

*Секция: Биологические науки*

**Султангазина Гульнар**

*кандидат биологических наук, доцент,  
заведующая кафедрой биологии и химии*

*Костанайский государственный университет имени А. Байтурсынова  
г. Костанай, Казахстан*

**Бейшова Индира Салтановна**

*кандидат сельскохозяйственных наук, доцент,  
заведующая отделом молекулярно-генетических исследований*

*Костанайский государственный университет имени А. Байтурсынова  
г. Костанай, Казахстан*

**Ульянов Вадим Александрович**

*докторант, научный сотрудник*

*Костанайский государственный университет имени А. Байтурсынова  
г. Костанай, Казахстан*

**Бейшов Рустем Салтанович**

*докторант*

*Костанайский государственный университет имени А. Байтурсынова  
г. Костанай, Казахстан*

**Бельтюкова Надежда Николаевна**

*кандидат биологических наук,  
доцент кафедры ботаники и генетики растений*

*ФГБУ ВО «Пермский государственный  
национальный исследовательский университет»*

*г. Пермь, Россия*

**Пришнивская Яна Викторовна**

*магистр биологии, лаборант кафедры ботаники и генетики растений*

*ФГБУ ВО «Пермский государственный*

*национальный исследовательский университет»*

*г. Пермь, Россия*

**Берсенева Юлия Николаевна**

*студент кафедры ботаники и генетики растений*

*ФГБУ ВО «Пермский государственный*

*национальный исследовательский университет»*

*г. Пермь, Россия*

## **ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ЦЕНОПОПУЛЯЦИЙ АДОНИСА ВЕСЕННЕГО (*ADONIS VERNALIS*), ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В СЕВЕРНЫХ РЕГИОНАХ КАЗАХСТАНА**

Проблема сохранения биологического разнообразия на уровне видов, сообществ и экосистем является весьма актуальной в связи с усиливающимся антропогенным воздействием на биосферу.

Северный Казахстан уникален не только по разнообразию флоры и растительности, но и по концентрации редких видов растений. Выявление и изучение флоры любой территории имеет большое значение в связи с изменениями, происходящими в окружающей среде под воздействием усиливающихся неблагоприятных факторов, в первую очередь, деятельности человека.

С целью изучения генетического разнообразия было выбрано 5 ценопопуляций *A. vernalis*, расположенных на территории Северного Казахстана.

Северо-Казахстанская область:

1 - Av1 - с. Ленинское, березово-осиновый лес, опушка

2 - Av2 - г. Петропавловск, «Мещанский лес», антропогенно нарушенный березовый лес

Акмолинская область, Бурабайский район ГУ Государственный национальный природный парк «Бурабай»:

3 - Av3 - Мирное лесничество, кв. 78, опушка березового леса

4 - Av4 - Мирное лесничество, кв. 101, опушка березового леса

5 - Av5 - Золотоборское лесничество, опушка березового леса

В каждой из отмеченных популяций были собраны листья с 30 случайно выбранных растений на расстоянии от 30 до 50 м друг от друга. Для выделения ДНК из высушенных листьев *A. vernalis* была использована модифицированная методика выделения с использованием цетилтриметил бромид аммония (ЦТАБ) [1].

Выявление генетического полиморфизма ДНК *A. vernalis* проводили ISSR-методом анализа полиморфизма ДНК с применением ПЦР. Для исследуемого вида были отобраны наиболее эффективные праймеры, дающие воспроизводимые результаты (M1, M3, M27, X11, ISSR9). Продукты амплификации разделяли путем электрофореза в агарозном геле и фотографировали в проходящем ультрафиолетовом свете. Определение длин фрагментов проводилось с использованием программы Quantity One («Bio-Rad», USA).

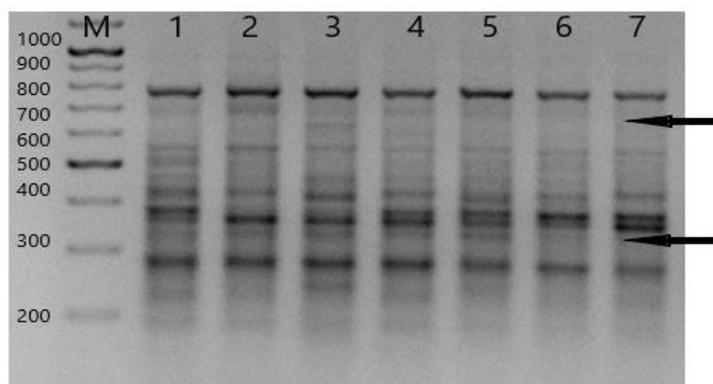
Учитывали воспроизводимые в повторных экспериментах фрагменты ДНК.

Компьютерный анализ полученных данных проведен с помощью программы POPGENE 1.31 [2] и с помощью специализированного макроса GenAlEx6 [3] для MS-Excel с определением: доли полиморфных локусов ( $P_{95}$ ) [4], абсолютного числа аллелей ( $n_a$ ), эффективного числа аллелей ( $n_e$ ), ожидаемой гетерозиготности ( $H_E$ ) [5]; индекса Шеннона ( $I$ ). Уровень

внутрипопуляционного разнообразия оценен через показатели: среднего числа морф ( $\mu$ ) и доли редких морф ( $h$ ).

При анализе было выявлено 78 фрагментов ДНК, из которых были 65 ( $P_{95}=0,833$ ) полиморфными. Число амплифицированных фрагментов ДНК в суммарной выборке растений варьировало в зависимости от праймера от 12 (ISSR9) до 19 (M1). В среднем при ISSR-анализе один праймер инициировал синтез 15,6 фрагментов ДНК. Число полиморфных фрагментов ДНК в суммарной выборке растений варьировало от 10 до 18, а их размеры – от 1700 до 1350 пн.

Доля полиморфных локусов в общей выборке в зависимости от ISSR-праймера колебался от 0,667 (X11) до 0,895 (M1) и в среднем составил 0,833. Число полиморфных фрагментов ДНК варьировало от 28 у Av4 до 45 у Av1.



**Рис. 1. ISSR-спектр ценопопуляции *A. vernalis* (Av4) с праймером M27; цифрами обозначены номера проб, M – маркер молекулярного веса, стрелками отмечены некоторые фрагменты; представлена часть спектра**

Доля полиморфных локусов ( $P_{95}$ ) в ценопопуляциях варьировала от 0,424 (Av4) до 0,714 (Av1) (таблица 2) и была достоверно ниже в четвертой ценопопуляции (Av4), расположенной в Мирном лестничестве. Ожидаемая гетерозиготность ( $H_E$ ) по локусам в общей выборке *A. vernalis* составила 0,190. В ценопопуляциях она варьировала от 0,170 в Av5 до 0,212 в Aw2 (таблица 1).

Генетическое разнообразие ценопопуляций *A. vernalis*

| Показатели | Av1              | Av2              | Av3              | Av4              | Av5              | На общую выборку |
|------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| $H_E$      | 0,200<br>(0,022) | 0,212<br>(0,022) | 0,189<br>(0,021) | 0,179<br>(0,023) | 0,170<br>(0,022) | 0,190<br>(0,002) |
| $n_a$      | 1,603<br>(0,493) | 1,654<br>(0,479) | 1,603<br>(0,493) | 1,500<br>(0,503) | 1,526<br>(0,503) | 1,897<br>(0,305) |
| $n_e$      | 1,334<br>(0,358) | 1,360<br>(0,375) | 1,308<br>(0,341) | 1,307<br>(0,371) | 1,282<br>(0,345) | 1,489<br>(0,339) |
| $P_{95}$   | 0,714            | 0,667            | 0,609            | 0,424            | 0,597            | 0,833            |
| $R$        | 0                | 1                | 1                | 2                | 1                | 5                |
| $\mu$      | 1,628            | 1,598            | 1,569            | 1,475            | 1,537            | 1,554            |
| $h$        | 0,186            | 0,201            | 0,216            | 0,262            | 0,231            | 0,219            |
| $I$        | 0,304            | 0,320            | 0,290            | 0,267            | 0,259            | 0,288            |

Примечание: в скобках даны стандартные отклонения,  $R$  – редкие фрагменты

Абсолютное число аллелей на локус ( $n_a$ ) на общую популяцию составило 1,897. Этот параметр наивысший в ценопопуляции Av2 ( $n_a=1,654$ ), в ценопопуляции Av4 он наименьший ( $n_a=1,500$ ). Эффективное число аллелей на локус ( $n_e$ ) на общую выборку равно 1,489. Большее значение  $n_e$  в ценопопуляции Av1 ( $n_e=1,360$ ), а наименьшее значение в популяции Av5 ( $n_e =1,282$ ). В изученных ценопопуляциях *A. vernalis* обнаружено 5 редких фрагментов ДНК: 2 в Av4 и по одному Av2, Av3 и Av5 (таблица 1).

У всех изученных ценопопуляций *A. vernalis* показатель  $h$  имеет значения меньше 0,3. Наиболее сбалансированной структурой разнообразия характеризуется ценопопуляция Av1 ( $h=0,186$ ), а наименее сбалансированной ( $h = 0,262$ ) – Av4. Информационный Индекс Шеннона выявил наибольшее разнообразие в ценопопуляции Av2 ( $I=0,320$ ), а наименьшее в – Av5 ( $I=0,259$ ) (таблица 1).

При анализе внутривидового разнообразия *A. vernalis* установлено, что из 5 изученных ценопопуляций большей равномерностью распределения частот аллелей характеризуется Av4 ( $\mu=1,475$ ), а наименьшей ( $\mu=1,628$ ) – Av1.

Таким образом, на основании проведенного ISSR-анализа генетического полиморфизма пяти ценопопуляций адониса весеннего Северного Казахстана можем заключить, что изученные ценопопуляции характеризуются высокими показателями генетического разнообразия. В четырех из пяти изученных ценопопуляций *A. vernalis* были обнаружены редкие фрагменты ДНК. Четвертая ценопопуляция (Av4) имеет более низкие показатели генетического разнообразия по сравнению с другими ценопопуляциями, изученными на территории Северного Казахстана. Наибольшие показатели генетического разнообразия отмечены в самых северных ценопопуляциях, расположенных в Северо-казахстанской области, ниже эти показатели в ценопопуляциях Акмолинской области.

### **Литература**

1. Rogers, S.O. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues / S.O. Rogers, A.J. Bendich // *Plant Molecular Biology*. – 1985. – Vol. 1. № 19. – P. 69-76.
2. Yeh F.C., Young R.C., Mao J. et al. POPGENE, the Microsoft Windows-based user-friendly software for population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits – Department of Renewable Resources, Univ. of Alberta, and Edmonton. Alta, 1999. – 238 p.
3. Peakall R. GenA1Ex6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research / R. Peakall, P.E. Smouse // *Mol. Ecol. Not.* – 2006. – V. 6. – P. 288-295.

4. Williams J.G.K., et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers / J.G.K. Williams et al. // Nucl. Acids Res. – 1990. – V. 18. – P. 6531-6535.
5. Nei M. Molecular evolutionary genetics. – N.Y.: Columbia Univ. press, 1987. – 512 p.