

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 (μ) 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.

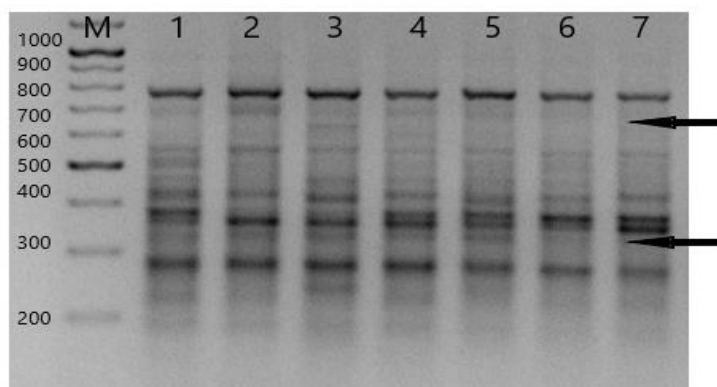


Рис. 1. ISSR-спектр ценопопуляции *A. vernalis* (Av4) с праймером M27; цифрами обозначены номера проб, М – маркер молекулярного веса, стрелками отмечены некоторые фрагменты; представлена часть спектра

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 (0,022)	0,212 (0,022)	0,189 (0,021)	0,179 (0,023)	0,170 (0,022)	0,190 (0,002)
n_a	1,603 (0,493)	1,654 (0,479)	1,603 (0,493)	1,500 (0,503)	1,526 (0,503)	1,897 (0,305)
n_e	1,334 (0,358)	1,360 (0,375)	1,308 (0,341)	1,307 (0,371)	1,282 (0,345)	1,489 (0,339)
P_{95}	0,714	0,667	0,609	0,424	0,597	0,833
R	0	1	1	2	1	5
μ	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.