

УДК 502.174:574.1(082)

ББК 20.18я43

С56

Редакционная коллегия:

*В. В. Титок*, чл.-кор. НАН Беларуси (главный редактор);

*О. В. Созинов*;

*И. К. Володько*;

*Л. В. Гончарова*;

*П. Н. Бельй*;

*А. В. Кручонок*

*Материалы изданы в авторской редакции.*

*Иллюстрации предоставлены авторами публикаций.*

С56      **Современные** концепции и практические методы сохранения фиторазнообразия : материалы Международного научно-практического семинара (1-4 октября 2019, Минск-Гродно, Беларусь) / Национальная академия наук Беларуси, Центральный ботанический сад, Гродненский государственный университет имени Янки Купалы; ред. кол.: В. В. Титок (главный редактор) [и др.]. — Минск : Колорград, 2019. — 150 с.  
ISBN 978-985-596-427-9.

**УДК 502.174:574.1(082)**

**ББК 20.18я43**

**ISBN 978-985-596-427-9**

© Центральный ботанический сад, 2019

© Оформление. ООО «Колорград», 2019

## Анализ межвидовой и внутривидовой изменчивости по результатам молекулярно-генетических экспериментов на примере рода *Anthyllis* (Fabaceae).

Ярмишин А. А.<sup>1</sup>, Сидор Л. С.<sup>1</sup>, Джус М. А.<sup>2</sup>, Аношенко Б. Ю.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Беларусь,

B.Anoshenko@cbg.org.by

<sup>2</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

**Резюме.** В результате анализа межвидовой и внутривидовой изменчивости на примере образцов рода *Anthyllis* установлено: достоверный эффект межвидовых различий по молекулярным маркерам с использованием анализа молекулярной дисперсии (AMOVA); отсутствие достоверных различий внутривидовой (популяционной) изменчивости у изученных видов с использованием традиционного дисперсионного анализа (ANOVA); невысокий, но достоверный уровень различий в межвидовой изменчивости у изученных видов с использованием традиционного дисперсионного анализа (ANOVA); внутривидовая (популяционная) изменчивость значительно превышает внутривидовой уровень и составляет 77.3 % и 22.7 % соответственно.

**Summary.** Yarmishin A. A., Sidor L. S., Dzhus M. A., Anoshenko B. Yu. **Analysis of interspecific and intraspecific variation in molecular genetic research using genera *Anthyllis* (Fabaceae) as a case study.** The analysis of interspecific and intraspecific variation allow the following conclusions to be provided: significant effect of interspecific differences of molecular markers using analysis of molecular variance (AMOVA); absence of significant differences in intraspecific variation of species studied based on the results of traditional ANOVA; low but significant level of interspecific variation based on the results of traditional ANOVA; intraspecific (population) variation (77.3 %) significantly greater than interspecific one (22.7 %).

Анализ межвидовой и внутривидовой изменчивости является важной составляющей генетико-популяционных и ботанико-таксономических исследований. В традиционных исследованиях такой анализ проводится с использованием дисперсионного анализа (ANOVA). В молекулярно-генетических экспериментах (анализ различий ДНК) такой подход невозможен, т. к. используются не величины проявления признака, а различия (расстояния) между изучаемыми объектами. Для этой цели Laurent Excoffier, Peter Smouse и Joseph Quattro в 1992 предложили иную статистическую модель, названную AMOVA (Analysis of Molecular Variance), позволяющую, как традиционный однофакторный дисперсионный анализ, оценить внутри- и межгрупповую изменчивость матрицы различий (рас-

стояний), полученную на основе молекулярно-генетических данных.

Целью данного исследования было провести изучение использования методов ANOVA и AMOVA в оценке межвидовой и внутривидовой изменчивости матрицы расстояний, полученной на основе молекулярно-генетических данных.

Материалом для исследований служили 35 гербарных образцов различных популяций и видов растений рода *Anthyllis* и 12 образцов представителей других родов семейства *Fabaceae* (*Leguminosae*) (табл. 1). Навеску листьев 15–20 мг измельчали на гомогенизаторе TissueLyser LT (Qiagen, Германия) с помощью стальных шариков. К измельченному материалу добавляли лизирующий буфер AP1 (400 мкл) и 4 мкл РНКазы (Rnase A) из набора Dneasy Plant Mini Kit (Qiagen, Германия) и даль-

нейшее выделение проводили согласно инструкции к набору. Измерение концентрации ДНК и оценку чистоты

выделенных образцов проводили на спектрофотометре NanoPhotometr P-330 (Implen, Германия).

Таблица 1. Использованные в исследовании виды рода *Anthyllis* и количество их популяций

| Вид   | кол-во популяций |
|---|------------------|
| 1. <i>Anthyllis arenaria</i> (Rupr.) Juz.             | 3                |
| 2. <i>Anthyllis baltica</i> Klotzsch.                 | 4                |
| 3. <i>Anthyllis carpatica</i> Pantol.                 | 1                |
| 4. <i>Anthyllis colorata</i> Juz.                     | 3                |
| 5. <i>Anthyllis macrocephala</i> Wender.              | 4                |
| 6. <i>Anthyllis polyphyloides</i> Juz.                | 4                |
| 8. <i>Anthyllis schiwereckii</i> (DC.) Błocki         | 5                |
| 9. <i>Anthyllis vulneraria</i> L. S.str.              | 2                |
| 10. <i>Anthyllis vulneraria</i> × <i>schiwereckii</i> | 2                |

Для оценки уровня генетического разнообразия семейства *Fabaceae* были использованы виды *Astragalus glycyphyllos* L., *Albizia julibrissin* Durazz., *Caragana arborescens* Lam., *Cercis sili-*

*quastrum* L., *Genista tinctoria* L., *Gleditsia triacanthos* L., *Glycine max* (L.) Merr., *Lathyrus sylvestris* L., *Lotus corniculatus* L., *Lupinus polyphyllus* Lindl., *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi, *Vicia cracca* L.

Таблица 2. Адаптеры и праймеры EcoRI и MseI, использованные для предварительной и селективной амплификации

| №  | Адаптер/праймер | Нуклеотидная последовательность (5'→3') |
|--|-----------------|---|
| <b>Адаптеры</b>                                  |                 |   |
| 1  | E-адаптер 1     | CTCGTAGACTGCGTACC                       |
| 2  | E-адаптер 2     | AATGGTACGCAGTCTAC                       |
| 3  | M-адаптер 1     | GACGATGAGTCCTGAG                        |
| 4  | M-адаптер 2     | TACTCAGGACTCAT                          |
| <b>Праймеры для предварительной амплификации</b> |                 |   |
| 5  | E_pre           | GACTGCGTACCAATCA                        |
| 6  | M_pre           | GATGAGTCCTGAGTAAC                       |
| <b>Праймеры для селективной амплификации</b>     |                 |   |
| 7  | M-CAA           | GATGAGTCCTGAGTAACA <b>AA</b>            |
| 8  | M-CAC           | GATGAGTCCTGAGTAACA <b>AC</b>            |
| 9  | M-CAG           | GATGAGTCCTGAGTAACA <b>AG</b>            |
| 10   | M-CAT           | GATGAGTCCTGAGTAACA <b>AT</b>            |
| 11   | E-AAC           | GACTGCGTACCAATCA <b>AC</b>              |
| 12   | E-AAG           | GACTGCGTACCAATCA <b>AG</b>              |
| 13   | E-ACA           | GACTGCGTACCAATCA <b>CA</b>              |
| 14   | E-ACC           | GACTGCGTACCAATCA <b>CC</b>              |

AFLP-анализ проводили по стандартной схеме (Vos et al., 1995). Для фрагментации ДНК (200 нг) использовали две рестриктазы EcoRI и MseI (Thermo Scientific) с последующим ли-

гированием полученных фрагментов с соответствующими адаптерами. Полимеразную цепную реакцию проводили в амплификаторе C1000 Touch™ Thermal Cycler (BioRad, США). AFLP-

праймеры для преамплификации содержали один селективирующий нуклеотид. Для селективной амплификации использовали 8 пар универсальных праймеров с тремя дополнительными нуклеотидами на 3'-конце (табл. 2). Кроме того, EcoRI-праймеры на 5'-конце содержали флуоресцентную метку Ву5. Анализ полученных ДНК-фрагментов осуществляли с помощью системы генетического анализа GenomeLab GeXP (Beckman Coulter, США).

Статистический анализ был проведен: расчет генетических расстояний, метод главных компонент и AMOVA – с использованием программы GenAlEx версии 6.503 (Peakall and Smouse 2012); кластерный анализ – Trex-online (<http://www.trex.uqam.ca/>); ANOVA – пакета программ AB-Stat (Анощенко 1995).

Проведенный анализ по 7 комбинациям праймеров выявил 970 фрагментов в целом для образцов семейства *Fabaceae* и 366 фрагментов для образцов рода *Anthyllis* в частности. Распределение полиморфности фрагментов для различных комбинаций праймеров представлено в таблице 3. В целом большинство выявленных фрагментов были высоко полиморфны. Для большинства комбинаций праймеров выяв-

лены специфические для рода *Anthyllis* фрагменты, которые не встречались у представителей других проанализированных родов.

Кластерный анализ по каждой комбинации праймеров выявил примерно одинаковый характер группировки изученных образцов: образцы рода *Anthyllis* группировались в 2–3 отдельные от остальных образцов семейства *Fabaceae* группы. Совокупный анализ по всем комбинациям праймеров представлен на рисунке 1. В целом образцы рода *Anthyllis* формировали две группы: в основе первой группы находились виды *A. Vulneraria* и *A. Schiwereckii*, основу второй группы составляли виды *A. Macrocephala* и *A. Polyphyloides*. Остальные виды и гибриды распределялись в основном во второй группе неравномерно и не создавали отдельных групп или подгрупп. В целом лишь *A. Vulneraria*, *A. Schiwereckii* и *A. Macrocephala* формировали сравнительно близкие группы, однако и в этих случаях межпопуляционные различия были значительны. Сходные результаты были получены Kalinowski et al. (1983a, 1983b) с использованием изоферментного анализа и Nanni et al. (2005) и Köster et al. (2008) с использованием молекулярных ДНК-маркеров.

Таблица 3. Распределение фрагментов по степени полиморфности у образцов семейства *Fabaceae* и образцов рода *Anthyllis*, в частности, для 7 комбинаций AFLP-праймеров.

| Комбинация праймеров | семейство <i>Fabaceae</i> |   |             |             |             |             | род <i>Anthyllis</i> |   |             |            |             |             |
|----------------------|---------------------------|---|-------------|-------------|-------------|-------------|----------------------|---|-------------|------------|-------------|-------------|
|                      | всего фрагментов          | частота фрагментов по степени полиморфности |             |             |             |             | всего фрагментов     | частота фрагментов по степени полиморфности |             |            |             |             |
|                      |                           | 0   | 0.2         | 0.3         | 0.4         | 0.5         |                      | 0   | 0.2         | 0.3        | 0.4         | 0.5         |
| 7–11                 | 171                       | 0   | 0.19        | 0.15        | 0.09        | 0.57        | 71                   | 0   | 0.39        | 0.11       | 0.18        | 0.31        |
| 7–12                 | 154                       | 0   | 0.22        | 0.16        | 0.02        | 0.42        | 56                   | 0.09  | 0           | 0.38       | 0.07        | 0.46        |
| 7–14                 | 144                       | 0   | 0.23        | 0.21        | 0.17        | 0.39        | 41                   | 0.12  | 0           | 0.24       | 0.12        | 0.51        |
| 8–11                 | 124                       | 0   | 0.29        | 0.26        | 0.12        | 0.33        | 36                   | 0.08  | 0           | 0.47       | 0           | 0.44        |
| 8–13                 | 149                       | 0   | 0.28        | 0.19        | 0.14        | 0.40        | 69                   | 0   | 0           | 0.36       | 0.06        | 0.58        |
| 9–14                 | 80                        | 0   | 0           | 0.49        | 0.21        | 0.28        | 45                   | 0.02  | 0           | 0.47       | 0.22        | 0.29        |
| 10–11                | 148                       | 0   | 0.26        | 0.20        | 0.14        | 0.41        | 48                   | 0.1   | 0           | 0.19       | 0.15        | 0.56        |
| <b>Всего</b>         | <b>970</b>                | <b>0</b>                                    | <b>0.22</b> | <b>0.22</b> | <b>0.15</b> | <b>0.41</b> | <b>366</b>           | <b>0.05</b>                                 | <b>0.08</b> | <b>0.3</b> | <b>0.12</b> | <b>0.45</b> |

Дендрограмма кластерного анализа не отражает в достаточной мере распределение исследованных образцов в многомерном пространстве. Более детальную картину можно получить с использованием метода главных компонент (principal component analysis (PCA)). Распределение исследованных образцов на первых двух главных компонентах, охватывающих 37.3 % дисперсии, представлено на рисунке 2. Очевидно, что у изученных образцов изменчивость внутри рода *Anthyllis* значительно меньше изменчивости между родами семейства *Fabaceae* (рис 2a). Среднее генетическое расстояние между исследованными родами семейства *Fabaceae* равно 48.5, а среднее расстояние внутри рода *Anthyllis* равно 12.3, следовательно, доля изменчивости рода *Anthyllis* составляет 25.3 % от общей изменчивости изученных родов семейства *Fabaceae*.

В тоже время межвидовая и внутривидовая изменчивость внутри рода *Anthyllis* не так однозначна (рис 2b). Проведенный анализ молекулярной вариации (AMOVA) выявил достоверное влияние межвидовых различий по 4 из 7 комбинациям праймеров и в общем по всем комбинациям (табл. 4).

Доля межвидовых различий колебалась от 4 до 31 % и в общем составила 20.3 %. Внутривидовая (популяционная) изменчивость рода *Anthyllis* значительно превышает межвидовую, и ее доля составляет 79.7 %. Это и определяет полученный характер классификации (кластеризации) образцов данного рода без четких видовых групп.

Для более детального анализа внутривидовой изменчивости у 8 видов рода *Anthyllis* были использованы средние внутривидовые генетические расстояния (табл. 5). В подавляющем большинстве случаев выявлено отсутствие достоверных различий между видами по внутривидовой изменчивости (между средними внутривидовыми генетическими расстояниями) для всех комбинаций праймеров. Проведенный дисперсионный анализ подтвердил отсутствие достоверных различий между видами по уровню внутривидовой изменчивости (табл. 6). Достоверным выявлено только различие между используемыми комбинациями праймеров, что является ожидаемым, т. к. различные комбинации праймеров выявляют различия в разных районах генома и в различной степени.

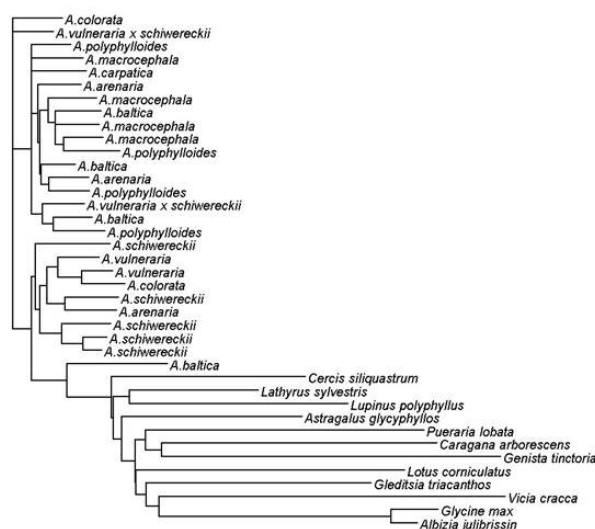


Рисунок 1. Дендрограмма кластерного анализа изученных образцов семейства *Fabaceae*.

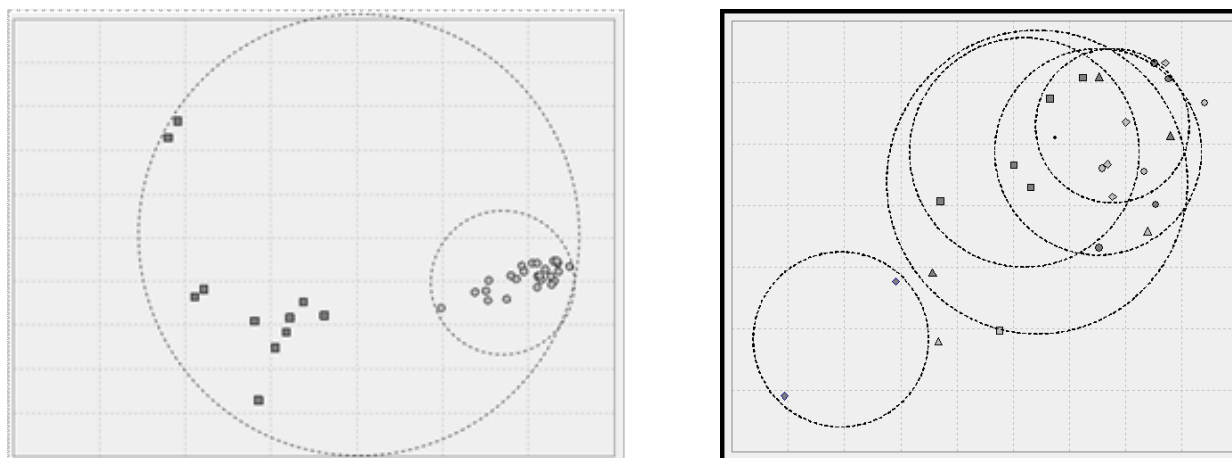


Рисунок 2. Распределение на первых двух главных компонентах образцов семейства *Fabaceae* (a) и, более детально, образцов рода *Anthyllis* (b).

Таблица 4. Результаты анализа молекулярной варiances (AMOVA) образцов рода *Anthyllis* для 7 комбинаций AFLP-праймеров.

| Комбинация праймеров     | df       |           | MS          |             | Es.Var      |             | Доля в вариации | PhiPT          |
|--------------------------|----------|-----------|-------------|-------------|-------------|-------------|-----------------|----------------|
|                          | sp       | pop       | sp          | pop         | sp          | pop         |                 |                |
| 7-11                     | 6        | 16        | 15.16       | 7.04        | 2.51        | 7.04        | 0.26            | 0.263**        |
| 7-12                     | 5        | 15        | 7.15        | 5.59        | 0.45        | 5.59        | 0.08            | 0.075          |
| 7-14                     | 6        | 16        | 4.98        | 4.38        | 0.19        | 4.38        | 0.04            | 0.041          |
| 8-11                     | 5        | 14        | 4.33        | 3.46        | 0.27        | 3.46        | 0.07            | 0.072          |
| 8-13                     | 6        | 16        | 16.49       | 6.74        | 3.00        | 6.74        | 0.31            | 0.308**        |
| 9-14                     | 6        | 18        | 4.97        | 3.24        | 0.49        | 3.24        | 0.13            | 0.132**        |
| 10-11                    | 6        | 16        | 8.98        | 4.93        | 1.25        | 4.93        | 0.20            | 0.203**        |
| <b>по всем праймерам</b> | <b>6</b> | <b>17</b> | <b>8.98</b> | <b>4.93</b> | <b>1.25</b> | <b>4.93</b> | <b>0.203</b>    | <b>0.215**</b> |

Примечание: \*\* – достоверно при уровне значимости ( $P < 0.01$ ), sp – между видами, pop – внутри видов.

Таблица 5. Внутривидовая изменчивость (внутривидовые генетические расстояния) у 8 видов рода *Anthyllis* для 7 комбинаций AFLP-праймеров.

| Образец                                  | комбинация праймеров |              |             |             |              |             |              | среднее по виду |
|--|----------------------|--------------|-------------|-------------|--------------|-------------|--------------|-----------------|
|  | 7-11                 | 7-12         | 7-14        | 8-11        | 8-13         | 9-14        | 10-11        |                 |
| <i>A.vulneraria</i>                      | 10.00                | 7.00         | 7.00        |             | 9.00         |             | 8.00         | <b>8.20</b>     |
| <i>A.schiwerekii</i>                     | 14.80                | 8.80         | 8.40        | 5.60        | 10.50        | 3.20        | 9.00         | <b>8.61</b>     |
| <i>A.arenaria</i>                        | 17.33                | 9.33         | 9.33        | 7.00        | 21.33        | 6.00        | 11.33        | <b>11.66</b>    |
| <i>A.macrocephala</i>                    | 15.00                | 8.67         | 9.67        | 5.33        | 6.83         | 8.00        | 8.00         | <b>8.79</b>     |
| <i>A.colorata</i>                        |                      |              |             |             |              | 15.33       |              | <b>15.33</b>    |
| <i>A.baltica</i>                         | 10.67                | 17.17        | 8.67        | 9.83        | 14.67        | 7.17        | 10.00        | <b>11.17</b>    |
| <i>A.polyphyloides</i>                   | 13.33                | 14.67        | 9.17        | 10.00       | 9.50         | 4.17        | 11.67        | <b>10.36</b>    |
| <i>A.vulneraria</i> × <i>schiwerekii</i> | 15.00                |              | 7.00        | 2.00        | 10.00        | 3.00        | 12.00        | <b>8.17</b>     |
| среднее по комбинации                    | <b>13.73</b>         | <b>10.94</b> | <b>8.46</b> | <b>6.63</b> | <b>11.69</b> | <b>6.70</b> | <b>10.00</b> |                 |

Таблица 6. Результаты дисперсионного анализа внутривидовой изменчивости у рода *Anthyllis* для 7 комбинаций AFLP-праймеров.

| Источник вариации    | число степеней свободы | сумма квадратов | средний квадрат | F-критерий |
|----------------------|------------------------|-----------------|-----------------|------------|
| между видами         | 6                      | 84.52           | 14.09           | 1.71       |
| между праймерами     | 6                      | 337.23          | 56.21           | 6.84**     |
| случайные отклонения | 33                     | 271.30          | 8.22            |            |
| Общая вариация       | 45                     | 693.06          | 15.40           |            |

Примечание: \*\* – достоверно при уровне значимости ( $P < 0.01$ ).

Средние межвидовые генетические расстояния у всех изученных образцов превышали среднее внутривидовое расстояние для всех комбинаций праймеров, что указывает на определенный уровень межвидовой изменчивости. Для анализа межвидовой изменчивости рода *Anthyllis* были использованы различия между средними генетическими расстояниями между видами и внутри вида. Чем больше различие между видами по сравнению с внутривидовым разнообразием, тем данный показатель больше нуля. Его достоверность можно оценить по наименьшей существенной разнице (Least Significant Difference (LSD)) от нуля. Полученные результаты представлены в таблице 7.

Уровень межвидовой изменчивости для ряда видов был значительный и превышал наименьшую существенную разницу. Однако уровень этой межвидовой изменчивости существенно различен для разных видов. Межвидовые различия у видов *A. Vulneraria*, *A. Schiwereckii* и *A. Macrocephala* существенны и достоверны. Уровень межвидовой изменчивости у видов *A. Arenaria*, *A. Colorata*, *A. Baltica* и *A. Polyphyloides* сопоставим с их уровнем внутривидовой изменчивости. Гибрид между *A. vulneraria* и *A. schiwereckii* имеет достоверные межвидовые различия, но уровень их невысок.

Таблица 7. Межвидовая изменчивость у 8 видов рода *Anthyllis* для 7 комбинаций AFLP-праймеров.

| Образец                                       | комбинация праймеров |             |             |             |             |             |             | среднее по виду |
|---|----------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-----------------|
|   | 7-11                 | 7-12        | 7-14        | 8-11        | 8-13        | 9-14        | 10-11       |                 |
| <i>A. vulneraria</i>                          | 9.45                 | 4.87        | 2.44        |             | 11.77       |             | 6.58        | <b>7.02</b>     |
| <i>A. schiwereckii</i>                        | 10.59                | 1.69        | 1.54        | 3.30        | 13.81       | 3.43        | 6.25        | <b>5.80</b>     |
| <i>A. arenaria</i>                            | 0.86                 | 1.47        | 0.16        | 0.52        | -3.33       | 0.80        | 0.23        | 0.10            |
| <i>A. macrocephala</i>                        | 4.95                 | 2.38        | 0.15        | 2.59        | 8.47        | 0.90        | 3.50        | <b>3.28</b>     |
| <i>A. colorata</i>                            |                      |             |             |             |             | -2.28       |             |                 |
| <i>A. baltica</i>                             | 6.17                 | -4.12       | 0.75        | -0.28       | 3.33        | 0.51        | 1.67        | 1.15            |
| <i>A. polyphyloides</i>                       | 5.84                 | -2.77       | 0.96        | -0.08       | 5.99        | 2.32        | 1.15        | 1.92            |
| <i>A. vulneraria</i> × <i>A. schiwereckii</i> | 2.25                 |             | 1.44        | 4.81        | 4.54        | 2.90        | 0.21        | <b>2.69</b>     |
| LSD <sub>05</sub>                             | 4.59                 | 8.49        | 2.55        | 3.34        | 4.09        | 2.02        | 2.74        | 2.47            |
| среднее по комбинации                         | <b>5.73</b>          | <b>0.59</b> | <b>1.06</b> | <b>1.81</b> | <b>6.37</b> | <b>1.23</b> | <b>2.80</b> | <b>2.86</b>     |

Примечание: жирным шрифтом выделены значения, достоверно ( $P < 0.05$ ) превышающие межвидовую изменчивость над внутривидовой.

Таблица 8. Результаты дисперсионного анализа межвидовой изменчивости у рода *Anthyllis* для 7 комбинаций AFLP-праймеров.

| Источник вариации    | df | SS     | MS    | F-критерий |
|----------------------|----|--------|-------|------------|
| между видами         | 6  | 228.01 | 38.00 | 7.13**     |
| между праймерами     | 6  | 210.11 | 35.02 | 6.57**     |
| случайные отклонения | 33 | 175.99 | 5.33  |            |
| общая вариация       | 45 | 614.12 | 13.65 |            |

Примечание: \*\* – достоверно при уровне значимости ( $P < 0.01$ ).

Проведенный дисперсионный анализ выявил достоверное различие в межвидовой изменчивости у изученных видов рода *Anthyllis* (табл. 8), т. е. изученные виды достоверно различаются по уровню межвидовых генетических расстояний. Среднее значение превышения межвидовой изменчивости (генетических расстояний) над внутривидовой составило 2.86 и достоверно (при  $P < 0.05$ ) отличалось от нуля.

Проведенный анализ позволил выявить, что у 39 изученных образцов семейства *Fabaceae* генетическая изменчивость (среднее межвидовое генетическое расстояние) составила 48.5, а у образцов рода *Anthyllis* составила 12.3, или 25.3 %. У изученных 28 образцов рода *Anthyllis* изменчивость между видами составила 2.87 (22.7 %), а изменчивость внутри вида (популяционная) – 9.78 (77.3 %) (рис. 3). Результаты анализа молекулярной варiances (AMOVA) показали схожие результаты: 21.5 % и 78.5 % соответственно. Результаты дисперсионного анализа не выявили достоверных различий внутривидовой (популяционной) изменчивости у образцов рода *Anthyllis*. В то же время установлены достоверные различия в их межвидовой изменчивости, хотя уровень этой изменчивости значительно ниже внутривидовой. Это дает основание для дальнейшего изучения генетических и ботанических особенностей рода *Anthyllis* и, возможно, изменения его систематики и таксономии.

Таким образом, в результате анализа межвидовой и внутривидовой из-

менчивости образцов рода *Anthyllis* установлено:

- достоверный эффект межвидовых различий по молекулярным маркерам с использованием анализа молекулярной варiances (AMOVA);
- отсутствие достоверных различий внутривидовой (популяционной) изменчивости у изученных видов с использованием традиционного дисперсионного анализа (ANOVA);
- невысокий, но достоверный уровень различий в межвидовой изменчивости у изученных видов с использованием традиционного дисперсионного анализа (ANOVA);
- внутривидовая (популяционная) изменчивость значительно превышает внутривидовой уровень и составляет 77.3 % и 22.7 % соответственно.

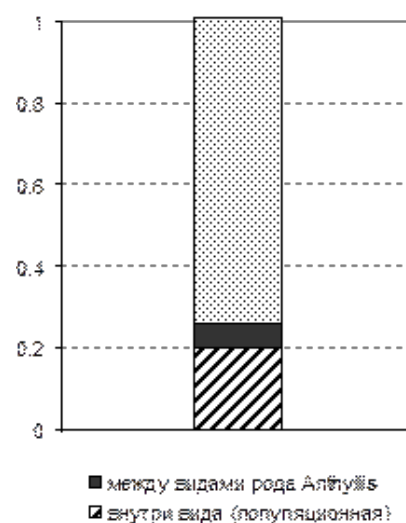


Рисунок 3. Уровни межвидовой и внутривидовой изменчивости у образцов рода *Anthyllis* в общей изменчивости изученных образцов семейства *Fabaceae*



## Список литературы

1. Excoffier, L; Smouse, Pe; Quattro, Jm (Jun 1992). "Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data". *Genetics*. 131 (2): 479–91.
2. Kalinowski A., Szweykowski J., Kaczmarek Z., Analysis of the variability of natural *Anthyllis vulneraria* s. l. populations from Baltic coast. Patterns of three enzyme systems following electrophoretic separation, *Bulletin de la Societe des Amis des Sciences et des Lettres*, 1983a, 23, 67–78.
3. Kalinowski A., Szweykowski J., Kaczmarek Z., Analysis of the variability of natural *Anthyllis vulneraria* s. l. populations from Baltic coast. Patterns of esterases following separation by isoelectrofocusing and general analysis of variation of enzymatic system, *Bulletin de la Societe des Amis des Sciences et des Lettres*, 1983b, 23, 79–89.
4. Köster E., Bitocchi E., Papa R., Pihu S., Genetic structure of the *Anthyllis vulneraria* L. s. l. species complex in Estonia based on AFLPs, *Cent. Eur. J. Biol.*, 3(4), 2008, 442–450.
5. Nanni L., Ferradini N., Taffetani N., Papa R., Molecular Phylogeny of *Anthyllis* spp, *Plant Biol.*, 2005, 6, 454–464.
6. Peakall, R. and Smouse P. E. (2012) GenAEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics* 28, 2537–2539.
7. Vos P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. van de Lee, M. Homes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper, M. Zabeau AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. // *Nucleic Acids Research*. – 1995. V.23. – P. 4407–4414.
8. Аношенко Б. Ю. Программы анализа и оптимизации селекционного процесса растений. Материалы 1-ого съезда Вавиловского общества генетиков и селекционеров (Саратов, 20–25 декабря 1994 г.). *Генетика*, Т30 (приложение) с. 8–9.