

УДК 575.11.113:854.78

А. Є. СОЛОДЕНКО<sup>1</sup>, к. б. н., пров. наук. співроб.,

Г. Т. ГРЕВЦОВА<sup>2</sup>, д. б. н., головн. наук. співроб.,

Г. В. ДРАБИНЮК<sup>3</sup>, нач. від. науки та екоосвіти

<sup>1</sup>СГІ–НЦНС, Одеса

<sup>2</sup>Ботанічний сад ім. акад. О. В. Фоміна Київського нац. ун-ту ім. Т. Шевченка

<sup>3</sup>Національний природний парк «Бузький Гард»

e-mail: angelika\_solo@yahoo.com

## ДОСЛІДЖЕННЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ПРИРОДНИХ ПОПУЛЯЦІЙ КИЗИЛЬНИКІВ (*Cotoneaster sp.*) В УКРАЇНІ

*Молекулярно-генетичне дослідження поліморфізму зразків Cotoneaster природних популяцій кизильників України проведено методом RAPD-аналізу. Виявлено відмінності між видами C. integerrimus і C. melanocarpus та генетичну близькість перехідних форм до C. integerrimus.*

Ключові слова: кизильник, RAPD-аналіз, філогенія, перехідні форми.

**Вступ.** Поліморфний рід *Cotoneaster* C. Bauhin (1623) у світовій флорі, за даними J. Phipps [1], представлений 264 таксонами. Ареал роду Кизильник знаходиться, в основному, в гірських районах Середньої Азії, Ірану, Афганістану, Індії, Монголії, Китаю. В Україні є його три види: *C. integerrimus* Medic. (к. цілокрай), *C. melanocarpus* Fisch. et Blytt (к. чорноплідний), *C. tauricus* Pojark (к. кримський). Останній росте в гірській частині Криму, є ендеміком, занесений до Європейського списку тварин і рослин, що знаходяться під загрозою зникнення у світовому масштабі. Перші два ростуть також у горах Криму, Карпат і досить часто зустрічаються на виходах гранітів Придніпровської, Приазовської височин, Донецького кряжу, а також у районах Закарпаття, Передкарпаття, рідше на північному заході лісостепової зони України. Еколого-ценотичними дослідженнями 2002–2008 рр. популяцій кизильників виявлено їх у флорі степової частини України *C. integerrimus*, який характерний лише для гірських місцевостей — Крим, Карпати [2]. Виявлені у місцях природного розповсюдження перехідні форми між *C. melanocarpus* і *C. integerrimus*, що відрізняються морфологічно — за формою листкової пластинки, її розмірами і, особливо, довжиною квітконіжки-плодоніжки, а також габітусом та екологією. Так, *C. melanocarpus* у степовій частині малопоширений, переважно у зволжених місцях та у північних експозиціях. А *C. integerrimus*, як виявилось, рослина більш ксерофітна, утворює перехідні форми з *C. melanocarpus*, які займають відповід-

ні екологічні ніші. Рослини, в яких переважають ознаки *C. integerrimus*, розташовуються в сухих, відкритих, сонячних місцях. Ті ж, у яких більше ознак *C. melanocarpus*, займають північні експозиції, більш глибокі улоговини, захищені від сонця з усіх боків скелями чи камінням або кронами дерев, чагарниками. Щільність розселення асоціацій залежить від антропогенного навантаження. Перегляд зразків у гербаріях Києва, Донецька, Дніпропетровська, Кривого Рогу, Харкова, Львова, Ужгорода засвідчив наявність як цих форм, так і *C. integerrimus*, які тут визначені як *C. melanocarpus*. І у вирішенні проблем філогенетичних взаємовідносин велике значення має застосування молекулярно-генетичних методів [3].

**З метою** виявлення подібності чи відмін між зазначеними таксонами та їхніми перехідними формами проведено дане молекулярно-генетичне дослідження.

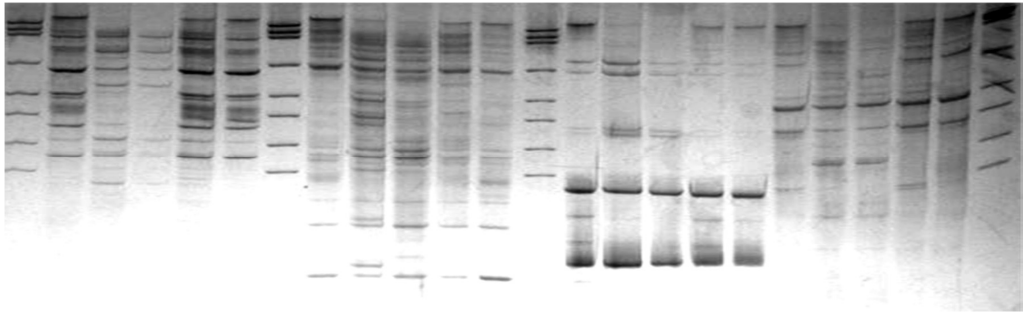
**Матеріали та методи.** Матеріалом слугували ранньовесняні вегетативні пагони із молодими листочками, які ще не досягли нормальних розмірів, зрізані в природних популяціях регіонального ландшафтного парку «Гранітно-степове Побужжя» (сmt. Мигія, с. Курипчине Первомайського району Миколаївської області), гірського Криму (Чатирдаг), рівнинної частини України (Київська, Дніпропетровська, Кіровоградська області), заповідника «Медобори» (Тернопільська область), Карпат (гора Петрос).

ДНК вилучали з листя цетавлоновим методом. Ампліфікацію проводили на приладі «Терцик» (ДНК-технологія, Росія). Склад реактивної суміші: 50 мМ КСІ,

20 мМ тріс-НСІ (рН 8,4), 0,01 % Tween-20, 2 мМ MgCl<sub>2</sub>, 0,2 мкМ праймера, 200 мкМ кожного dNTP, 20–30 нг ДНК, 1 од. Taq-полімерази. Умови ампліфікації: початкова денатурація — 94 °С 2 хв, 30 циклів за наступними режимами: відпал 60 °С 30 с, елонгація 72 °С 30 с, денатурація 92 °С 30 с, остання елонгація 5 хв. Електрофорез продуктів ампліфікації проводили в денатуруючому поліакриламідному гелі (10 % акриламід, 7 М сечовина, 1 × тріс–боратний буфер) за 500 V протягом 120 хв. Фарбували азотнокислим сріблом. Документували отримані електрофореграми відеосистемою VDS (Pharmacia Biotech, США).

**Результати досліджень та обговорення.** Для дослідження молекулярно-генетичного поліморфізму п'яти зразків кизильника, зібраних у природних популяціях регіонального ландшафтного парку «Гранітно-степове Побужжя», використано полілокусний RAPD-аналіз із залученням 12 праймерів довільної нуклеотидної послідовності [4]. У цілому досліджено 163 локуси геному кизильника, з яких 55 виявилися поліморфними.

На рисунку 1 наведено спектри довільно ампліфікованої ДНК досліджених генотипів кизильника. Виявлено генотипоспецифічні продукти ампліфікації за праймерами P 2, R 86, P57, A 02, P 39, R 100, P 37.



М 2а 3а 10 60 90 М 2а 3а 10 60 90 М 2а 3а 10 60 90 М 2а 3а 10 60 90 М  
А Б В Г

Рис. 1. Електрофореграма продуктів ампліфікації ДНК зразків кизильника з праймерами С 20(А), Р 2(Б), R 86(В), Р 32(Г). М — маркер молекулярної маси рGEM

Із використанням комп'ютерної програми MEGA визначено генетичні відстані між проаналізованими зразками та отримано схему, що відбиває їхню генетичну спорідненість (рис. 2).

Зразки згруповано в два кластери, один з яких містить генотипи «2а», «90» та «60», інший — «3а» та «10». Генетичні відстані між зразками з різних кластерів майже удвоє перевищують ті, що виявлено між зразками в межах кластерів. Найбільш генетично близькими виявились генотипи «2а» та «90».

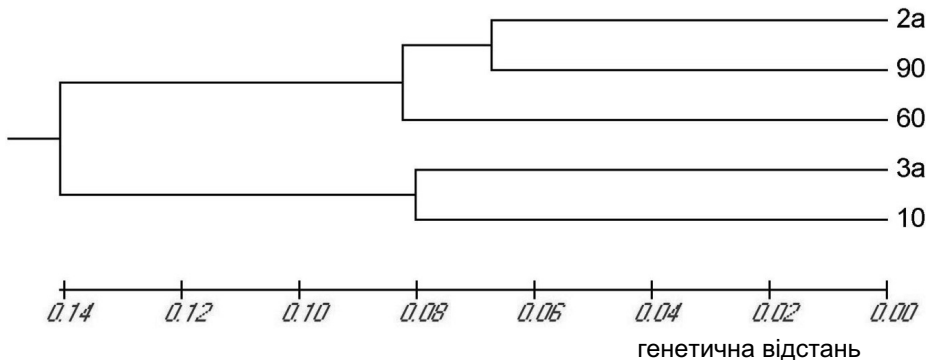


Рис. 2. Схема, що відбиває генетичні взаємовідносини між дослідженими зразками кизильника, зібраними в природних популяціях регіонального ландшафтного парку «Гранітно-степове Побужжя»

Перевівши зразки, зазначені під номерами «2а», «3а», «10», «60», «90», у таксономічний ряд, можемо констатувати присутність у степовій частині України *C. integerrimus* («60»), який генетично перебуває на значній відстані від *C. melanocarpus* («3а» і «10»). Перехідні форми *C. melanocarpus* x *C. integerrimus* («2а») та *C. integerrimus* x *C. melanocarpus* («90») є генетично близькими і мають більшу частину ознак від *C. integerrimus* («60»), утворюючи один кластер. Дані RAPD-аналізу дозво-

ляють стверджувати про наявність перехідних форм і виділяти їх у окремі таксони.

Молекулярно-генетичне дослідження зразків кизильників з різних регіонів України [5] дозволило виявити, що перехідні форми *C. melanocarpus* x

*C. integerrimus* і *C. integerrimus* x *C. melanocarpus* із різних місць Тернопільської області (м. Кременець та заповідник «Медобори») утворюють один кластер і є генетично більш близькими до зразка виду *C. integerrimus* з Карпатської гори Петрос, ніж до зразка виду *C. melanocarpus* з м. Кременець (рис. 3). Разом з тим, усі зразки із Карпат та Прикарпаття («12», «13», «15», «16») виявились генетично доволі близькими. Найбільш відрізнявся один із зразків виду *C. integerrimus* з Миколаївської області («02»), який утворив окремий кластер. Отримані результати показали, що вивчення поліморфізму ДНК зразків роду *Cotoneaster* потрібно продовжувати, наявний фактичний матеріал є основою подальших досліджень у цьому напрямі.

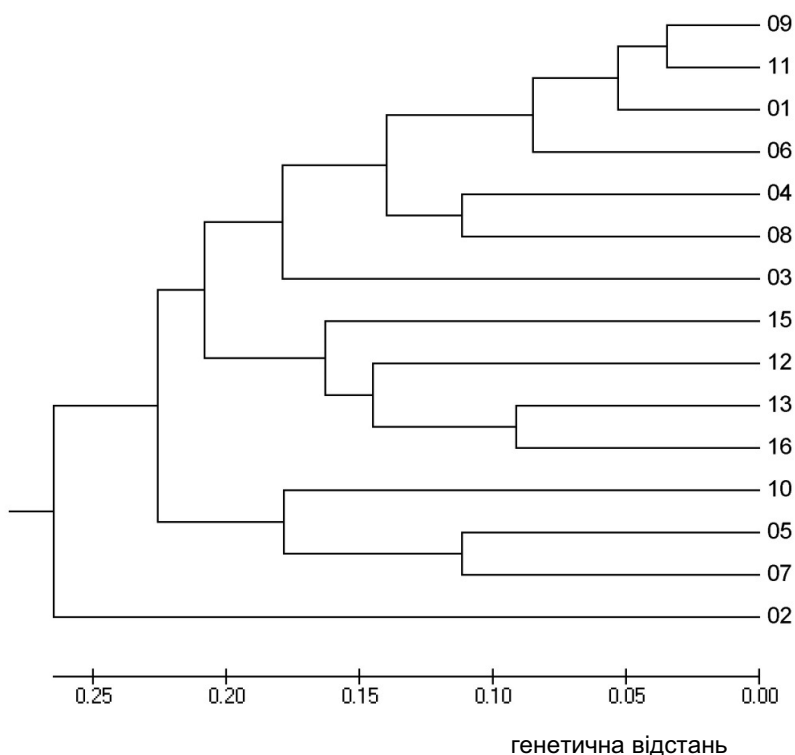


Рис. 3. Схема, що відбиває генетичні взаємовідносини між дослідженими зразками кизильника із різних регіонів України

**Висновки.** Дослідження молекулярно-генетичного поліморфізму природних популяцій кизильників різних регіонів України виявило генетичну близькість перехідних форм *C. melanocarpus* x *C. integerrimus* і *C. integerrimus* x *C. melanocarpus* до виду *C. integerrimus*.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Phipps J. A checklist of the subfamily Maloideae (Rosaceae) / J. Phipps // *Canadian Journal of Botany*. — 1990. — Vol. 68. — P. 2209–2269.
2. Гревцова Г. Кизильники гранітно-степового Побужжя / Г. Гревцова, В. Колесник // *Екологія. Біологічні науки* : зб. наук. праць Полтавського державного педагогічного університету ім. В. Г. Короленка. — Полтава, 2003. — Вип. 4 (31). — С. 54–61.
3. Использование ПЦР-анализа в генетико-селекционных исследованиях : Научно-методическое руководство / под ред. Ю. М. Сиволапа. — К. : Аграрна наука, 1998. — С. 9.
4. Гревцова Г. Дослідження молекулярно-генетичного поліморфізму кизильника регіонального ландшафтного парку «Гранітно-степове Побужжя» / Г. Гревцова, А. Солоденко, Ю. Сиволап, Г. Драбинюк // *Вісник КНУ. Інтродукція та збереження рослинного різноманіття*. — К., 2009. — Вип. 25–27. — С. 42–45.
5. Гревцова Г. Т. Сучасний стан популяцій кизильників в умовах *in situ* в Україні / Г. Т. Гревцова, Г. В. Драбинюк, М. С. Кубінський, А. Є. Солоденко, І. С. Михайлова // *Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна*, № 1100, серія «Біологія». — Харків, 2014. — Вип. 20. — С. 250–257.

Надійшла 25.05.2015.

UDC 575.11.113:854.78

**Solodenko A. Ye., Grevtsova G. T., Drabinyuk G. V.** Plant Breeding and Genetics Institute — National Center of Seed and Cultivar Investigations

**MOLECULAR-GENETIC POLYMORPHISM INVESTIGATION OF NATURAL POPULATIONS OF COTONEASTER (*Cotoneaster* sp.) IN UKRAINE**

Molecular-genetic investigation of polymorphism of natural populations *Cotoneaster* accessions in Ukraine was carried out. The differences between *C. integerrimus* and *C. melanocarpus* and genetic relationship their transitional forms to *C. integerrimus* were established.

УДК 575.11.113:854.78

**Солоденко А. Е., Гревцова Г. Т., Драбинюк Г. В.**

**ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО  
ПОЛИМОРФИЗМА ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ КИЗИЛЬНИКОВ  
(*Cotoneaster sp.*) В УКРАИНЕ**

Молекулярно-генетическое исследование полиморфизма образцов *Cotoneaster* природных популяций кизильников Украины проведено методом RAPD-анализа. Выявлены различия между видами *C. integerrimus* и *C. melanocarpus* и генетическая близость переходных форм к *C. integerrimus*.