tpc.110.076133.
8. Chen F.D., Zhao H.B., Li C., Chen S.M., Fang W.-M. Advances in cytology and molecular cytogenetics of the genus *Dendranthema* // *Journal of Nanjing Agricultural University*. 2008. Vol. 31, №1. P. 118-126.
9. Dai S.L., Wang W.K., Huang J.P. Advances of researches on phylogeny of *Dendranthema* and origin of chrysanthemum // *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Pekinensis*. 2002. Vol. 24, № 5/6. P. 230-234. DOI:10.13332/j.1000-1522.2002.z1.046.
10. Dolezel J., Greilhuber J., Suda J. Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry // *Nature Protocols*. 2007. Vol. 2, № 9. P. 2233-2244. DOI: 10.1038/nprot.2007.310.
11. Dowrick G.I. The chromosomes of *Chrysanthemum*, II: Garden varieties // *Heredity*. 1953. № 7. P. 59-72. DOI:10.1038/HDY.1953.5.
12. Dowrick G.J., El Bayoumi A.S. Nucleic acid content and Chromosome morphology in *Chrysanthemum* // *Genetics Research*. 1969. Vol. 13, № 3. P. 241-250. DOI:10.1017/S0016672300002937.
13. Dubcovsky, J., Dvorak, J. Genome Plasticity a Key Factor in the Success of Polyploid Wheat Under Domestication // *Science*. 2007. Vol. 316, № 5833. P. 1862-1866. DOI:10.1126/science.1143986.
14. Guo X., Luo C., Wu Z., Zhang X., Cheng X., Huang C. Polyploidy levels of Chinese large-flower chrysanthemum determined by flow cytometry // *African Journal of Biotechnology*. 2012. Vol. 11, № 31. P. 7789-7794. DOI:10.5897/AJB11.3600.
15. Heslop-Harrison J.S. Comparative Genome Organization in Plants: From Sequence and Markers to Chromatin and Chromosomes // *The Plant Cell*. 2000. Vol. 12, № 5. P. 617-635. DOI:10.1105/tpc.12.5.617.
16. Hwang Y., Younis A., Kwang Bok Ryu, Lim K., Chang-Ho Eun, Jungho Lee, Seong-Han Sohn, Soo-Jin Kwon. Karyomorphological Analysis of Wild *Chrysanthemum boreale* Collected from Four Natural Habitats in Korea // *Flower Research Journal*. 2013. Vol. 21, № 4. P. 182-189. DOI:10.11623/frj.2013.21.4.34.
17. Khandakar R.K. MD, Jie Y., Min S.-K., Won M.-K., Choi H.G., Park H.-S., Choi J.-J., Chae S.-C., Jung J.-Y., Lee K.-M., Kim T.-S., PARK Y.-J. Regeneration of Haploid Plantlet through Anther Culture of *Chrysanthemum* (*Dendranthema grandiflorum*) // *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 2014. Vol. 42, № 2. P. 482-487. DOI:10.15835/NBHA4229640.
18. Kim J.S., Pak J.H., Seo B.B., Tobe H. Karyotypes of metaphase chromosomes in diploid populations of *Dendranthema zawadskii* and related species (Asteraceae) from Korea: diversity and evolutionary implications // *Journal of Plant Research*. 2003. Vol. 116, № 1. P. 47-55. DOI:10.1007/s10265-002-0067-1. EDN: BEMJUD
19. Li Ch., Chen S., Chen F., Li J., Fang W. Cytogenetic study of three edible *Chrysanthemum* cultivars // *Genetika*. 2011. Vol. 47, № 2. P. 199-205. DOI:10.1134/S1022795411010054.
20. Li H.J., Shao J.W. Investigation, collection and classification of chrysanthemum cultivars in China // *Journal of Nanjing Agricultural University*. 1990. Vol. 13, №1. P. 30-36.
21. Li J., Wan Q., Abbott R.J., Rao G.-Y. Geographical distribution of cytotypes in the *Chrysanthemum indicum* complex as evidenced by ploidy level and genome-size variation //

- Journal of Systematics and Evolution. 2013. Vol. 51, № 2. P. 196-204. DOI:10.1111/j.1759-6831.2012.00241.x.
22. Ma Y.-P., Wei J.-X., Yu Z.-Y., Qin B. Characterization of ploidy levels in *Chrysanthemum* L. by flow cytometry // Journal of Forestry Research. 2015. Vol. 26, № 3. P. 771-775. DOI:10.1007/s11676-015-0071-7.
  23. Miao H.-B., Chen F.-D., Zhao H.-B. Genetic Relationship of 85 *Chrysanthemum* [*Dendranthema* × *Grandiflora* (Ramat.) Kitamura] Cultivars Revealed by ISSR Analysis // Acta Horticulturae Sinica. 2007. Vol. 34, № 5. P. 1243-1248.
  24. Otto S.P., Whitton J. Polyploid Incidence and Evolution // Annual Review of Genetics. 2000. Vol. 34. P. 401-437. DOI:10.1146/annurev.genet.34.1.401.
  25. Roux N., Toloza A., Radecki Z., Zapata-Arias F.J., Dolezel J. Rapid detection of aneuploidy in *Musa* using flow cytometry // Plant Cell Reports. 2003. Vol. 21, № 5. P. 483-490. DOI: 10.1007/s00299-002-0512-6.
  26. Samarina L.S., Malyarovskaya V.I., Reim S., Yakushina L.G., Koninskaya N.G., Klemeshova K.V., Shkhalakhova R.M., Matskiv A.O., Shurkina E.S., Gabueva T.Y., Slepchenko N.A., Ryndin A.V. Transferability of ISSR, SCoT and SSR Markers for *Chrysanthemum* × *Morifolium* Ramat and Genetic Relationships Among Commercial Russian Cultivars // Plants. 2021. Vol. 10, № 7. P. 1302. DOI: 10.3390/plants10071302. EDN: CQYZJD.
  27. Srisawat T., Pattanapanyasat K., Dolezel J. Flow cytometric classification of oil palm cultivars // African Journal of Biotechnology. 2012. Vol. 11, № 16. P. 3713-3724. DOI: 10.5897/AJB11.2958.
  28. Su J., Jiang J., Zhang F., Liu Y., Ding L., Chen S., Chen F. Current achievements and future prospects in the genetic breeding of chrysanthemum: a review // Horticulture Research. 2019. Vol. 6. P. 109. DOI:10.1038/s41438-019-0193-8.
  29. Tsukaya H. Leaf anatomy of a rheophyte, *Dendranthema yoshinaganthum* (Asteraceae), and of hybrids between *D. yoshinaganthum* and a closely related non-rheophyte, *D. indicum* // Journal of Plant Research. 2002. Vol. 115, №5. P. 329-333. DOI:10.1007/s10265-002-0041-y. EDN: BBCZGA.
  30. Van Geest G. Disentangling hexaploid genetics: towards DNA-informed breeding for postharvest performance in chrysanthemum: дис. ... PhD Thesis. Wageningen: Wageningen University. 142 p. 2017. DOI:10.18174/420068.
  31. Yang W.H., Glover B.J., Rao G.-Y., Yang J. Molecular evidence for multiple polyploidization and lineage recombination in the *Chrysanthemum indicum* polyploid complex (Asteraceae) // New Phytologist. 2006. Vol. 171, № 4. P. 875-886. DOI:10.1111/j.1469-8137.2006.01779.x.
  32. Zhao H.-B., Chen F.-D., Chen S.-M., Wu G.-S., Guo W.-M. Molecular phylogeny of *Chrysanthemum*, *Ajania* and its allies (Anthemideae, Asteraceae) as inferred from nuclear ribosomal ITS and chloroplast *trnL-F* IGS sequences // Plant Systematics and Evolution. 2010. Vol. 284, № 3/4. P. 153-169. DOI:10.1007/s00606-009-0242-0.

## References

1. Rodionov, A.V., Amosova, A.V., Belyakov, E.A., Zhurbenko, P.M., Mikhailova, Yu.V., Punina, E.O., Shneer, V.S., Loskutov, I.G., & Muravenko, O.V. (2019). Genetic consequences of interspecific hybridization, its role in speciation and phenotypic diversity of plants. *Genetika*, 55(3), 255-272. <https://doi.org/10.1134/S1022795419030141>. EDN: CEQZDI. (In Russian, English abstract).
2. Ryndin, A.V., & Slepchenko, N.A. (2019). Flower-ornamental crops in FSBSI all-r rif&sc: state and replenishment of collections. *Nauchnyye Tрудy SeveroKavkazskogo Federalnogo Nauchnogo Tsentra Sadovodstva, Vinogradarstva, Vinodeliya*, 25, 206-210. <https://doi.org/10.30679/2587-9847-2019-25-206-210>. EDN: AVKFCX. (In Russian, English abstract).

3. Ryndin, A.V., Kulyan, R.V., & Slepchenko, N.A. (2021). Subtropical and flower crops breeding at the Subtropical Scientific Centre. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 25(4), 420-432. <https://doi.org/10.18699/VJ21.047>. EDN: MKMUNT. (In Russian, English abstract).
4. Shmygun, V.N. (1972). *Chrysanthemums*. Moscow. (In Russian).
5. Abd El-Twab M.H., & Kondo, K. (2006). FISH physical mapping of 5S, 45S and *Arabidopsis*-type telomere sequence repeats in *Chrysanthemum zawadskii* showing intra-chromosomal variation and complexity in nature. *Chromosome Botany*, 1(1), 1-5. <https://doi.org/10.3199/iscb.1.1>.
6. Bala, A., Bala, M., & Khare, V.A. (2020). Review on cytological study in *Chrysanthemum* species. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 9(5), 549-553.
7. Birchler, J.A., Yao, H., Chudalayandi, S., Vaiman, D., & Veitia, R.A. (2010). Heterosis. *The Plant Cell*, 22(7), 2105-2112. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.076133>.
8. Chen, F.D., Zhao, H.B., Li, C., Chen, S.M., & Fang, W.-M. (2008). Advances in cytology and molecular cytogenetics of the genus *Dendranthema*. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 31(1), 118-126.
9. Dai, S.L., Wang, W.K., & Huang, J.P. (2002). Advances of researches on phylogeny of *Dendranthema* and origin of chrysanthemum. *ACTA Scientiarum Naturalium Universitatis Pekinensis*, 24(5/6), 230-234. <https://doi.org/10.13332/j.1000-1522.2002.z1.046>.
10. Dolezel, J., Greilhuber, J., & Suda, J. (2007) Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. *Nature Protocols*, 2(9), 2233-2244. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.310>.
11. Dowrick, G.I. (1953). The chromosomes of chrysanthemum, II: Garden varieties. *Heredity*, 7, 59-72. <https://doi.org/10.1038/HDY.1953.5>.
12. Dowrick, G.J., & El Bayoumi, A.S. (1969). Nucleic acid content and Chromosome morphology in *Chrysanthemum*. *Genetics Research*, 13(3), 241-250. <https://doi.org/10.1017/S0016672300002937>.
13. Dubcovsky, J., Dvorak, J. (2007). Genome Plasticity a Key Factor in the Success of Polyploid Wheat Under Domestication. *Science*, 316(5833), 1862-1866. <https://doi.org/10.1126/science.1143986>.
14. Guo, X., Luo, C., Wu, Z., Zhang, X., Cheng, X., & Huang, C. (2012). Polyploidy levels of Chinese large-flower chrysanthemum determined by flow cytometry. *African Journal of Biotechnology*, 11(31), 7789-7794. <https://doi.org/10.5897/AJB11.3600>.
15. Heslop-Harrison, J.S. (2000). Comparative Genome Organization in Plants: From Sequence and Markers to Chromatin and Chromosomes. *The Plant Cell*, 12(5), 617-635. <https://doi.org/10.1105/tpc.12.5.617>.
16. Hwang, Y., Younis, A., Kwang, Bok Ryu, Lim, K., Chang-Ho, Eun, Jungho, Lee, Seong-Han, Sohn, & Soo-Jin, Kwon. (2013). Karyomorphological Analysis of Wild *Chrysanthemum boreale* Collected from Four Natural Habitats in Korea. *Flower Research Journal*, 21(4), 182-189. <https://doi.org/10.11623/frj.2013.21.4.34>.
17. Khandakar MD, R.K., Jie, Y., Min, S.-K., Won, M.-K., Choi, H.G., Park, H.-S., Choi, J.-J., Chae, S.-C., Jung, J.-Y., Lee, K.-M., Kim, T.-S., & Park Y.-J. (2014). Regeneration of Haploid Plantlet through Anther Culture of *Chrysanthemum* (*Dendranthema grandiflorum*). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 42(2), 482-487. <https://doi.org/10.15835/NBHA4229640>.
18. Kim, J.S., Pak, J.H., Seo, B.B., & Tobe, H. (2003). Karyotypes of metaphase chromosomes in diploid populations of *Dendranthema zawadskii* and related species (Asteraceae) from Korea: diversity and evolutionary implications. *Journal of Plant Research*, 116(1), 47-55. <https://doi.org/10.1007/s10265-002-0067-1>. EDN: BEMJUD

19. Li, Ch., Chen, S., Chen, F., Li, J., & Fang, W. (2011). Cytogenetic study of three edible *Chrysanthemum* cultivars. *Genetika*, 47(2), 199-205. <https://doi.org/10.1134/S1022795411010054>.
20. Li, H.J., & Shao, J.W. (1990). Investigation, collection and classification of chrysanthemum cultivars in China. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 13(1), 30-36.
21. Li, J., Wan, Q., Abbott, R.J., & Rao, G.-Y. (2013). Geographical distribution of cytotypes in the *Chrysanthemum indicum* complex as evidenced by ploidy level and genome-size variation. *Journal of Systematics and Evolution*, 51(2), 196-204. <https://doi.org/10.1111/j.1759-6831.2012.00241.x>.
22. Ma, Y.-P., Wei, J.-X., Yu, Z.-Y., & Qin, B. (2015) Characterization of ploidy levels in *Chrysanthemum* L. by flow cytometry. *Journal of Forestry Research*, 26(3), 771-775. <https://doi.org/10.1007/s11676-015-0071-7>.
23. Miao, H.B., Chen, F.D., & Zhao, H.B. (2007). Genetic Relationship of 85 *Chrysanthemum* [*Dendranthema* × *Grandiflora* (Ramat.) Kitamura] Cultivars Revealed by ISSR Analysis. *Acta Horticulturae Sinica*, 34(5), 1243-1248.
24. Otto, S.P., & Whitton, J. (2000) Polyploid incidence and evolution. *Annual Review of Genetics*, 34, 401-437. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.34.1.401>.
25. Roux, N., Toloza, A., Radecki, Z., Zapata-Arias, F.J., & Dolezel, J. (2003) Rapid detection of aneuploidy in *Musa* using flow cytometry. *Plant Cell Reports*, 21(5), 483-490. <https://doi.org/10.1007/s00299-002-0512-6>.
26. Samarina, L.S., Malyarovskaya, V.I., Reim, S., Yakushina, L.G., Koninskaya, N.G., Klemeshova, K.V., Shkhalakhova, R.M., Matskiv, A.O., Shurkina, E.S., Gabueva, T.Y., Slepchenko, N.A., & Ryndin, A.V. (2021). Transferability of ISSR, SCoT and SSR Markers for *Chrysanthemum* × *Morifolium* Ramat and Genetic Relationships Among Commercial Russian Cultivars. *Plants*, 10(7), 1302. <https://doi.org/10.3390/plants10071302>. EDN: CQYZJD.
27. Srisawat, T., Pattanapanyasat, K., & Dolezel, J. (2012). Flow cytometric classification of oil palm cultivars. *African Journal of Biotechnology*, 11(16), 3713-3724. <https://doi.org/10.5897/AJB11.2958>.
28. Su, J., Jiang, J., Zhang, F., Liu, Y., Ding, L., Chen, S., & Chen, F. (2019), Current achievements and future prospects in the genetic breeding of chrysanthemum: a review. *Horticulture Research*, 6, 109. <https://doi.org/10.1038/s41438-019-0193-8>.
29. Tsukaya, H. (2002). Leaf anatomy of a rheophyte, *Dendranthema yoshinaganthum* (Asteraceae), and of hybrids between *D. yoshinaganthum* and a closely related non-rheophyte, *D. indicum*. *Journal of Plant Research*, 115(5), 329-333. <https://doi.org/10.1007/s10265-002-0041-y>. EDN: BBCZGA.
30. Van Geest, G. (2017). *Disentangling hexaploid genetics: towards DNA-informed breeding for postharvest performance in chrysanthemum* (PhD Thesis). Wageningen University, Wageningen, Netherlands. <https://doi.org/10.18174/420068>.
31. Yang, W.H., Glover, B.J., Rao, G.-Y., & Yang, J. (2006). Molecular evidence for multiple polyploidization and lineage recombination in the *Chrysanthemum indicum* polyploid complex (Asteraceae). *New Phytologist*, 171(4), 875-886. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01779.x>.
32. Zhao, H.-B., Chen, F.-D., Chen, S.-M., Wu, G.-S., & Guo, W.-M. (2010). Molecular phylogeny of *Chrysanthemum*, *Ajania* and its allies (Anthemideae, Asteraceae) as inferred from nuclear ribosomal ITS and chloroplast *trnL-F* IGS sequences. *Plant Systematics and Evolution*, 284(3/4), 153-169. <https://doi.org/10.1007/s00606-009-0242-0>.