

Министерство образования Республики Беларусь  
Белорусский государственный университет  
Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН  
Беларуси  
Центральный ботанический сад НАН Беларуси

**АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ  
ИЗУЧЕНИЯ И СОХРАНЕНИЯ  
ФИТО- И МИКОБИОТЫ**

**Modern problems in botanical and  
mycological research**

Сборник статей

II-й международной научно-практической конференции

(12-14 ноября 2013 г., Минск)

Минск

2013

УДК 581(082)

ББК 28.5я43

А43

**Редакционная коллегия:**

канд. биол. наук, декан биологич. ф-та БГУ *В. В. Лысак*; канд. с/х наук, зав. каф. ботаники БГУ *В. Д. Поликсенова* (отв. редактор); д-р биол. наук, акад. НАН Беларуси *В. И. Парфенов*; д-р биол. наук, акад. НАН Беларуси *Н.А. Ламан*; д-р биол. наук, акад. НАН Беларуси *В. Н. Решетников*; д-р биол. наук *В. В. Титок*; д-р биол. наук *В. В. Карпук*; д-р биол. наук *Т. М. Михеева*; канд. биол. наук *Вал. Н. Тихомиров* (отв. секретарь); канд. биол. наук *А. В. Пугачевский*; канд. биол. наук *М. А. Джус*; канд. биол. наук *Н. А. Лемеза*; канд. биол. наук *Т. А. Сауткина*; канд. биол. наук *А. К. Храпцов*; канд. биол. наук *В. В. Черник*

А43

**Актуальные** проблемы изучения и сохранения фито- и микобиоты = *Modern problems in botanical and mycological research* : сб. ст. II-й междунар. науч.-практ. конф., Минск, 12–14 ноября 2013 г. – Минск: Изд. центр БГУ, 2013. – 467 с.

ISBN 978-985-553-158-7.

В сборник включены статьи, в которых рассмотрены современное состояние и перспективы исследований по систематике, географии, экологии растений и грибов, взаимоотношениям между растениями и их паразитами, генетике, физиологии и биохимии растений, а также вопросы подготовки ботанических кадров.

Сборник адресован научным сотрудникам, преподавателям высших и средних специальных учебных заведений, аспирантам и студентам старших курсов профильных специальностей.

**УДК 581(082)**

**ББК 28.5я43**

**ISBN 978-985-553-158-7**

© Оформление. РУП «Издательский центр БГУ», 2013

**ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ISSR-МАРКИРОВАНИЯ В  
ИЗУЧЕНИИ НЕКОТОРЫХ РЕДКИХ РАСТЕНИЙ**

Дзюбан О. В.<sup>1</sup>, Грушецкая З. Е.<sup>1,2</sup>, Лебедевко В. Н.<sup>3</sup>, Тихомиров В. Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Белорусский государственный университет, г. Минск  
olja-dz@mail.ru; tikhomirov\_v\_n@list.ru

<sup>2</sup> Институт цитологии и генетики НАН РБ, Минск  
grushetskaya@gmail.com

<sup>3</sup> Институт экспериментальной ботаники НАН РБ, Минск.

Многие виды охраняемых на территории Беларуси растений являются сложными комплексами внутри- и надвидовых таксонов. Изучение этих видов на молекулярно-генетическом уровне позволит решить главную проблему в поддержании биоразнообразия - отбор наиболее типичных представителей популяций и создание генетически обоснованных программ по их сохранению, а также стать решающим аргументом для таксономической дифференциации объектов исследования.

Многие охраняемые растения (*Pulsatilla pratensis* s.l., *Cotoneaster melanocarpus* s.l., *Prunus spinosa* s.l., *Trapa natans* s.l., *Gentianella amarella* s.l., *Allium ursinum* s.l., *Gymnadenia conopsea* s.l. и др.) относятся к группам, в которых на сегодняшний день весьма активно протекают эволюционные процессы. Определить ранг спорных таксонов, какими являются некоторые из видов растений Красной Книги, а также оценить генетический потенциал и его роль в формировании устойчивости современных популяций редких растений позволяет ISSR-анализ.

Нами был выбран ISSR-анализ как один из наиболее доступных, быстрых, воспроизводимых и не требующих использования радиоактивных меток. Амплифицированные продукты обычно составляют 200 – 2000 п.н. и могут быть выявлены с использованием как агарозного, так и полиакриламидного электрофореза. [5]

Метод ISSR-анализа позволяет проводить филогенетические исследования с помощью различных статистических подходов. Он находит применение в селекционной практике, в исследованиях по систематике и происхождению популяций, сортов, видов, при восстановлении исче-

зающих сортов и видов и сохранении их генетического разнообразия, в судебной экспертизе.[1]

Цель нашей работы - исследование популяционно-генетического разнообразия некоторых редких и исчезающих растений Беларуси с помощью ISSR-маркеров. Предварительные исследования были проведены на *Polypodium vulgare*. Для анализа использовали 7 декамерных ISSR-праймеров (ОДО «Праймтех»), которые давали максимальное число фрагментов амплификации, и индивидуальные растения из пяти популяций. Выделение ДНК и ISSR-ПЦР проводили согласно общепринятым методикам. В результате ISSR-анализа коллекции папоротников *Polypodium vulgare* был получен 21 полиморфный продукт амплификации. Количество информативных амплифицируемых фрагментов в зависимости от праймера колебалось от 2 до 9, их размеры варьировали от 250 до 1600 пн. Уровень полиморфизма для всех образцов коллекции составлял до 100% (в среднем 68, 5%). Степень полиморфизма, превышающая 20%, говорит о межвидовом характере полиморфизма исследуемых растений, что подтверждается также и морфологическими данными. Так, многоножки характеризовались различной формой вайи, различной степенью заостренности отдельных листочков (от длинных вытянутых до затупленных), различным количеством клеток кольца спорангия (9-12). Было отмечено несколько признаков у исследуемых папоротников, сближающих их с *Polypodium interjectum*, широко распространенным в соседних государствах.

Показано, что ISSR-маркеры являются стабильными и четко воспроизводимыми и позволяют выявить высокий уровень полиморфизма, который может служить основой для идентификации генотипов *P. vulgare*.

Работа по оценке молекулярно-генетического полиморфизма, а также по тестированию видовой обособленности неясных в систематическом отношении некоторых редких таксонов растений Беларуси с помощью ISSR-маркеров продолжается и поддержана грантом от БРФФИ № Б13-124.

Планируется провести внутри- и межпопуляционный ISSR-анализ для *Pteridium aquilinum* (L.) kuhn, *Pulsatilla pratensis* s.l., *Allium ursinum* s.l., *Gymnadenia conopsea* s.l.

Согласно предварительным морфологическим исследованиям и литературным данным, эти виды являются высокополиморфными, малоизученными, и ряд авторов рассматривает известные подвиды этих растений в качестве самостоятельных видов.

Так, на протяжении довольно длительного периода род *Pteridium* считали монотипным, включающим 1 широко распространенный вид –

*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn. В пределах рода на территории Беларуси, в настоящее время, рассматривается 2 таксона в ранге самостоятельных видов: *Pteridium pinetorum* C.N. Page et Mill. и *Pteridium aquilinum* s. str. Первый из них распространен по всей территории республики и встречается очень часто. Вторым видом – *Pteridium aquilinum* (до 2,5 м высотой; молодые листья (в состоянии улитки) опушены беловатыми волосками с незначительной примесью коричневых волосков; пластинки листьев почти не отклоненные от прямостоячих черешков, от яйцевидных до широкояйцевидных, (30)70-110(150) см дл. и (50)60-80(110) см шир. [2-3]), является очень редким, мало изученным видом.

*Pulsatilla pratensis* s.l. - Европейский вид, находящийся в Беларуси на восточной границе ареала. В Европе встречается 4 подвида прострела лугового, которые многими учеными рассматриваются в качестве самостоятельных видов. Из них два: *P. pratensis* subsp. *pratensis* и *P. pratensis* subsp. *bohemica* Skalický (листочки околоцветника снаружи лиловые, густо шелковисто-волосистые, с внутренней стороны черно-фиолетовые) – указываются для флоры Беларуси [4] и рассматриваются при этом в ранге самостоятельных видов. Распространение, морфологическая и генетическая дифференциация этих видов детально в Беларуси не изучалась.

В связи с возникшей ситуацией становится необходимой таксономическая ревизия родов некоторых редких и исчезающих растений. Причем использование молекулярно-генетических маркеров является необходимым звеном в построении объективной системы. Одновременно с этим, молекулярно-генетический анализ перспективен для выявления состояния генофонда популяций конкретных видов и разработке рекомендаций по их охране.

1. Перспективы и проблемы использования межмикросателлитных ДНК-маркеров (ISSR-маркеров) в систематике и оценке генетического разнообразия domesticiрованных видов животных / Сулимова Г. Е. и др. // Молекулярно-генетические подходы в таксономии и экологии: тезисы докладов научной конференции. Ростов н/Д, 2013. 128 с.

2. Флора СССР: Т. 1. / под ред. В.Л. Комарова. – Л., 1934.

3. Флора Беларуси. Сосудистые растения: Т. 1 / под общей ред. В.И. Парфенова. Минск, 2009.

4. Цвелев, Н. Н. Прострел – *Pulsatilla* Mill. // Флора Восточной Европы, Том 10. М., 2001. С. 85-94.

5. Semagn K., Bjornstad A., Ndjiondjop M. N. An overview of molecular markers for plants // African Journal of Biotechnology. 2006. Vol. 5 (25). P. 2540-2568.