

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА

Кафедра высших растений биологического факультета
Секция ботаники Московского общества испытателей природы
Московское отделение Всероссийского общества генетиков и селекционеров

**XIII Московское совещание
по филогении растений**

50 лет без К.И. Мейера

Материалы международной конференции

2–6 февраля 2015 г.



ИССЛЕДОВАНИЕ РАЗНООБРАЗИЯ POA PALUSTRIS L. (POACEAE) НА ТЕРРИТОРИИ СИБИРИ

М. В. Олонова, Н. С. Мезина, В. Д. Шипоша

Poa palustris L. — один из наиболее широко распространённых мятликов средней полосы, играющий заметную роль в сложении луговых фитоценозов и являющийся ценным кормовым растением. Наряду с другим мезоморфным видом секции, *P. nemoralis*, этот вид, по предположению Н. Н. Цвелёва (1974), является одним из наиболее древних видов мятликов секции *Stenopoa* Dum. Тем не менее, несмотря на свою древность, *P. palustris*, как и *P. nemoralis*, отличается очень высоким полиморфизмом, одной из причин которого является переход к апомиксису. Несмотря на некоторое сходство с *P. nemoralis*, *P. palustris* отличается голой осью колоска и длинным, у нормально развитых растений обычно превышающим 2 мм, язычком. Н. Н. Цвелёв (1974) отмечает, что смещение границ ареалов *P. palustris* и *P. nemoralis*, имевшее место в плейстоцене, обусловило широкие возможности для гибридизации между ними. Вследствие этого на территории северо-востока Европы и Сибири огромное число популяций *P. nemoralis*, имеет явно гибридогенный характер (Цвелёв, 2009). Популяционно-морфологические исследования сибирских материалов подтверждают эти предположения. Вместе с тем, популяционно-морфологические исследования показали, что плейстоценовое смещение границ отразилось не только на *P. nemoralis*, который в Сибири был во многом поглощён бореальным *P. palustris*. Похоже, что во время плейстоценовых смещений ареалов *P. palustris* и сам претерпел существенные изменения. Хотя среди мезоморфных мятликов секции *Stenopoa* образцы с довольно длинным язычком и голой осью колоска встречаются много чаще, чем с другими комбинациями состояний этих признаков, исследование этой группы на популяционном уровне показало, что найти на территории Сибири «чистую» популяцию *P. palustris* оказалось весьма нелёгким делом. При этом большинство популяций *P. palustris* в той или иной мере включает особи, которые морфологически должны быть с уверенностью отнесены к *P. nemoralis*, а также сочетающие признаки обоих видов. Огромное число

мезоморфных мятликов секции невозможно с уверенностью отнести к какому-то виду, поскольку они сочетают в разных комбинациях признаки *P. palustris* и *P. nemoralis* — короткий язычок и голую ось колоска или длинный язычок и опушённую ось колоска.

Полиморфизм *P. palustris* проявляется не только на морфологическом уровне: вид существует в виде нескольких кариологических рас (Пробатова, 2007). Всё это позволяет предполагать и высокий генетический полиморфизм *P. palustris*, генофонд которого, похоже, также обогатился за счёт *P. nemoralis*. В свете всего изложенного исследование генетического разнообразия сибирских популяций *P. palustris* представляет немалый интерес.

В настоящее время генетический полиморфизм успешно выявляется с помощью молекулярно-генетических методов. Род мятлик относительно неплохо изучен в молекулярно-генетическом отношении. Тем не менее, многочисленные работы Soreng и Gillespie (2005, 2007, 2009), А. В. Родионова и Н. Н. Носова (2007, 2009) посвящены филогении рода в целом, а детальное исследование Stoneberg Holt et al. (2004, 2005) касается главным образом *P. pratensis* L. Специального молекулярно-генетического исследования секции *Stenopoa* не проводилось.

Для выявления генетического разнообразия *P. palustris* была исследована нуклеотидная последовательность участка ETS, расположенного между 26S и 18S ядерной рибосомной ДНК. Участок был секвенирован у представителей 9 популяций *P. palustris* из разных районов Сибири и одной — из Скандинавии.

Молекулярно-генетические исследования проводили в Лаборатории генетического и структурного анализа растений Томского государственного университета. ДНК выделяли из листьев, высушенных в силикагеле или взятых из гербарных материалов, по стандартной методике Doyle & Doyle (Фризен, 2007) с небольшими модификациями.

Для амплификации в качестве прямого праймера был использован RETS4_F (TGGCTACGCGAGCGCATGAG), подобранный Gillespie с коллегами для исследования мятликов (Gillespie et al., 2009), а обратного — 18S-R (AGACAAGCATATGACTACTGGCAGG), один из стандартных праймеров. Праймеры были синтезированы фирмой СибЭнзим (г. Новосибирск).

Амплификацию проводили по стандартной методике (Фризен, 2007). Оценку размеров фрагментов ДНК осуществляли относительно 100 bp + 1,5 kb ДНК-маркера (СибЭнзим). Полученные изображения

обрабатывали в программе Adobe®Photoshop® CS2. Продукты амплификации очищали с использованием набора GeneJet™ PCR Purification Kit (Ferments, EU).

Секвенирование проводили на 3130 Genetic Analyzer с использованием BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США). Редактирование нуклеотидных последовательностей проводили с помощью программы Sequencing Analysis 5.2 (Applied Biosystems, США). Анализ и выравнивание последовательностей осуществляли с помощью программ SeqMan™ II и MegAlign™ (DNASTAR Inc.).

Сравнение нуклеотидных последовательностей показало высокую степень сходства районов ETS у всех исследованных образцов *P. palustris*, но некоторые различия всё же удалось установить. Наиболее существенные отличия были выявлены у представителя популяции № 4 из Горного Алтая. Там было обнаружено 7 замен — 4 транзиции (в позициях 111, 113, 316, 355, 356) и 2 трансверсии (в позициях 535 и 536). Четыре транзиции (в позициях 316, 355, 356 и 537) отличали образец из популяции № 6 из Кемеровской области. Образец из популяции № 1 (Кузнецкий Алатау) отличался от остальных по двум позициям — транзиции в 316 и трансверсии в 537. У образцов, взятых из популяций № № 9 и 10 (соответственно Якутия и Красноярский край), были обнаружены делеции в позиции 574. С другой стороны, наибольшая изменчивость наблюдалась в 88 позиции — у образцов из популяций № № 1, 3, 5 в ней отмечалась W (аденин или тимин), из популяции № 5 — аденин и у остальных — делеции. Высокая изменчивость отличала также позицию 537 — у шести образцов была отмечена делеция и у одного — инверсия.

Таким образом, исследование выявило некоторые различия среди популяций *P. palustris*, но столь слабые генетические различия при весьма существенных морфологических вызывают определённые сомнения в выборе метода. Сравнения последовательностей, полученных для *P. palustris*, с данными из GenBank Национального центра биотехнологической информации США (online) показали не только высокую степень сходства *P. palustris* между собой и с *P. nemoralis* и другими близкими видами секции, но также и сходство этих видов с *P. glauca* Vahl (sect. *Stenopoa*), *P. lettermanii* Vasey (sect. *Abbreviatae* Nannf. ex Tzvel.) (Олонова, Храброва, 2011). Таким образом, выявленные слабые генетические различия между разными популяциями *P. palustris* могут скорее указывать на слабую вариабильность

исследованного участка ДНК. Вероятно, этот участок оказался слишком консервативным для исследования внутривидовой изменчивости, поэтому для этой цели должны быть испробованы другие методы. Наиболее перспективным в этом отношении представляется метод ISSR, позволяющий выявить различия даже на популяционном уровне (Фризен, 2007).

Исследования были поддержаны грантами № 220 dated April 09, 2010, under Agreement № 14. В 25.31.0001, с Министерством образования и науки Российской Федерации от 24 июня 2013 (BIO-GEO-CLIM) и грантом РФФИ (№ 13–04 01715 А).

Список литературы

Носов Н. Н., Родионов А. В. Молекулярно-филогенетическое изучение взаимоотношений между представителями рода *Poa* (Poaceae) // Бот. журн. 2008. Т. 93. № 12. С. 1919–1936.

Олонова М. В., Храброва Н. В. Исследование генетического сходства *Poa palustris* L. и *P. nemoralis* L. (Poaceae) на базе нуклеотидных последовательностей района ETS 18S — 26S ядерной рибосомной ДНК // Вест. Томского гос. ун-та. 2010. Т. 4 № 16. С. 55–65.

Пробатова Н. С. Хромосомные числа в семействе Poaceae и их значение для систематики, филогении и фитогеографии (на примере злаков Дальнего Востока России) // Комаровские чтения. 2007. Т. 55. С. 9–103.

Родионов А. В., Ким Е. С., Пунина Е. О., Мачс Э. М., Тюпа Н. Б., Носов Н. Н. Эволюция хромосомных чисел в трибах Aveneae и Pooae по данным сравнительного исследования внутренних транскрибируемых спейсеров ITS1 и ITS2 ядерных генов 45S рРНК // Бот. журн. 2007. Т. 92. № 1. С. 57–71.

Родионов А. В., Носов Н. Н., Ким Е. С., Мачс Э. М., Пунина Е. О., Пробатова Н. С. Происхождение полиплоидных геномов мятликов (*Poa* L.) и феномен потока генов между Северной Пацификой и субантарктическими островами // Генетика. 2010. Т. 46. № 12. С. 1598–1608.

Фризен Н. Молекулярные методы, используемые в систематике растений. Барнаул: АзБука, 2007. — 64 с.

Цвелёв Н. Н. О роде мятлик (*Poa* L.) в СССР // Новости систематики высших растений. 1974. Т. 11. С. 24–41.

Цвелёв Н. Н. О видах секции *Stenopoa* Dumort. рода мятлик (*Poa* L., Poaceae) в Восточной Европе // Новости систематики высших растений. 2009. Т. 41. С. 18–53.

GenBank. Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

Gillespie L. J., Archambault A., Soreng R. J. Phylogeny of *Poa* (Poaceae) based on *trnT-trnF* sequence data: major clades and basal relationships // Aliso. 2007. Vol. 23. P. 420–434.

Gillespie L. J., Soreng R. J. A phylogenetic analysis of the Bluegrass genus *Poa* based on cpDNA restriction site data // Syst. Bot. 2005. Vol. 30. № 1. P. 84–105.

Gillespie L. J., Soreng R. J., Jacobs S. W. L. Phylogenetic relationship of Australian *Poa* (Poaceae: Poinae), including molecular evidence for two new genera, *Saxipoa* and *Sylvipoa* // Austr. Syst. Bot. 2009. Vol. 22. P. 413–436.

Stoneberg Holt S. D., Horová L., Bureš P. Indel patterns of the plastid DNA *trnL-trnF* region within the genus *Poa* (Poaceae) // J. Plant Res. 2004. № 117. P. 393–407.

Stoneberg Holt S., Horová L., Bureš P., Janeček J., Černoch V. The *trnL-F* plastid DNA characters of three *Poa pratensis* (Kentucky bluegrass) varieties // Plant, Soil Envir. 2005. № 51. P. 94–99.