

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт Фундаментальной Биологии и Биотехнологии

институт

Кафедра водных и наземных экосистем

кафедра

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

_____ М.И. Гладышев

подпись

« _____ » _____ 2019 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

060301.10 - Биология

Морфолого-генетический анализ популяций *Achillea millefolium* и *Achillea asiatica* произрастающих в южной части Красноярского края и республике Хакасия

Руководитель _____

подпись, дата

д.б.н., профессор Ямских И. Е.

должность, ученая степень фамилия, инициалы

Выпускник _____

подпись, дата

Стоянова Э.Е.

фамилия, инициалы

Красноярск 2019

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	5
1.1 История и проблемы выделения видов рода Тысячелистник в Сибири	5
1.2 Эколого-биологические и фармакологические особенности представителей рода <i>ACHILLEA</i>	8
1.3. Изучение генетического полиморфизма популяций тысячелистника	14
ГЛАВА 2. РАЙОН И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ОШИБКА! ЗАКЛАДКА НЕ ОПРЕДЕЛЕНА.	
2.1 Характеристика района исследования	ОШИБКА! ЗАКЛАДКА НЕ ОПРЕДЕЛЕНА.
2.2 Методика исследования.....	ОШИБКА! ЗАКЛАДКА НЕ ОПРЕДЕЛЕНА.
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.. ОШИБКА! ЗАКЛАДКА НЕ ОПРЕДЕЛЕНА.	
3.1. Геоботаническая характеристика местообитаний тысячелистника	ОШИБКА! ЗАКЛАДКА НЕ ОПРЕДЕЛЕНА.
3.2. Изменчивость морфологических признаков тысячелистника обыкновенного и т.азиатского.....	ОШИБКА! ЗАКЛАДКА НЕ ОПРЕДЕЛЕНА.
3.3. Сопряженная изменчивость морфометрических признаков тысячелистника.....	ОШИБКА! ЗАКЛАДКА НЕ ОПРЕДЕЛЕНА.
3.4 Анализ генетического разнообразия популяций <i>ACHILLEA MILLEFOLIUM</i> и <i>A.ASIATICA</i>	ОШИБКА! ЗАКЛАДКА НЕ ОПРЕДЕЛЕНА.
ВЫВОДЫ.....	18
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	19

Введение

Дикорастущие растения находятся в естественной среде произрастания и способны образовывать популяции, растительные сообщества или насаждения. Для комплексного изучения необходим подход, который включает в себя изучение биологии вида на организменном и популяционном уровне (Чудновская, 2013). Помимо этого в настоящее время остро стоит проблема повышения биологической продуктивности лекарственных растений в связи с разработкой новых средств фитотерапии (Хасанова, 2009).

Одним из принципов классической фитотерапии, провозглашенной еще Парацельсом и подтвержденной современными исследователями, является использование лекарственных трав того региона, в котором живет человек (Хасанова, 2003). В Красноярском крае широко распространены виды дикорастущих растений, обладающие ярко выраженным физиологическим действием на организм человека (Слатинская, 2016). К таковым относятся представители рода *Achillea*.

Achillea millefolium является самым распространенным видом рода тысячелистник в Сибири, а также полиморфным видом и имеет много форм различного таксономического значения, обычно неясно отграниченных друг от друга (Афанасьев, 1961). Данное растение представляет большой интерес в связи с широким спектром фармакологических свойств (Растительные ресурсы.....,1993).

В связи с накоплением гербарного материала, показывающего высокую степень внутривидовой изменчивости у *Achillea*, возникла необходимость критического пересмотра видов, которые ранее были выделены из состава *A. millefolium*, а также ревизии отдельных форм данного полиморфного комплекса.

Цель работы: Морфолого-генетический анализ популяций видов р.*Achillea* в южной части Красноярского края и Хакасии.

Задачи:

1. Изучить фитоценоотическую приуроченность видов рода *Achillea*;

2. Оценить модификационную изменчивость признаков тысячелистника и выявить таксономически значимые из них;
3. Изучить генетический полиморфизм популяций.

Глава 1. Обзор литературы

1.1 История и проблемы выделения видов рода Тысячелистник в Сибири

Виды рода тысячелистник – весьма полиморфны, сильно варьируют по размерам, степени опушения, характеру рассеченности листьев, размеру и форме корзинок, по форме и величине язычков краевых цветков и т.д. Правильная оценка их возможна только при тщательном изучении в природе и при монографической обработке всех представителей (Комаров, 1961; Афанасьев, 1961).

Вид *Achillea millefolium* полиморфен и имеет многочисленные формы разного таксономического значения зачастую неясно отграниченные друг от друга (Афанасьев, 1957). Так, в 1946 г. Сергиевская Л.П. выделила *Achillea asiatica* в отдельный вид (Сергиевской, 1946). Другие авторы (Копынева, 1980) считают выделение *Achillea asiatica* в самостоятельный вид нецелесообразным и во «Флоре Красноярского края» его рассматривают в составе *Achillea millefolium* L.s.l., хотя в последней сводке «Флора Сибири» (Шауло, 1997) все вышеперечисленные виды признаются самостоятельными. Во «Флоре СССР» (1961) выделяется 15 видов тысячелистника, произрастающих в Сибири.

Группой томских ученых установлено, что по количественному и по качественному составу, содержания монотерпеноидов и сесквитерпеноидов эфирные масла тысячелистника азиатского и тысячелистника обыкновенного близки: содержание хамазулена в эфирных маслах этих видов 5-12%. (Калинкина, 2000; Юсубов, 2000). Это подтверждает мнение ряда томских ботаников рассматривать тысячелистник азиатский в составе полиморфного вида *Achillea millefolium* L.s.l. (Копынева, 1980).

Во «Флоре Красноярского края» (1980) выделяется только два вида тысячелистника – обыкновенный и благородный. Т. благородный имеет дваждыперисторассеченные листья с 7-10 парами первичных долей и зубчатым в верхней половине общим стержнем листа, в то время как т.обыкновенный

дважды - или триждыперисторасеченные листья с 15-30 первичными долями и узкой цельнокрайней каймой плоского общего стержня листа. Отмечается, что тысячелистник обыкновенный весьма полиморфный вид. Сравнение обширных материалов из Сибири и европейской части СССР показало, что изменчивость строения листовых пластинок свойственна виду в пределах всего ареала и не связана с какими-то определенными условиями местообитаний. Основываясь на этом, авторы не считают возможным согласиться с выделением тысячелистника азиатского, как отдельного вида.

В «Растительных ресурсах России» (2012) на основе химического состава выделяется 5 видов тысячелистника, свойственных для Сибири – т. обыкновенный, т. азиатский, т. мелкоцветковый (Алтай, Западная Сибирь), т. благородный, т. щетинистый (Алтай, Западная Сибирь). Е.М. Антипова (2012) выделяет три вида тысячелистника для Красноярского края, различая их главным образом по месту произрастания, а в морфологии ссылаясь на ранее написанные работы (Шауло, 1997; Положий, 1980). Так, в свою очередь тысячелистнику азиатскому свойственно произрастание в луговых степях, на суходольных лугах, на полянах и опушках; т. обыкновенный предпочитает березовые и смешанные леса, лесные опушки, пойменные и остепненные луга; т. благородный произрастает в степях и на залежах, встречается крайне редко.

Борский М.Н. (2014) отмечает, что *A. millefolium* проявляет высокую степень внутривидовой изменчивости. В результате его особи, взятые из разных биотопов, могут существенно различаться между собой по значениям многих признаков. Это привело к тому, что в «период типологической концепции вида» (Скворцов, 2004) многие морфотипы *A. millefolium* были описаны как самостоятельные виды. В результате своих исследований Борский М.Н. не обнаружил чётких морфологических, экологических или географических различий для строгого разграничения таких видов тысячелистника как *A. setacea*, *A. inundata* и *A. millefolium* ни по их описаниям в литературе (Афанасьев, 1961, Клоков М.В. 1985, Кондратюк 1961), ни по

собственным наблюдениям и сборам, и поэтому рассматривает их в составе единого таксона (*A. millefolium*), полиморфного по множеству признаков.

Н.В. Степанов (2016) выделяет 10 видов тысячелистника характерных для территории Приенисейских Саян, большая часть из них является довольно редкими. Он приводит такие виды как *A. millefolium* (т. обыкновенный), *A. asiatica* (т. азиатский), *A. nobilis* (т. благородный), *A. inundatum* (т. пойменный), *A. schmakovii* (т. Шмакова), *A. sergievskiana* (т. Сергиевской), *A. setacea* (т. щетинистый), *A. kuprijanovii* (т. Куприянова), *A. schauloi* (т. Шауло) и *A. jenseiensis* (т. енисейский).

Н.В. Степановым выделено 4 новых вида. Т. Шмакова крупный (40-50 и более см высотой), имеет широкие дольки листьев (1-2 мм) и весьма близок к т. обыкновенному. Т. Сергиевской ближе по морфологии к т. азиатскому и имеет сероватые от мелкого опушения, с компактными соцветиями, генеративные побеги 40-50 см высотой и черно-бурые окаймления листочков обертки. Т. Куприянова – высота 40-85 см, опушен от светло-зеленых до светло-серых волосками, листочки обертки с темно-бурым окаймлением, дольки листьев довольно узкие и длинные, линейно-ланцетные. Т. Шауло менее высокий (40-50 см), листья шириной до 2 см, в то время как у т. Куприянова они около 4 см. Листья в длину достигают 30 см, а у т. Куприянова до 35 см. Т. енисейский – гигантский, высотой до 130 см, длина листьев может достигать 50 см и 15 см шириной, соцветия до 20 см в диаметре.

Чаще всего авторы выделяют два вида тысячелистника, свойственных для Сибири – т. азиатский и т. обыкновенный, добавляя или исключая другие, такие как т. благородный и т. пойменный. (Флора Красноярского края, 1980; Антипова, 2012; Флора Сибири, 1997; Раст. ресурсы России, 2012; Флора СССР, 1961). Однако среди наиболее свежих работ (основе химического и морфологического анализа) есть такие, где автор не видит доказательств, которые служат основой для разнесения этих двух таксонов и сводит их в один вид – тысячелистник обыкновенный (Борский, 2014). Так же мы можем

наблюдать другой взгляд на таксономическое разнесение видов рода тысячелистник, так Н.В. Степанов (2016) выделяет 10 видов тысячелистника в пределах Приенисейских Саян.

1.2 Эколого-биологические и фармакологические особенности представителей рода *Achillea*

Achillea asiatica и *Achillea millefolium* наиболее часто встречаемые виды рода *Achillea*, принадлежат к семейству Asteraceae или Compositae (сложноцветные). Данное семейство, согласно международной базе данных ThePlantList, включает в себя 32913 видов, объединенных в 1911 родов, распространенных по всему земному шару (ThePlantList, 2019). К роду *Achillea* относится около 151 видов, распространенных в Европе, Азии, Северной Африке и Северной Америке (ThePlantList, 2019).

Это многолетние травянистые растения и полукустарники, которые распространены на огромных территориях (Крылов, 1933). Стебли достигают высот от 15 до 120 см не устойчивы к порывам ветра. Растения агрессивны и могут вытеснять менее стойких соседей. А также обладают высокой зимостойкостью (Копынева, 1980). Листовые пластины у тысячелистника крупные, ланцетовидные, изрезанные или цельные. Они образуют прикорневую розетку. Листья располагаются по всей длине стебля. Соцветия – корзинки, мелкие, многоцветковые, большей частью собраны в общее щитковидное соцветие, реже одиночные; краевые цветки пестичные, язычковые, белые, розовые, красные или желтые, срединные – обоеполые, трубчатые. Семянки без летучки (Манханов, 2015).

Растения рода светолюбивы, но без проблем выносят легкую полутень. Засухоустойчивы. К почве нетребовательны, но предпочитают сухие, известковые, хорошо дренированные почвы. Неприхотливы. В загущенных посадках, в тени, при избыточном увлажнении стебли вытягиваются и полегают (Манханов, 2015; Megabook, 2017).

Тысячелистник - древнее проверенное кровоостанавливающее средство, на что указывают его народные названия «кровоавник», «кровоик», «серпник», «серпорез». Латинское название растения отсылает к греческой мифологии: Ахилл, во время троянской войны, лечил растением раненых воинов. Французы называют тысячелистник «травой святого Иосифа» («*kerle desaint Josef*»). Согласно легенде святой Иосиф был плотником и часто ранился, а свои раны лечил тысячелистником (Колосова, 2012; Provisor, 2017). Тысячелистник издавна широко использовался в русской народной медицине. В траве тысячелистника содержатся флавоновые и дубильные вещества, эфирное масло, гликоалкалоидахиллеин, смолы, фитонциды, органические кислоты, витамины К, С и каротин, значительное количество алюминия, хрома, железа, меди и марганца. Основным действующим веществом, считают что, является ахиллеин, повышающий свертываемость крови. Однако немалую роль в действии растения играют, по-видимому и другие вещества: азулен, витамины и микроэлементы (Минаева, 1970).

В экспериментах настоек травы, а также сок из растения ускоряет свертывание крови. По силе действия на процессы свертывания крови 0,5% настоек тысячелистника превосходит раствор хлорида кальция в концентрации 1:2000—1:5000 (Махлаюк, 1992). Растение обладает мочегонным, вяжущим, потогонным свойствами и способствует правильному обмену веществ. Оно благоприятно действует на аппетит, усиливает деятельность пищеварительных желез и улучшает пищеварение, увеличивает выделение молока у кормящих женщин. Тысячелистник способствует заживлению ран, улучшает кровообращение и обладает «кровоочистительным», противосудорожным, обезболивающим, противовоспалительным, противомикробным, инсектицидным и антиаллергическим действием (Махлаюк, 1992). Как установлено болгарскими учеными, спиртовой экстракт растения обладает противосудорожными свойствами (Athanassova-Shopova, Raussinov, 1965). На Кавказе толченую свежую траву прикладывают к ранам, листья измельченные в порошок употребляются для присыпки ран, а цветы добавляют в мази для ран

(Роллов, 1908). Одно растение тысячелистника способно дать от 0,4 до 1,4 г воздушно-сухого сырья (Турова, 1984).

Тысячелистник обыкновенный *Achillea millefolium* L. – бореальный евроазиатский вид (Орлова, 1993), травянистый многолетник, 5 – 120 см высотой, распространённый повсеместно в европейской части России, в Западной и Восточной Сибири, реже в Средней Азии. Ксеромезофит, в равной степени характерен как для естественной степной флоры, так и рудеральной (Немерешина, 2014). Цветет со второй половины мая до конца лета. Имеет приятный бальзамический запах и горький вкус.

Обычное и массовое растение, особенно для мест с нарушенным растительным покровом: загонов, выгонов, залежей, обочин дорог, пустырей и прочее. Входит в состав многих луговых сообществ, встречается на опушках, лесосеках, в зарослях кустарников; хорошо развивается на бедных почвах. На лугах часто растет вместе с видами лютика, клевера, мышиным и заборным горошком, видами вероники, сушеницей (Cnshb, 2017).

Все растение опушено мягкими длинными белыми волосками. Листья в очертании ланцетные или продолговато-ланцетные, плоские, трижды перисторассеченные, с многочисленными сегментами в верхней части центрального стержня. Прикорневые и нижние стеблевые листья черешковые; стержень листа 0,6-2 мм шириной, сегменты первого порядка 5-25 мм длиной, размещены на стержне поочередно или супротивно на расстоянии 2-10 мм друг от друга. Сегменты второго порядка очередные или супротивные, длинные, конечные дольки листьев линейно-ланцетные или ланцетные, 0,2-0,5 мм шириной, оканчивающиеся коротким 0,1-0,2 мм длиной, хрящевидным острием; верхние стеблевые листья 1,6-16 см длиной и 0,5-2,6 см шириной, со стержнем 1-2 мм шириной, с коротким, 0,2-0,3 мм длиной, острием. Корзинки в рыхлых неравновысоких сложных щитках; обертки продолговатые, до почти яйцевидных, 3,4-5,5 мм длиной, 2-4 мм шир. Цветоложе от выпуклого до конического; листочки обертки продолговато-эллиптические, 1,5-4 мм длиной 0,9-1,3 мм шириной, зеленые, килеватые, с темно-бурой пленчатой каймой по

краям. Язычки краевых цветков округло-овальные, почти округлые, на верхушке с 3, реже с 1-2 зубцами, обычно белые, реже розовые или пурпуровые. Семянки 1,8-2 мм длиной (Шауло, 1997).

Популяции тысячелистника обыкновенного в г.Красноярске и его округе, произрастающие на лугах с различным уровнем увлажнения, а также в антропогенно-нарушенных сообществах, не имеют четких морфологических отличий друг от друга. Более того, особи, произрастающие в нарушенных местообитаниях, характеризуются относительно крупными размерами вегетативных органов. Снижение проективного покрытия, урожайности, размеров растений зафиксировано для лесных фитоценозов. (Слатинская, 2016).



Рисунок 1 - Тысячелистник обыкновенный. А — цветущее растение; 1 — сегмент листа; 2 — нераскрытая корзинка; 3 — раскрытая корзинка; 4 — то же в продольном разрезе; 5 — ложноязычковый цветок; 6 — нераскрытый трубчатый цветок с прицветником; 7 — раскрытый трубчатый цветок; 8 — то же в продольном разрезе; 9 — отдельная тычинка; 10 — пыльцевое зерно; 11 — верхняя часть столбика с двухлопастным рыльцем; 12 — плод (семянка); 13 — то же в поперечном разрезе; 14, 15 — то же в продольном разрезе, вид с разных сторон. (Ф.Келер, 1887)

Тысячелистник азиатский имеет прямые, простые, олиственные стебли высотой до 80 см, с укороченными веточками в пазухах верхних листьев, у основания часто с перисторазделенными ушками. Стержень листа цельный, 1-1,5 мм шириной. Сегменты в очертании широкотреугольные, яйцевидные или продолговатые, 1,5-8,5 мм длиной, 1-6 мм шириной, сложенные вдоль стержня, расставленные, не налегающие друг на друга, с обеих сторон точечно-ямчатые, надрезанные или разделенные на обратнойяйцевидные, яйцевидные, до продолговатых, дольки, 1-3 мм длиной, 0,5-1,6 мм шириной (реже сегменты цельные), последние 2-9 (11) на верхушке голые и оттянутые в короткое, 0,2 мм длиной, хрящеватое острие. Корзинки на тонких и сравнительно длинных ножках 2-6 мм длиной, 0,2-0,3 мм в диаметре, собраны в сложные плоские многоцветковые щитки; цветоложе от выпуклого до конического (в зависимости от стадии созревания семян). Обертки продолговато-яйцевидные, 2-4 мм длиной, 1,5-2 мм шириной; листочки обертки яйцевидные или продолговатые, 1,5-2 мм длиной, 0,6-1 мм шириной. С узкой белой пленчатой каймой. Язычки краевых цветков поперечно-овальные, мелкие, 0,7-1,5 мм длиной, 0,9-1,7 мм шириной, с 3 округлыми зубцами, желтые. Семянки продолговато-клиновидные, 0,7-1,3 мм длиной, 0,3-0,4 мм шириной, продольно-морщинистые, серые с белой окантовкой (Шауло, 1997).

A. asiatica нетребователен к богатству почвы, но избегает чрезмерно кислых и солонцеватых почв. Стоек к вытаптыванию. Вид также не требователен к теплу и влаге, но не встречается при сильном переувлажнении. Растение чувствительно к затенению, предпочитает открытые солнечные места. Характерной чертой *A. asiatica* является присутствие его во временных сообществах, сформировавшихся на нарушенных землях. Обилие вида снижается по мере заселения таких участков другими видами. Проявляет черты R-стратега, хотя не является пионерным растением. Он появляется на регенерационных нишах, когда формируются пригодные для него условия – тонкий почвенный слой, накапливающий влагу для развития растения в проростковом и ювенильном периодах (Скрипчинская, 2004).

Тип местообитания не имеет существенного влияния на урожайность *A. asiatica*. Его обилие и продуктивность прежде всего зависят от плодородия почв, температурного режима и влагообеспеченности в вегетационный период. (Афанасьев, 1961; Чудновская, 2013).

Согласно «Флоре Сибири» (пункты 1-6) (1997) и «Флоре СССР» (пункты 7-9) (1954) между *T.* азиатским и *T.*обыкновенным имеются следующие отличия:

1) Высота *t.*азиатского может достигать 80 см, *t.*обыкновенного - до 100 см.

2) У *t.*азиатского укороченные олиственные побеги встречаются в пазухах верхних листьев, у *t.*обыкновенного они могут быть так же и в пазухах средних листьев.

3) Щитки корзинок у *t.*азиатского сложные и плоские, у *T.*обыкновенного – они рыхлые.

4) Язычки краевых цветков у *t.*азиатского поперечно-овальные, мелкие, 0,7-1,5 мм длиной, 0,9-1,7 мм шириной, с 3 округлыми зубцами, желтые. У *t.*обыкновенного язычки краевых цветков округло-овальные, почти округлые, на верхушке с 3, реже с 1-2 зубцами, обычно белые, реже розовые или пурпуровые.

5) Семянки у *t.*обыкновенного значительно больше – 1,8-2 мм длиной, у *t.*азиатского – 0,7-1,3 мм длиной, но с отличием – они продольно-морщинистые с белой окантовкой.

6) Произрастают оба вида в разных местообитаниях. *T.*азиатскому свойственен рост в сосновых борах и на речных песках, а *t.*обыкновенному – в лесах, на лугах, полях, вдоль дорог и в огородах.

7) Стебель *t.*обыкновенного более менее опушен мягкими длинными белыми волосками, *t.*азиатский имеет серый от спутанных белых волосков стебель.

8) Листья у *t.*обыкновенного дважды-трижды перисторассеченные, у *t.*азиатского – дважды перисторассеченные.

9) Обертки т.обыкновенного продолговатые до почти яйцевидных, обертки т.азиатского – бокальчатые.

1.3. Изучение генетического полиморфизма популяций тысячелистника

В последнее время является актуальным проведение генетических исследований видовой разнообразия и генетического полиморфизма видов и популяций с использованием различных ДНК-маркеров. Существует две группы молекулярных маркеров: монолокусные и мультилокусные. Монолокусные маркеры наследуются чаще всего по кодоминантному типу, мультилокусные – по доминантному. К монолокусным относятся такие маркеры, как SSR, STS, SSCP, CAPS и SCAR. К мультилокусным относятся - RAPD, ISSR, AFLP, SSAR и IRAP. Нами были использованы мультилокусные молекулярные маркеры ISSR (Новиков, 2011)

Межмикросателлитные последовательности (ISSR –Inter-SimpleSequenceRepeat) – маркеры, которые были разработаны как альтернатива RAPD-анализу. Для создания ISSR-маркеров используют праймеры, комплементарные микросателлитным повторам (4–12 единицам повтора) и несущие на одном из концов последовательность из двух-четырех произвольных нуклеотидов (так называемый «якорь»). Такие праймеры позволяют амплифицировать фрагменты уникальной ДНК, которые находятся между двумя достаточно близко расположенными микросателлитными последовательностями. В результате амплифицируется большое число фрагментов, представленных на электрофореграмме дискретными полосами (Новиков 2010)

Полученные ПЦР-продукты относятся к маркерам доминантного типа наследования, полиморфизм которых тестируется по наличию/отсутствию полосы. Для создания ISSR-маркеров не требуется предварительного знания нуклеотидной последовательности исследуемой ДНК (Новиков, 2011).

ISSR-маркеры позволяют одновременно определить изменчивость по группе не связанных между собой локусов, что особенно ценно для сохранения и использования генетических ресурсов. Такая информация дает возможность оценить генетический дрейф, происходящий в экосистемах, а также эффективно проводить мониторинг популяций редких и исчезающих видов растений, находящихся на охраняемых территориях (Новиков, 2010).

Основные преимущества ISSR-метода:

– данный метод обладает хорошей воспроизводимостью и может быть с успехом использован для выявления межвидовой и внутривидовой генетической изменчивости, идентификации групп растений различного таксономического ранга, а в ряде случаев и для индивидуального генотипирования;

– ISSR-маркеры довольно дешевы в использовании, не требуют предварительных знаний о последовательности ДНК и вместе с тем дают более воспроизводимые результаты, чем RAPD-маркеры (Календарь, 2002).

Следует отметить, что в геномах растений и животных количество микросателлитных повторов велико, что делает этот метод удобным для генетического анализа. Микросателлитные последовательности окружают многие гены и могут использоваться как якорные последовательности к этим генам.

Но для ISSR-маркеров локализация в геноме продуктов амплификации, так же, как и функция, остаются неизвестными, что является существенным недостатком этого метода. ISSR-метод используется для выявления генетического полиморфизма растительного материала, для идентификации генетического полиморфизма видов растений с различными целями (классификация, идентификация, паспортизация и т. д.) как в природных популяциях, так и у культурных растений. Помимо оценки биоразнообразия, молекулярные маркеры применяются для исследования происхождения, доместикировки видов и их последующей миграции, для географической локализации популяций, имеющих разное генетическое происхождение,

получения информации по филогенетическим взаимоотношениям между видами. ISSR-метод в филогенетике подходит главным образом для близкородственных видов.

Исследований, посвященных изучению генетического полиморфизма растений рода *Achillea*, сделано сравнительно мало. В основном данные исследования касаются тысячелистника обыкновенного, ввиду его распространенности, тысячелистник же азиатский зачастую не включается в список собранных образцов из-за его территориальной специфичности.

Исследования с использованием ISSR- и SSR-маркеров были проведены тремя группами ученых из Ирана (Gharibiatal, 2011; Rahimmalekatal, 2011; Farajpour, 2012). Далее будут представлены сведения из этих работ.

В работе Gharibi с соавторами (2011) для оценки генетического разнообразия нескольких популяций тысячелистника из различных географических регионов Ирана использовались как ISSR, так и морфологические маркеры. Четырнадцать праймеров были использованы для амплификации 228 полос, из которых 199 (87,28%) были полиморфными. Кластерный анализ и метод главных компонент показали, что большинство генотипов были сгруппированы по географическим регионам. Минимальное генное разнообразие наблюдалось для северо-западной популяции ($0,021 \pm 0,015$), а наибольшее – для северной ($0,129 \pm 0,08$). Результаты морфологического анализа в большинстве случаев соответствовали результатам, полученным с помощью молекулярного анализа.

В работе Rahimmalek с соавторами (2011) были впервые разработаны SSR-маркеры для генома *A. millefolium*. Были сконструированы три геномные библиотеки тысячелистника, обогащенные микросателлитными мотивами AG, AC и ATG. Всего было получено 30 пар праймеров, из которых 16 были полиморфными в 26 образцах *A. millefolium*. Один образец *A. tenuifolia* также был включен для оценки применимости новых праймеров SSR для других видов. Среднее число аллелей SSR-маркеров составляло 8,5 на локус и варьировалось от 2 до 14. Наблюдаемая гетерозиготность (H_O) варьировала от 0

до 0,96 со средним значением 0,52, а ожидаемая гетерозиготность (H_E) изменялась от 0,07 до 0,49 со средним значением 0,39. Среди праймеров Am142 показал самое высокое содержание полиморфной информации (PIC), а самое низкое значение было получено для праймера Am59 со средним значением 0,33. Три локуса (AmK59, AmK344 и AmK329) значительно отклонялись от закона Харди-Вайнберга, и один локус (Am344) мог иметь нулевые аллели. Кластерный анализ показал распределение образцов *A. millefolium* в соответствии с их географическим положением. *A. tenuifolia* полностью отделен от генотипов *A. millefolium*.

В третьей работе Farajrouf с соавторами (2012) проанализировали 37 образцов *Achillea millefolium*, из разных провинций Ирана с использованием ISSR-маркеров. В общей сложности семь праймеров ISSR генерировали 72 амплифицированных фрагмента, большинство из которых были полиморфными. На дендрограмме сходства выявлено шесть групп. Результаты кластеризации показали, что *A. millefolium* subsp. *elpursensis*, эндемичный для Северного Ирана, отделен от других генотипов. Метод главных компонент (PCA) подтвердил результаты кластеризации.

Выводы

1. Установлено, что фитоценотические ареалы *Achillea millefolium* и *Achillea asiatica* пересекаются. Общими местообитаниями тысячелистников являются луговые сообщества, обочины дорог, зоны экотона. В лесных сообществах произрастает *A. millefolium*, а в степных – *A. asiatica*.

2. Морфологическим анализом установлено, что четкая дифференциация двух видов тысячелистника возможна для популяций, имеющих крайние значения вегетативных признаков, таких как высота общего соцветия, ширина рахиса с крылом, показатели листьев серединой и верховой формаций и количество трубчатых цветков. Популяции, состоящие из крупных особей и произрастающие в лесных сообществах, относятся к виду *A. millefolium*, а популяции остепненных лугов – к *A. asiatica*. В общих для двух видов местообитаниях произрастают либо особи двух видов, либо их гибриды.

3. Высокий уровень генетического полиморфизма характерен для популяций тысячелистника обыкновенного (Am1 и Am3). Популяции *Achillea millefolium*, *A. asiatica* и *A. kuprijanovii* характеризуются высоким уровнем генетической дифференциации ($G_{st}=0,2697$) и четко разделяются по систематическому принципу.

Список литературы

1. Athanassova-Shopova, Raussinov. Pharmacological studies of bulgarian plants with a view to their anticonvulsive effect. «Докл. Болг. АН», 1965, 18, 7
2. Антипова Е.М. Флора северных лесостепей Средней Сибири : автореф. дис. ... д-р биол. наук : 03.00.05 / Е.М. Антипова. – Томск, 2008. – 35 с.
3. Антипова, Е.М. Флора внутриконтинентальных островных лесостепей средней Сибири: монография / Е.М.Антипова // Краснояр. Гос. Пед. Ун-т им. В.П.Астафьева. – Красноярск, 2012. – 662 с.
4. Афанасьев К. С. Род тысячелистник–*Achillea* L / К. С. Афанасьев // Флора СССР. М. – 1961.
5. Афанасьев, К. С. Флора СССР. М. Л. Т. 24 / К. С. Афанасьев - : Издательство Академии наук СССР, 1957 – 262с.
6. Farajpour M., Assesment of genetic diversity in *Achilleamillefolium* accessions from Iran using ISSR marker / M. Farajpour. [atall] // *Biochemicalsystematicsandecology*. 2012. – Vol. 43. – pp. 73-79.
7. Gharibi S., Assesmentog genetic diversity in *Achilleamillefolium* subsp. *Millefolium* and *Achilleamillefolium* subsp. *Elbursensis* using morphological and ISSR markers / S.Gharibi, M.Rahimmalek, M.M.Majidi, V.E.S.Tabatabaei // *Journal of Medical Plants Research*. 2011. – Vol.5(11). – pp. 2413-2423.
8. Общие сведения о районе [Электронный ресурс] : официальный сайт шушенского района // Муниципальное образование Шушенский район официальный сайт. – Режим доступа: <http://arshush.ru/index.php>
9. Орешкова, Н.В. Методы Молекулярно-генетических исследований [Электронный ресурс]: учеб.-метод. пособие к лабораторным занятиям / сост. Н.В. Орешкова, И.Е.Ямских. – СФУ, Красноярск. – 2018.
10. Орлова, Н.И. Конспект флоры Вологодской области: монография / Н.И.Орлова. – Санкт-Петербург : общ-во естествоиспытателей, 1993. – 262 с.

11. Rahimmalek. M. Development and characterization of microsatellite markers for genomic analysis of yarrow (*Achillea millefolium* L.) /M.Rahimmalek, B.E.S.Tabatabaei, M.Khorrami // Genes&Genomics. – 2011.
12. Rogers, S.O. Extraction of total cellular DNA from plants, algae and fungi / S.O. Rogers, A.J. Benedich // In: S.B. Gelvin, R.A. Schilperoort (eds.) Plant Molecular Biology Manual. Dordrecht. Kluwer Academic Press, 1994. - P. 1-8.
13. The Plant List [Электронный ресурс]: *Achillea* // The taxonomic hierarchy. Режим доступа: <http://www.theplantlist.org>
14. Баранов А.А. Птицы Алтай-Саянского экорегиона: пространственно-временная динамика биоразнообразия : монография / А.А.Баранов ; под общ.ред. д-ра биол. наук, профессора Ц.З.Доржиева. – Красноярск :КрасГПУ им. В.П. Астафьева, 2012. – 32 с. ил.
15. Борский, М.Н. Морфологический полиморфизм *Achillea millefolium* S.L. в Самарской области / М.Н.Борский // Вестник МГОУ.Серия «Естественные науки». – 2014. - №1. – с. 29-42
16. Воронов, А.Г. Геоботаника / А.Г. Воронов. – Москва : Высшая школа, 1973. – 384с.
17. Злобин Ю.А. Принципы и методы изучения ценологических популяций растений / Ю.А. Злобин. – Казань: КГУ, 1989. – 147 с.
18. Календарь Р. Н., Глазко В. И. Типы молекулярно-генетических маркеров и их применение // Физиология и биохимия культурных растений. 2002. Т. 34. С. 141–156
19. Калинкина, Г.И. Химический состав эфирных масел некоторых видов тысячелистника флоры Сибири / Г.И.Калинкина, А.Д.Дембицкий, Т.П.Березовская// Химия растительного сырья. – 2000. - №3.- С.13-18.
20. Ковалева Н.А. Схема территориального планирования Ширинского района : пояснительная записка / Ковалева Н.А. – Красноярск. – 2010. – Т.1. – 40 с.

21. Комаров, В. Л. Флора СССР т. 26 : энциклопедия / В. Л. Комаров – Ленинград: Издательство Академии наук СССР, 1961 – 919с.
22. Кондратюк Е.М. Род *Achillea* L. // Флора УРСР [Т. 11]. – Київ: Видавництво АН УРСР, 1962. – С. 235–265
23. Копынева, Г.А. Род *Achillea* L. – тысячелистник / Г. А. Копынева // Флора Красноярского края. Томск. - 1980. - №.10. - С. 28-29.
24. Корытный, Л.М. Реки Красноярского края / Л.М. Корытный. – Красноярск: кн. издво, 1991.-141с.
25. Кириллов, М.В. Особенности природы окрестностей г. Красноярска / М.В. Кириллов. – Красноярск: кн. Издво, 1971.-130с.
26. Кириллов, М.В. География Красноярского края / М.В. Кириллов, П.Г. Матушанская. - Красноярск: кн. издво, 1964.-61с.
27. Клоков М.В., Критская Л.И. Род *Achillea* L. // Тысячелистники. – Киев: Наукова думка, 1985. – С. 198-202.
28. Колосова В. Б. Этноботанические заметки. VII. Тысячелистник / В. Б. Колосова //Славяноведение. – 2012. – №. 6. – С. 35-46.
29. Крылов П.Н., Сергиевская Л.П. Флора Западной Сибири / П.Н. Крылов, Л.П. Сергиевская //Томск, 1930–1964. Т. 1-12.
30. Кутлунина Н.А. Молекулярно-генетические методы в исследовании растений / Учеб.-метод. Пособие // сост. Н.А. Кутлунина, А.А. Ермошин. – Изд-во УрФУ, Екатеринбург. – 2017. – 145 с.
31. Мамаев С.А. Формы внутривидовой изменчивости древесных растений. М : Наука, 1973. – 284 с.
32. Манханов, А.Д. Интродукция многолетних травянистых растений в озеленении урботерриторий в условиях западного Забайкалья :дис. ... д-ра биол. наук : 06.01.01/ МанхановАрсаланДашеевич. – Улан-Удэ, 2015. – 120 с.
33. Махлаюк В. П. Лекарственные растения в народной медицине. / В. П. Махлаюк. – Нива России, 1992. – 478 с

34. Махлаюк В. П. Лекарственные растения в народной медицине. / В. П. Махлаюк. – Нива России, 1992. – 478 с
35. Минаева, В.Г. Лекарственные растения Сибири /В.Г.Минаева. – Новосибирск : Изд-во «Наука» сибирское отделение, 1970. – 272 с.
36. Немерешина, О.Н. Анатомо-морфологические изменения тысячелистника обыкновенного в техногенной зоне / О.Н.Немерешина, Н.Ф.Федерович, А.В.Филиппова //Известия ОГАУ. – 2014. - с. 158-161.
37. Новиков П. С. Подбор ISSR-праймеров для фрагментного анализа ДНК сосны обыкновенной // Научному прогрессу – творчество молодых : сб. материалов междунар. молодеж. научн. конф. по естеств.-науч. и техн. дисциплинам, 15–16 апр. 2011 г. : в 3 ч. Йошкар-Ола : Марийский гос. техн. ун-т, 2011. Ч. 3. С. 35–36.
38. Новиков П. С. и др. Оптимизация проведения ПЦР-реакции при ISSR-анализе ДНК плюсовых деревьев сосны обыкновенной / П. С. Новиков //Плодоводство, семеноводство, интродукция древесных растений. – 2011. – №. XIV. – С. 79-81.
- Новиков, П.С. Молекулярно-генетические исследования плюсовых деревьев сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*) ISSR-маркерами / П.С. Новиков, Т.Н. Милютин, О.В. Шейкина // Сборник статей по материалам III Всероссийской научно-практической конференции «Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного мира», Волгоград, 4-6 августа 2010. – Волгоград: AVATARS, 2010. – С. 339-343.
39. Поликарпов, Н.П. Климат и горные леса Южной Сибири / Н.П. Поликарпов, Н.М. Чибаква, Д.И. Назимова. 0 Новосибирск: Наука, 1986.-226с.
40. Протопопов, В.В. Биоклимат темнохвойных горных лесов Южной Сибири / В.В. Протопопов. – М.: Наука, 1965.-181с.

41. Растительные ресурсы России / отв. ред. А.Л.Буданцев. – Товарищество научных изданий КМК Санкт-Петербург-Москва, 2012.- 160 с.
42. Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование : Семейство Asteraceae / Рос. АН, Ботан. ин-т им. В. Л. Комарова; [Сост. Г. М. Балабас и др.]; Отв. ред. П. Д. Соколов. - СПб. : Наука : С.-Петербург.изд. фирма, 1993. - 349 с.
43. Род тысячелистник (ахилея) – *Achillea* L. [Электронный ресурс] «МЕГАЭНЦИКЛОПЕДИЯ КИРИЛЛА И МЕФОДИЯ» - Электрон. Энциклопед. От 06.09.2017 – Режим доступа: - <http://megabook.ru/>
44. Роллов, А.Х. Дикорастущие растения Кавказа / А.Х.Роллов. – Тифлис: Типография К.П.Ковловского, 1908. – 253 с.
45. Седельников, В.П. Высокогорная растительность Алтае-Саянской горной области / В.П. Седельников. – Новосибирск: Наука, 1988.-222с.
46. Сергиевская, Л. П. Об *Achilleasetacea* Walst.et Kit. в Сибири / Л. П. Сергиевская // Систематические заметки по материалам Гербария им. П.Н. Крылова при Томском гос. ун-те. - 1946. - №1. – С. 5-7
47. Соколов П. Д. Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование: Семейство Asteraceae. – СПб.: Наука, 1993. – 349 с. Енисейский энциклопедический словарь / Под ред. Н.И.Дроздова, Красноярск, 1998.-735с.
48. Скворцов В.Э. Иллюстрированное руководство для ботанической практики и экспериментов в Средней России. – М.: Т-во научных изданий КМК, 2004. – 387 с
49. Скрипчинская Е.А. Изучение ресурсов лекарственных растений на ландшафтном уровне (на примере тысячелистника обыкновенного) / Е.А. Скрипчинская. // Проблемы экологической безопасности и сохранения природно-ресурсного потенциала: матер. науч.-практич. конф. Ставрополь, - 2004 г. - 2004. - С. 76–79.

50. Слатинская, О.В. – Морфологическая изменчивость и оценка урожайности популяции *Achilleamillefolium* L. *Sensulato* в окрестностях г.Красноярска / О.В. Слатинская, И.Е. Ямских // Материалы сборника Флора и растительность Сибири и Дальнего Востока: Чтение памяти Л.М. Черепнина и материалы Шестой Всероссийской конференции с международным участием, посвященные 110-летию со дня рождения Л.М. Черепнина и 80-летию Гербария им. Л.М. Черепнина (KRAS)/ отв. ред. Е.М. Антипова; ред.кол.; Краснояр. гос. ун-т им. В.П. Астафьева. - Красноярск, 2016. - 334 с.
51. Смагин, В.Н. Типы лесов гор Южной Сибири / В.Н. Смагин, С.А. Ильинская. – Новосибирск: Наука, 1980.-336с.
52. Степанов, Н.В. Разнообразие тысячелистников (род *Achillea*L. – Asteraceae) в приенисейских Саянах / Н.В.Степанов // Вестник КрасГАУ. – 2016. - №6. - с.31-38.
53. Степанов, Н.В. Сосудистые растения Приенисейских Саян : монография / Н. В. Степанов. – Красноярск :Сиб. федер. ун-т, 2016. – 252 с.
54. Турова А.Д. Лекарственные растения СССР и их применение. / А.Д. Турова, Э.Н. Сапожникова. - М.: «Медицина», 1984. Т.86. – 304с.
55. Тысячелистник обыкновенный (*A. millefolium* L.) [Электронный ресурс] :Электронная сельскохозяйственная библиотека Знаний - Фонд фундаментальных исследований, грант № 00-07-90208 - от 06.09.2017 – Режим доступа: <http://www.cnshb.ru/>
56. Тысячелистник обыкновенный. *Achilleamillefolium* L. (Аналитический обзор) [Электронный ресурс] : Р. В. Куцик, Б. М. ЗузукИвано-Франковская государственная медицинская академия от 06.09. 2017 // «Провизор». – режим доступа: <http://www.provisor.com.ua/>

57. Флора Красноярского края. Asteraceae (Compositae). Выпуск X / ред. А.В. Положий. - Томск: издательство томского университета, 1980. – 67 с.
58. Флора СССР. В 30-ти томах / Начато при руководстве и под главной редакцией акад. В. Л. Комарова; Редактор тома Б. К. Шишкин. — М.— Л.: Издательство Академии Наук СССР, 1954. — Т. XXI. — С. 215—216. — 703 с.
59. Хасанова, З.М. – Из опыта выращивания *E.purpurea* в республике Башкортостан / З.М.Хасанова, Л.Г.Наумов, Н.А.Заманова, Л.Ю.Маркелия. – Уфа, 2003.- с.38.
60. Хасанова, З.М. – Морфо-физиологические особенности роста и развития лекарственного растения тысячелистника обыкновенного *Achillea millefolium*/З.М.Хасанова, Л.А.Хасанова, Л.Г.Наумов, Л.Ю.Самойлова // Вестник ОГУ. – Уфа, 2009. - №6.- с.409-411.
61. Чудновская, Г.В. – Тысячелистник азиатский (*Achillea asiatica* Serg.) в Восточном Забайкалье / Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – Оренбург: ОГАУ, - 2013, с 28-31.
62. Шауло, Д.Н. Род *Achillea* L. – тысячелистник / Д. Н. Шауло // Флора Сибири. Под ред. И.М. Красноборова. Новосибирск. - 1997. - Т. 13. - С. 65-70.
63. Шемберг, М.А. Береза каменная. Систематика, география, изменчивость / М.А. Шемберг. – Новосибирск : Наука, 1986. – 174 с.
64. Шмидт, В.М. Математические методы в ботанике / В.М Шмидт.- Ленинград : ЛГУ, 1984. – 288 с.
65. Юсубов М. С. и др. Химический состав эфирного масла тысячелистников обыкновенного (*Achillea millefolium* L.) и азиатского (*Achillea asiatica* Serg.)/ М. С. Юсубов //Химия растительного сырья. – 2000. – №. 3.
66. Ярошенко, П.Д. Геоботаника / П.Д. Ярошенко. – Москва. – Л., 1961. – 474с.

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт Фундаментальной Биологии и Биотехнологии
институт
Кафедра водных и наземных экосистем
кафедра

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой


М.И. Гладышев

подпись

« 28 » июня 2019 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

060301.10 - Биология

Морфолого-генетический анализ популяций *Achillea millefolium* и *Achillea asiatica* произрастающих в южной части Красноярского края и республике Хакасия

Руководитель

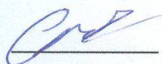


д.б.н., профессор Ямских И. Е.

подпись, дата

должность, ученая степень фамилия, инициалы

Выпускник



Стоянова Э.Е.

подпись, дата

фамилия, инициалы

Красноярск 2019

Доля в
тексте

62

18

92

7

7

4