

## ВИД *Allium ursinum* L. ВО ФЛОРЕ БЕЛАРУСИ

О. В. Дзюбан, З. Е. Грушецкая

Черемша (*Allium ursinum* L.), иногда также называемая медвежьим, или диким луком, - многолетнее травянистое луковичное растение, принадлежащее к роду *Allium* семейства Луковые (*Alliaceae*). Вид распространён в Европе, в том числе на Украине, в Беларуси, на Кавказе. Черемша занесена в Красные книги Смоленской области России, а также Беларуси, Латвии, Литвы, Украины. На территории Беларуси этот реликтовый, по происхождению средневропейский вид находится на северо-восточной границе равнинной части ареала и охраняется с 1964 года, принадлежит к 3 категории охраны [1]. Произрастает черемша по всей территории республики в тенистых широколиственных и широколиственно-еловых лесах, вблизи рек и ручьев, по окраинам болот. На территории Европы данный вид представлен двумя подвидами: *Allium ursinum* subsp. *ursinum* и *Allium ursinum* subsp. *ucrainicum* [2]. Черемша – древнее лекарственное растение, известное ещё германцам, кельтам и римлянам. В растении много аскорбиновой кислоты (в листьях до 0,73 %, в луковицах – до 0,10 %). В состав эфирного масла черемши входят гликозид аллиин, винилсульфид, тиолы и альдегиды, что обеспечивает фитонцидное действие растения по отношению к возбудителям болезней различной этиологии. Показано, что медвежий лук повышает аппетит, увеличивает секрецию пищеварительных желез, усиливает моторную функцию кишечника. Кроме того, растение обладает противоглистным, бактерицидным, фунгицидным и противогрибковым действием, стимулирует сердечную деятельность, снижает кровяное давление и способствует нормализации обмена веществ. Совсем недавно это растение стали использовать и в косметологии: российскими учеными запатентован рецепт косметического средства для питания и защиты проблемной кожи, в состав которого входит сок черемши. Этим средством можно залечить также мелкие ссадины, царапины и прыщи; его же можно использовать для оздоровительного массажа тела.

В Беларуси внутривидовая дифференциация черемши не изучалась, хотя по территории республики должна проходить граница распространения этих двух подвидов. Так, к примеру, на территории Украины распространен только subsp. *ucrainicum* [3], тогда как в Литве – только типовой подвид [4]. Исходя из этого, **цель** нашего исследования – оценить морфологический и молекулярно-генетический полиморфизм вида.

Для достижения поставленной цели решались следующие **задачи**:

- отбор образцов из разных популяций (север, юг и центральная часть Беларуси);

- морфологическое исследование образцов, выявление признаков, отличающих растения разных популяций;
- молекулярно-генетическое исследование с помощью ISSR-маркеров;
- выявление кластерных групп растений, а также их подвидов.

По результатам оценки морфологических признаков 89 образцов из различных популяций, вид *Allium ursinum* L. s. l. можно разделить на 2 подвида (subsp. *ursinum* и subsp. *ucrainicum*) по наличию/отсутствию и степени выраженности папилл на цветоножке. Образцы с голой цветоножкой принадлежат к подвиду *Allium ursinum* subsp. *ucrainicum* и распространены главным образом по югу и юго-востоку республики. Образцы, имеющие выраженные папиллы на цветоножках, относят к *Allium ursinum* subsp. *ursinum*; они обнаруживаются в основном по северу и северо-западу страны. На границе ареалов двух подвидов обнаружены промежуточные формы (рис.1), что свидетельствует о гибридности их происхождения.

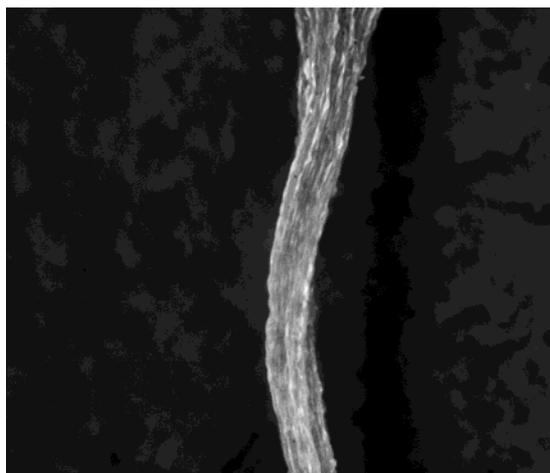


Рис. 1. Строение цветоножки черемши у промежуточных форм

Далее перед нами стояла задача провести молекулярно-генетический анализ этого вида растения. Уровень генетического полиморфизма наиболее эффективно определяется с помощью ДНК-маркеров. Оценить генетический потенциал и его роль в формировании устойчивости современных популяций *Allium ursinum*, имеющих природоохранный статус, позволяет ISSR-анализ. Нами был выбран ISSR-анализ как один из наиболее доступных, быстрых, воспроизводимых и не требующих использования флюоресцентных меток [5]. Он находит применение в селекционной практике, в исследованиях по систематике и происхождению популяций, сортов, видов, при восстановлении исчезающих сортов

и видов и сохранении их генетического разнообразия, в судебной экспертизе [6].

Для анализа использовали 7 декамерных ISSR-праймеров (ОДО «Праймтех»), которые давали максимальное число фрагментов амплификации, и индивидуальные растения из пятнадцати популяций. Выделение ДНК и ISSR-ПЦР проводили согласно общепринятым методикам. Амплифицированные фрагменты разной длины разделяли с помощью горизонтального электрофореза, для каждого образца определялись полиморфные и видоспецифичные фрагменты. На основании анализа полиморфизма ПЦР-продуктов были определены генетические дистанции по Nei, и проведен кластерный анализ по алгоритму Neighbor-Joining с помощью программы Треезон. Результаты кластерного анализа представлены на рисунке 2.

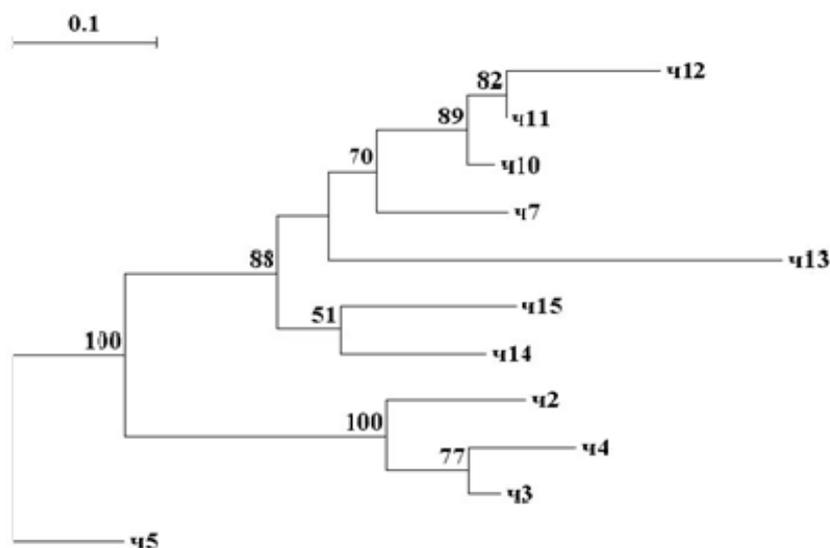


Рис. 2. Кластерный анализ генотипов *A. ursinum*, принадлежащих разным популяциям. Длина ветвей соответствует генетическим дистанциям по Nei, вероятность топологии дендрограммы подтверждена значениями bootstrap в узлах кластеров

Как видно из рисунка 2, представители различных популяций образуют несколько кластеров, очевидными из которых являются кластер (ч5) - *A. ursinum* из Франции, Commune Weinbourg; кластер (ч2, ч3, ч4) – морфологический подвид *Allium ursinum* subsp. *ursinum*; и большой кластер (ч12, ч11, ч10, ч7, ч13, ч15, ч14), разделяющийся впоследствии на два кластера, где образцы ч14 и ч15 относятся к морфологическому подвиду *Allium ursinum* subsp. *ucrainicum*, а остальные образцы имеют промежуточные признаки двух подвидов. Данные молекулярно-генетического анализа коррелируют с морфологическими данными, однако требуют дальнейшего анализа. Таким образом, показано, что ISSR-

маркеры являются стабильными и четко воспроизводимыми и позволяют выявить высокий уровень полиморфизма, который может служить основой для идентификации генотипов *A. ursinum* L.

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.

На основании полученных данных сделаны следующие выводы:

- в Беларуси выявлено 2 подвида лука медвежьего;
- данные молекулярно-генетического анализа коррелируют с морфологическими данными, однако требуют дальнейшего анализа;
- ISSR-маркеры являются стабильными и четко воспроизводимыми и позволяют выявить высокий уровень полиморфизма, который может служить основой для идентификации генотипов *A. ursinum* L.;
- особой охране подлежат генотипы, являющие собой морфологический подвид *Allium ursinum* subsp. *ucrainicum* и подвид *Allium ursinum* subsp. *ursinum*, т.к. они являются родительскими формами промежуточных форм.

#### Литература

1. Интернет-адрес:  
<http://redbook.minpriroda.gov.by/plantsinfo.html?id=125>;
2. Stearn, W.T. *Allium* L. In: T.G. Tutin, V.H. Heywood, N.A. Burges, D.M. Moore, D.H. Valentine, S.M. Walters, D.A. Webb (eds.), *Flora Europaea* 5. Cambridge, 1980. – P. 49–69.
3. Червона книга України. Рослинний світ/ за ред. Я.П. Дідуха – К.: Глобалконсалтинг, 2009. – 900 с.
4. Karpavičienė, B. Distribution of *Allium ursinum* L. in Lithuania / B. Karpavičienė // *Acta Biol. Univ. Daugavp.* – 2006. – Vol. 6, N 1-2. – P.117 – 121.
5. Semagn K, Bjornstad, Ndjondjop MN (2006). An overview of molecular markers for plants. *African Journal of Biotechnology* Vol. 5 (25): 2540–2568.
6. Сулимова Г. Е., Столповский Ю. А. и др. Перспективы и проблемы использования межмикросателлитных ДНК-маркеров (ISSR-маркеров) в систематике и оценке генетического разнообразия domesticiрованных видов животных / Молекулярно-генетические подходы в таксономии и экологии: тезисы докладов научной конференции /. – Ростов н/Д: Изд-во ЮНЦ РАН, 2013. – 128 с.

#### **ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПОЧВЫ, ЗАГРЯЗНЕННОЙ НЕФТЕПРОДУКТАМИ**

**М. В. Козлова, М. И. Чернявская**

Загрязнение природной среды нефтью и нефтепродуктами является актуальной экологической проблемой. Попадание нефти в почву приво-