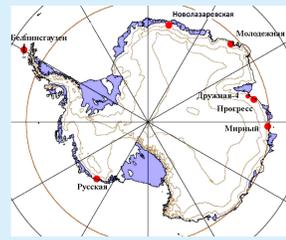


Возможность использования последовательностей некоторых ядерных и хлоропластных генов для видовой идентификации мохообразных (на примере растений Антарктики)

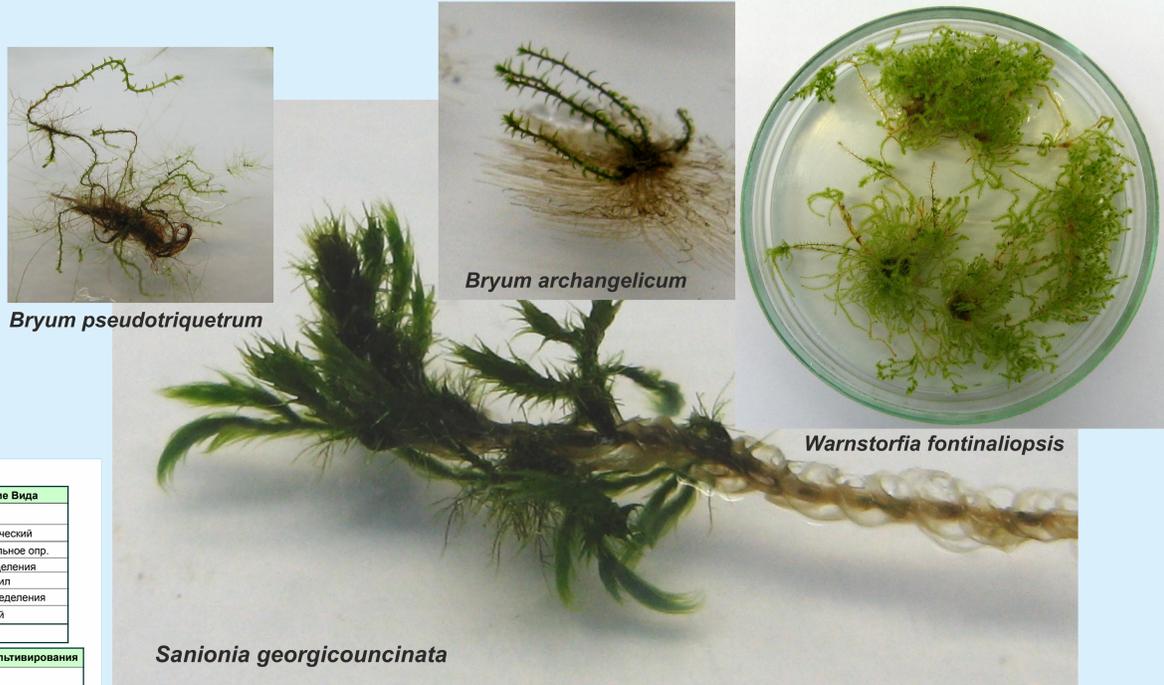


Дуплий В.П., Матвеева Н.А.

Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины

ДНК-штрихкодирование является перспективным методом видовой идентификации живых организмов. Исследования в этом направлении были начаты около десяти лет назад работами П.Хеберта с соавторами. Сейчас большое внимание уделяется выяснению, какой именно участок ДНК может быть использован в качестве ДНК-штрихкода растений. Предлагаются различные участки ДНК, в частности, последовательности *rbcL*, *matK*, *atpB-rbcL*, *trnL-trnF*, *rpoB*, *rpoC1*, *trnH-psbA*, *atpF-atpH* (хлоропластная ДНК), а также ядерный спейсер ITS2. Мы попытались определить, могут ли последовательности *rbcL* и ITS2 быть использованы для видовой идентификации мохообразных.

Материалом служили культивируемые *in vitro* растения *Warnstorfia fontinaliopsis* (Müll.Hal.) Ochyra, *Bryum pseudotriquetrum* (Hedw.) G. Gaertn., B. Mey. & Scherb., *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb., *Sanionia georgicouncinata* (Müll. Hal.) Ochyra, *Polytrichum juniperinum* Hedw., которые выращивали на агаризованной среде МС (Murashige & Skoog, 1962) при +24°C и 16-часовом световом фотопериоде. Нативные образцы этих растений были собраны в 2009–2011 г.г. на антарктическом острове Галиндез и в оазисе Ширмахера (Земля Королевы Мод). Использовали описанные ранее пары праймеров для *rbcL* (Kress & Erickson, 2007) и ITS2 (Chiou et al., 2007).

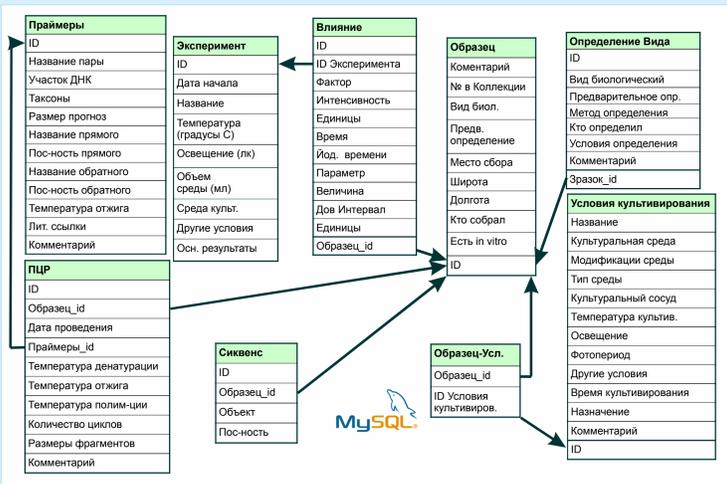


Использованное программное обеспечение

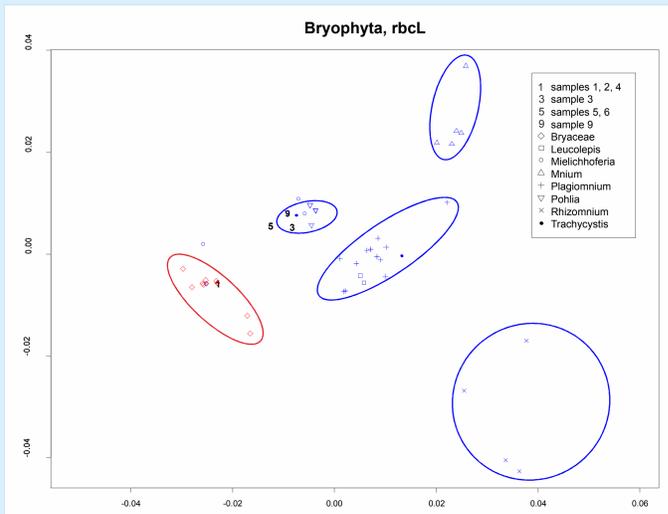
- CLC Main
- Workbench 6
- BLAST
- BioPerl
- MEGA 5
- R

Для базы данных

- MySQL
- PHP
- phpMyAdmin



Для хранения информации о коллекции антарктических растений была создана реляционная база данных (упрощенная ее структура приведена слева). В связанных таблицах хранятся сведения о точном месте сбора образцов, способах их видовой идентификации, условиях культивирования и секвенирования, а также об экспериментах на устойчивость к абиотическим стрессам, проведенных с ними.



Для нашего образца *W.fontinaliopsis* в Генбанке не было найдено достаточно близких сиквенсов изучаемых участков ДНК. Растения этого рода, к сожалению, до сих пор мало изучены. Другие девять образцов были определены с точностью до рода по спейсеру ITS2. Для образца *B.pseudotriquetrum* было обнаружено 34 совпадающих на изучаемом участке *rbcL* последовательности, принадлежащие к различным родам. Наиболее близкие последовательности ITS2 относятся к *B.pseudotriquetrum*.

Последовательность гена *rbcL* наших растений *P.nutans* совпала с имеющейся в Генбанке для того же вида. В то же время последовательность ITS2 этого образца была идентична двум записям, соответствующая различным видам, *P.nutans* и *P.proligera*.

Сиквенс *rbcL* нашего образца *S.georgicouncinata* отличался от имеющейся в Генбанке последовательности *S.uncinata* по 2 п.н., а наиболее близкий к последовательности ITS2 нашего образца соответствовал трем видам рода *Sanionia* (*S.georgicouncinata*, *S.symmetrica*, *S.orthothecioides*).

Только сравнение последовательностей антарктического образца *P.juniperinum* указывает на его принадлежность к данному виду (по участкам *rbcL* и ITS2) или к близкому ему *P.strictum* (только по *rbcL*). Повидимому, стоит согласиться с утверждением, высказываемым во многих работах, что одного участка ДНК не достаточно для точной видовой идентификации растений.

Таким образом, показано, что ни фрагмент последовательности хлоропластного гена *rbcL*, ни последовательность ядерного спейсера ITS2 не могут служить для точной видовой идентификации мохообразных. Однако такой подход может быть применен для предварительного определения таксона растения или как дополнительный метод идентификации.

