

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК И ВЫЯВЛЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА *HERACLEUM SP.* С ПОМОЩЬЮ RAPD-ДИАГНОСТИКИ

П.Ю. Колмаков, Ю.И. Высоцкий, А.В. Бавтото, А.С. Кисова
Витебск, ВГУ имени П.М. Машерова

Естественный ареал борщевика – преимущественно субальпийский горный пояс Центрального и Восточного Кавказа, Восточного, Центрального, Юго-Западного и части Западного Закавказья, где он произрастает на полянах и опушках лесного пояса гор, вдоль водотоков, а также в высокотравье субальпийских лугов. В 60-е годы XX ст. проводилась широкомасштабное распространение борщевика на территории европейской России, Украины, Беларуси, Прибалтики, и к концу столетия вид стал опасным и активным инвазионным растением в данных регионах [1].

Работа проводится в рамках задания 2.05 ГПНИ «Природопользование и экология», номер государственной регистрации 20160579 от 01.04.2016: «Оценка угроз распространения инвазивных видов родов бальзамин, борщевик и золотарник на территории Витебской области, молекулярно-генетическое изучение их таксономического состава» при поддержке института генетики и цитологии НАН Беларуси.

Цель исследования – изучение генетического полиморфизма поступивших образцов борщевиков.

В данной работе с помощью RAPD-анализа мы попытались выявить генетическое разнообразие среди борщевиков, произрастающих в районах Витебской области.

Материал и методы. Сборы поступившего материала в научно-исследовательскую лабораторию ПЦР-анализа Витебского государственного университета имени П.М. Машерова проводились в Бешенковичском, Витебском, Дубровенском, Сенненском, Ушачском и Шумилинском районах Витебской области.

В зоне приемки материал проходил регистрацию в установленном порядке. Образцы подвергались пробоподготовке: измельчение и лизис клеточной массы. Первичная экстракция и очистка нуклеиновых кислот с помощью набора реагентов для выделения ДНК «Нуклеосорб» фирмы Праймтех (Беларусь) проходила только из свежего материала, поскольку амплифицированные фрагменты ДНК из гербарного материала не были видны при визуализации в ультрафиолетовом спектре. Концентрация выделенных нуклеиновых кислот в растворе количественно измерялась при помощи спектрофотометра и составляла в пределах 74,2 – 287 нг/мкл. Чистота образцов определялась по отношению оптических плотностей при 260 и 280 нм (A_{260}/A_{280}) и варьировала в пределах 1.75-1.8, а иногда и 2.0, что соответствует общепринятым стандартам и говорит об отсутствии критических белковых загрязнений.

RAPD-маркирование проводилось с использованием стандартного набора компонентов для амплификации с использованием RAPD-маркеров группы ОРА. Концентрация ДНК матрицы и условия термоциклинга подбирались экспериментальным путем для получения более четких RAPD-профилей с наибольшим числом фрагментов или полос, необходимых для последующего анализа.

Электрофорез амплифицированных образцов проводился в агарозном геле с применением красителя бромистого этидия. Визуализация профилей осуществлялась в системе геледокументирования в ультрафиолетовом спектре.

Результаты и их обсуждение. На молекулярном уровне было обнаружено генетическое разнообразие среди борщевиков, произрастающих в пределах Витебской области. На рисунке 1 представлена дендрограмма генетической гетерогенности исследуемых образцов *Heracleum sp.*

При анализе материала был использован индекс подобия – квадрат евклидова расстояния. С помощью полнозвеньевой группировки получена дендрограмма, которая отражает гетерогенность поступивших образцов борщевиков. Анализ максимальных расстояний между объектами четко показал три группы исследованных объектов.

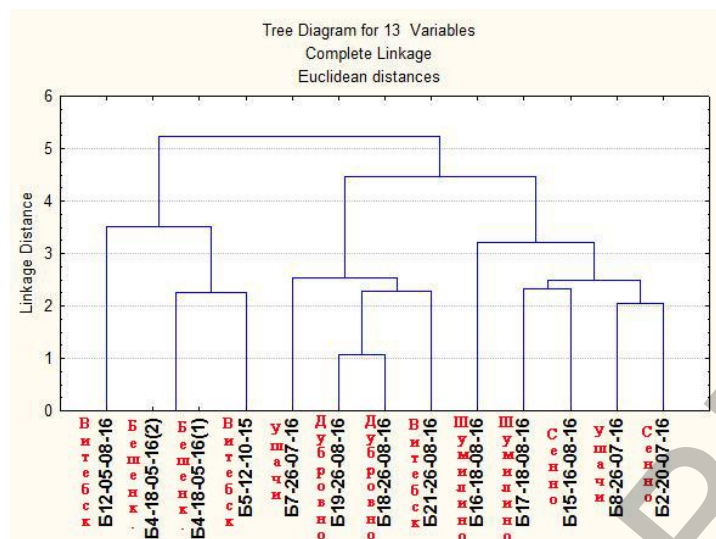


Рисунок 1. Дендрограмма генетической гетерогенности образцов *Heracleum* sp.

Заключение. Всестороннее изучение высоко конкурентоспособных неаборигенных организмов связано с исследованиями современных процессов генезиса природных экосистем и закономерностей формирования растительных сообществ антропогенно нарушенных территорий. В свою очередь, выявление генетического разнообразия популяций борщевика рассматривается некоторыми учеными как возможность получения необходимой информации для разрешения вопросов, связанных с разработкой конкретных методов контроля за распространением инвазионного вида на новых территориях [1].

Список литературы

1. Соловьева А.И., Долгих Ю.И., Осипова Е.С., Степанова А.Ю., Яворская О.Г. Выявление полиморфизма борщевика Сосновского (*Heracleum sosnowskyi*) с помощью RAPD, ISSR, REMAP / А.И. Соловьева, Ю.И. Долгих, Е.С. Осипова, А.Ю. Степанова, О.Г. Яворская // Биология растений и биотехнология. – Белая Церковь, 2011. – С. 64.

ЭКТОМИКОРИЗЫ *PICEA ABIES* В ТЕХНОГЕННО НАРУШЕННЫХ МЕСТООБИТАНИЯХ БЕЛОРУССКОГО ПООЗЕРЬЯ

П.Ю. Колмаков, А.С. Кисова
Витебск, ВГУ имени П.М. Машерова

Picea abies – одна из микотрофных пород древесных растений, которая слагает лесные сообщества в центральных и северных районах страны и имеет островное расположение в самой южной ее части. Вступая в мутуалистические взаимоотношения, *Picea abies* расширяет свои адаптивные возможности, что позволяет ей осваивать более разнообразие местообитания и занимать ключевые позиции в лесных сообществах. Имея поверхностную корневую систему, *Picea abies* остается чувствительной к недостатку влаги в верхних горизонтах почвы, что является одной из причин ее зональности на территории Беларуси [1].

Цель статьи – изучить разнообразие морфотипов корневых окончаний *Picea abies* в техногенно нарушенных местообитаниях Белорусского Поозерья.

Материал и методы. Исследования выполнены в техногенно нарушенных местообитаниях *Picea abies* в подзоне дубово-темнохвойных пордтаежных лесов Белорусского Поозерья. Отбор образцов корневых окончаний проводили в вегетационный период 2016 года. Образцы фиксировали в 4% формалине. Пробы отбирались стальным цилиндром-поршнем длиной 30 см и диаметром 5 см. Эксперимент проводили на пробной площади № 2 (ПП2 импактная зона). Геоботаническое описание пробной площади выполнено по правилам классификации растительных сообществ в советской геоботанике [2]. Точки отбора самих проб были приурочены к отдельным консорциям *Picea abies*, согласно методике концентрической схемы пробоотбора, с