

<sup>1,2</sup>Сағындықова М.С.,  
<sup>1</sup>Иманбаева А.А.,  
<sup>2</sup>Сарсенбаев К.Н.,  
<sup>3</sup>Ахметоллаев И.А.

<sup>1</sup>РГП «Мангышлакский  
экспериментальный ботанический сад»,  
Казахстан, г. Актау  
<sup>2</sup>Евразийский Национальный  
университет им. Л.Н. Гумилева,  
Казахстан, г. Астана  
<sup>3</sup>РГП «Национальный центр  
биотехнологии», Казахстан, г. Астана

### **Популяционная изменчивость геномной ДНК *Ferula foetida* (Bunge) Regel. в условиях пустыни Мангистау**

<sup>1,2</sup>Sagyndykova M.S.,  
<sup>1</sup>Imanbaeva A.A.,  
<sup>2</sup>Sarsenbaev K.N.,  
<sup>3</sup>Ahmetollaev I.A.

<sup>1</sup>Mangyshlak Experimental Botanical  
Garden, Kazakhstan, Aktau  
<sup>2</sup>G.N.Gumilyov Eurasian National  
University, Kazakhstan, Astana  
<sup>3</sup>National Center of Biotechnology,  
Kazakhstan, Astana

### **Population variability of *Ferula foetida* genomic DNA, growing in arid Mangistau environment**

<sup>1,2</sup>Сағындықова М.С.,  
<sup>1</sup>Иманбаева А.А.,  
<sup>2</sup>Сарсенбаев К.Н.,  
<sup>3</sup>Ахметоллаев И.А.

<sup>1</sup>РМК «Маңғышлақ тәжірибелік  
ботаникалық бағы» Қазақстан, Актау қ.  
<sup>2</sup>Л.Н. Гумилев атындағы  
Еуразия ұлттық университеті,  
Қазақстан, Астана қ.  
<sup>3</sup> РМК «Ұлттық биотехнология центрі»,  
Қазақстан, Астана қ.

### **Маңғыстаудың шөлді аймақтарында өсетін *Ferula foetida*-ның гендік ДНҚ-ның популяциондық өзгергіштігі**

В сравнительном плане изучена межвидовая близкородственная популяционная изменчивость геномной ДНК *Ferula foetida* (Bunge) Regel., произрастающей в пустыне Мангистау с различным уровнем эдафических факторов условия произрастания.

Для изучения геномной ДНК использовали свежие листья растений. Выделение ДНК проводили по модифицированному методу Holmes – Bonner. Для проведения ПЦР с геномной ДНК растений были отобраны 5 из 30 RAPD-праймеров. Получено 76 RAPD-маркерных бэндов, из которых 72 бэнда оказались полиморфными, а 4 бэнда – конститутивными для всех образцов. С помощью кластерных методов анализа и программы Popgen 32 построена дендрограмма, отражающая степень различий или сходства между RAPD-спектрами исследуемых объектов.

В результате проведенных исследований была обнаружена высокая межвидовая и популяционная изменчивость ферулы, обусловленная генетическими особенностями и условиями произрастания вида. Полученные результаты могут внести вклад в решение вопросов систематики внутри рода ферула. Данные о составе ДНК у популяций *Ferula foetida*, произрастающих в различных регионах, позволят генотипировать лекарственное сырьё и специи, получаемые из *Ferula foetida* в различных регионах для последующего его применения.

**Ключевые слова:** *Ferula foetida*, ДНК, RAPD, популяционная изменчивость, пустыня, Мангистау.

Interspecific closely-related and population variability of genomic DNA of *Ferula foetida* (Bunge) Regel has been studied in the comparative plan. The plants grow in Mangistau desert with various levels of edaphic environmental factors.

Fresh plants leaves are used for genomic DNA research. DNA was extracted using modified Holmes – Bonner method. 5 out of 30 RAPD primers were selected for PCR with plants genomic DNA. 72 polymorphic and 4 constitutive RAPD-marker bands were obtained for all samples. The phylogenic dendrogram was plotted based on cluster analysis and Popgen 32 software. Dendrogram indicated distinctions or similarity degree between RAPD ranges of the researched objects.

As a result of conducted researches the high interspecific and population variability of *Ferula* was found. It was based on genetic features and growing conditions of species. The results received could make a contribution to the solution of controversial issues in terms of intrageneric systematization. DNA composition data of *Ferula foetida* which are growing in various regions could make possible the genetic typing medicinal raw products and spices came out from *Ferula foetida* in various regions for further practice.

**Key words:** *Ferula foetida*, DNA, RAPD, population variability, arid, Mangistau.

Әсу жағдайларының эдафикалық факторларының деңгейі әртүрлі. Маңғыстаудың шөлді аймақтарында өсетін *Ferula foetida* (Bunge) Regel. өсімдігінің гендік ДНҚ-ның тұраралық жақын туыстық және популяциондық өзгергіштігі салыстырмалы түрде зерттелген.

Гендік ДНҚ-ны зерттеу үшін өсімдіктің жасыл жапырақтарын пайдаландық. ДНҚ-ны бөлу Holmes-Bonner түрлендірілген әдістемесі бойынша жүргіздік. Өсімдіктің гендік ДНҚ-мен полимеразалық тізбек реакциясын іске асыру үшін 30 RAPD-праймер ішінен бесеуі таңдап алынды. Олардан 76 RAPD-маркерлі бэндтер бөлінді. Оның 72 бэнді – полиморфты, ал 4 бэнді барлық нұсқаларға тұрақты болып анықталды. Зерттелген нысандардың RAPD-спектрлерінің арасындағы айырмашылық пен ұқсастық деңгейін дендрограмма көрсетеді.

Жүргізілген зерттеулер нәтижесінде феруланың үлкен тұраралық және популяциондық өзгергіштілігі табылған. Ол түрдің генетикалық ерекшеліктері мен өсіп-өну жағдайларымен шартталған. Зерттеулер нәтижесінде алынған мәліметтер ферула тұқымдасының ішкі систематикасының даулы мәселелерін шешуіне үлесін қосуы мүмкін. Әртүрлі аймақтарда өсетін *Ferula foetida* популяциясының ДНҚ құрамы туралы ақпарат болашақта пайдалану үшін әртүрлі аймақтарда өсетін *Ferula foetida*-дан алынатын дәрілік шикізат пен дәмдеуіштерді генотипілеуіне мүмкіндік береді.

**Түйін сөздер:** *Ferula foetida*, ДНК, RAPD, популяциондық өзгергіштік, шөл, Маңғыстау.

**ПОПУЛЯЦИОННАЯ  
ИЗМЕНЧИВОСТЬ  
ГЕНОМНОЙ ДНК  
*FERULA FOETIDA*  
(BUNGE) REGEL.  
В УСЛОВИЯХ  
ПУСТЫНИ МАНГИСТАУ**

**Введение**

Флора Казахстана богата различными полезными лекарственными растениями. Представители рода *Ferula* L. насчитывают около 170 видов и многие виды с древнейших времен применялись в народной медицине различных государств (Средней Азии, Иране, Китае, Индии и др.) для лечения многих заболеваний [1, 2, 3]. В Казахстане, в том числе в пустыни Мангышлака одним из перспективных видов для введения в практическое использование в качестве лекарственного и пищевого растения является ферула вонючая – *Ferula foetida* (Bunge) Regel. [4, 5]. В пустыни Мангышлака популяции *Ferula foetida* охватывают большие площади и ежегодно хорошо возобновляются в природных условиях, которые позволяют заготавливать значительные объёмы растительного сырья. В различных популяциях морфологический и фитохимический состав растительного сырья его не одинаков, что связано с условиями произрастания и генетическими особенностями популяций. Введение данного вида предполагает изучение общей и сравнительной характеристики вида (биология, экология, распространение, сырьевые запасы) и химического состава отдельных органов.

Ферула вонючая – это многолетнее монокарпические травянистые растения, которые относятся к эфемероидам, т.е. цветут один раз в жизни по достижению определённого возраста соответственно [6]. Кроме того, этот вид рода *Ferula* L. разнообразен в морфологическом отношении, особенно по характеру рассечения листовой пластинки и плоду [7].

Самая всесторонняя классификация рода *Ferula* L., которая была предложена Коровиным Е.П. [8, 9, 10, 11], позже была модифицирована во Флоре СССР. В 80-е годы XX века Сафина Л.К. и Пименов М.Г., Чамберлин Д. и Речингер К. предложили свою классификацию рода, отличающуюся от классификации Коровина Е.П. [12, 13]. Коровин Е.П. утверждал, что *Ferula assa-foetida* является синонимом *Ferula foetida* [10], а Чамберлин Д. и Речингер К. [13], позже и Черепанов С.К. [14], оспаривали это утверждение, считая их разными видами. В 2008 году Курзина-Млыник Р. и др. на основе вариации ядерной

рибосомой ДНК описали филогенетическую позицию рода *Ferula* L., в которой придерживались систематики, предложенной Сафиной Л.К. и Пименовым М.Г. для видов рода ферула, произрастающих на территории современного Казахстана [15].

Таким образом, ферула вонючая, имеет ряд наименований в различных источниках литературы и странах, и однозначного мнения ученых об их видовой схожести или различия на сегодняшний день нет.

В настоящее время в систематике для определения видов наряду с морфологическими и анатомическими признаками используются данные биохимических и генетических исследований [16]. Имеются единичные филогенетические исследования некоторых видов рода *Ferula* L., в том числе место вида в иерархии рода [15, 17], однако изучение геномной ДНК *Ferula foetida* (Bunge) Regel. и его популяционная внутривидовая изменчивость в условиях пустыни Мангистау изучаются впервые.

Генетическое разнообразие популяции определяет её способность адаптироваться к непосредственному окружению в процессе естественного отбора. При низких показателях внутривидового полиморфизма снижается количество возможных комбинаций генов, способствующих адаптации к окружающей среде, что уменьшает вероятность того, что в этой популяции возникнут новые приспособленные генотипы. Таким образом, популяция в естественных условиях нуждается в соответствующем уровне генетического разнообразия для выживания под давлением постоянно меняющихся биотических и абиотических компонентов экосистемы [18].

Полиморфизм растений можно изучать, опираясь на информацию о нуклеотидной последовательности геномной ДНК. В большинстве случаев молекулярные маркеры, используемые для анализа внутривидового и межвидового разнообразия у растений, представляют собой анонимные ДНК-фрагменты, отражающие полиморфизм участков генома, выбранных случайным образом. RAPD-анализ при одновременном анализе образцов может служить своеобразным экспресс-методом выявления генетического полиморфизма, что особенно актуально для малоизученных таксономических групп [19].

Целью исследования являлось сравнительное изучение межвидовой и популяционной изменчивости геномной ДНК *Ferula foetida*

(Bunge) Regel. в природных сообществах пустынной зоны Мангистау.

### Материалы и методы исследования

Для изучения геномной ДНК растений нами были собраны образцы двух видов рода *Ferula* L., произрастающих в условиях пустыни Мангистау – *Ferula foetida* (Bunge) Regel. и *Ferula nuda* Spreng. Образцы растений были собраны в природных популяциях, расположенных в южной части полуострова Мангышлак, который на западе представлен песками Туйесу, на востоке впадиной и песками Карынжарык, на севере граничит с урочищем Караадыр, на юге примыкает к уступу Куланды (в районе возвышенности Тынымбай Шоки). Образцы замораживали и хранили в жидком азоте. Анализ всех образцов производили одновременно, одними и теми же реактивами. Какими методами Карта местности и ареала сбора образцов растений приведены в рисунке 1.

Пески Туйесу расположены неподалеку от посёлка Сенек, где ферула участвует в формировании саксаулово-ферулово-полынно-псаммофитно-кустарниковых ассоциаций. Рельеф с понижениями, бугристо-грядовый, волнистый с закрепленным песчаным массивом. Почвы – песчаные и супесчаные в основном незасоленные или слабозасоленные. Пески Туйесу обеспечены неглубокими пресными водами, имеются пригодные для питья верховодки. Глубина залегания подземных вод от 3,0 – 5,0 до 41 м. Мощность обводненной части золотых песчаных массивов колеблется от 5,0 до 33,3 м.

Пески Карынжарык находятся в юго-западной части огромной впадины Карынжарык, южно-карынжарыкского района Мангистауской области. Дно впадины покрывает самый протяженный в пустыни Мангистау сор Кендерли. Часть территории Южно-Карынжаркского района расположена на территории Устюртского заповедника. При обследовании массивов с участием ферулы отмечено, что ее заросли широко распространены во впадине и песках Карынжарык в составе кемрудополынно-ферулово-разнотравно-саксауловой, осоково-кемрудоно-полынно-боялычево-саксауловой ассоциациях. Почва на данной территории преимущественно песчаная и супесчаная незасоленная по всему генетическому профилю. Пески Карынжарык обводнены слабо либо безводные. Отдельные небольшие локальные участки обводнены водами различной степени засоленности.

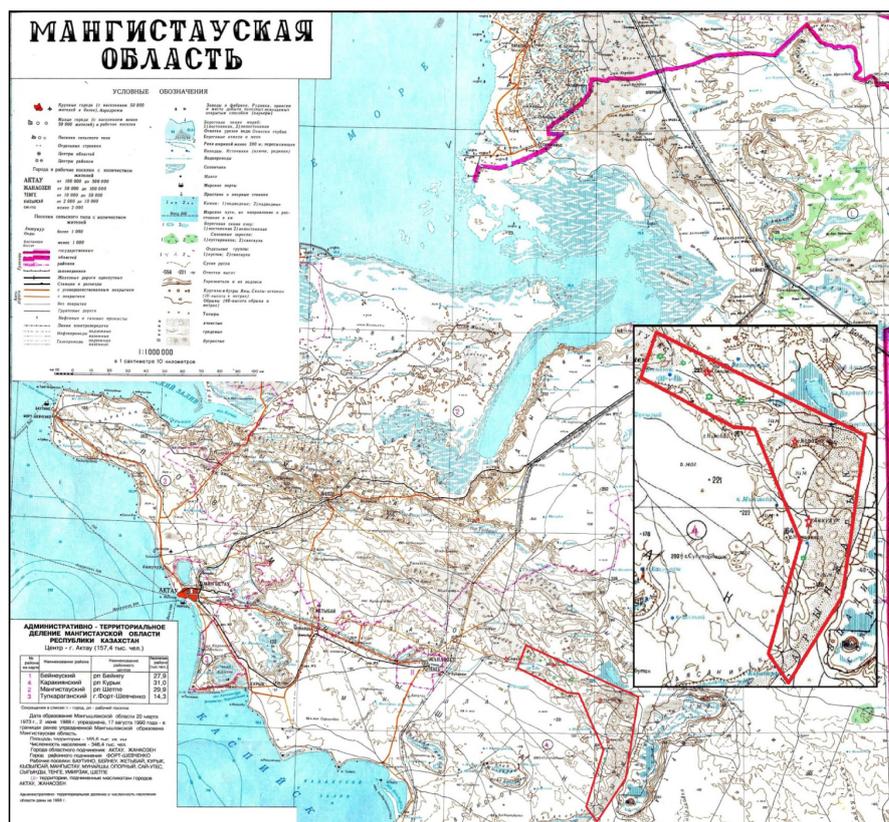


Рисунок 1 – Карта местности и ареала сбора образцов растений

Возвышенность Тынымбай шоки находится неподалёку от горы Кунабай. *Ferula foetida* встречается в составе саксаульно-ферулово-сантолинополынной, осоково-белоземельно-полынно-феруловой ассоциаций. Местность значительно отличается от остальных как по механическому составу, так и по засоленности почвы. До глубины 30 см она супесчаная, от 30 до 50 см – легкосуглинистая, в интервале от 50 и до 100 см среднесуглинистая. Степень засоленности почвы с поверхности и до 50 см слабая, в горизонтах 50-80 см – средняя и 80-100 см – сильная. Оводненность территории крайне низкая, растения получают влагу в виде атмосферных осадков и неглубоко залегающих грунтовых вод различной степени засоленности.

Ферула вонючая встречается в супесчаных массивах в 8-10 км восточнее урочища Карадыр. В супесчаных массивах представлена в жужгуно-кустарниковых сообществах. Оводненность территории крайне низкая, растения получают влагу в виде атмосферных осадков.

В качестве объектов исследований использовали свежие листья растений, собранные во

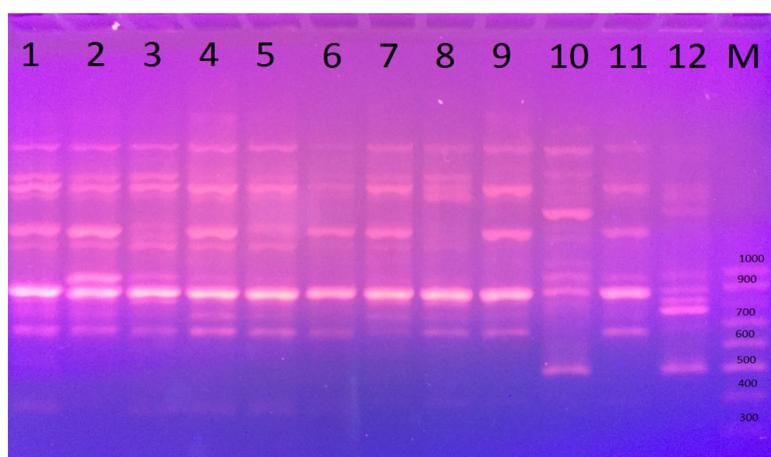
время полевых экспедиций по Мангистауской области в мае 2015 г. Образцы растений *Ferula nuda* использовались для сравнения с геномной ДНК *Ferula foetida*. Выделение ДНК проводили по модифицированному методу Holmes – Bonner [16]. Качество выделенной ДНК анализировали в 1% агарозном геле в присутствии бромистого этидия.

Полимеразную цепную реакцию проводили в смеси объемом 20 мкл, содержащей 2 единицы Taq-полимеразы («ACTG LAB», Казахстан), 10 мМ Трис-НСl pH 8.3, 50 мМ KCl, 0,01% детергента Tween-20 («PanReac AppliChem», Германия), по 25 мкМ dATP, dGTP, dCTP, dTTP, 2,5 мМ MgCl<sub>2</sub> («Qiagen», США), 200 нг ДНК и 1 мкМ праймера (таблица 1). Амплификацию проводили в программируемом термостате Tetrad 2 («Bio-Rad», США) в следующих условиях: 1 цикл – стадия денатурации при 94°C 5 минут, затем 30 циклов: 94°C – 30 с, 45°C – 30 с, 72°C – 30 с. Продукты реакции разделяли в 2% агарозном геле с дальнейшим окрашиванием бромистым этидием («Fermentas», США). Генетические дистанции между исследованными геномами

было определено посредством невзвешанного парногруппового метода с арифметическим усреднением по алгоритму Неи [17]. С помощью кластерных методов анализа построили дендрограмму, отражающую степень различий или сходства между RAPD-спектрами исследуемых объектов, что важно для изучения меж- или внутривидовых взаимоотношений. Генеалогическую дендрограмму строили по данным RAPD-анализа с применением программы Popgen 32.

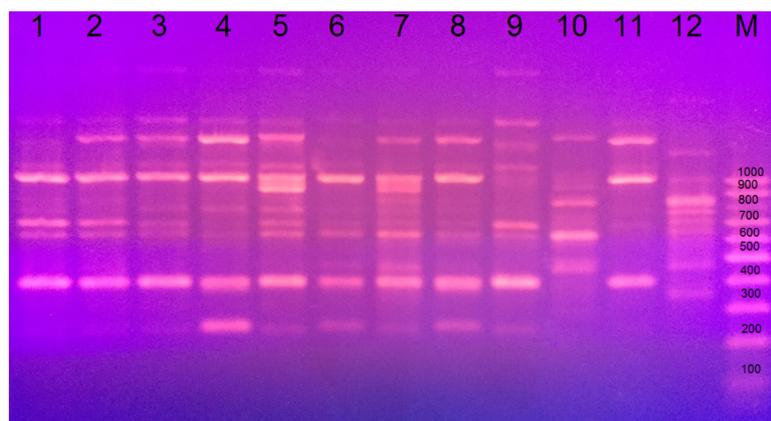
## Результаты исследования и их обсуждение

При проведении ПЦР с геномной ДНК растений рода *Ferula* L. нами были испытаны 30 произвольных десятичных праймеров, различающихся по нуклеотидной последовательности и GC-составу. Из них как наиболее информативных были отобраны 5 праймеров, фланкирующих обращенные повторы в геноме растений рода *Ferula* L. На рисунках 2-6 представлены спектры продуктов амплификации ДНК разных популяций растений рода *Ferula* L.



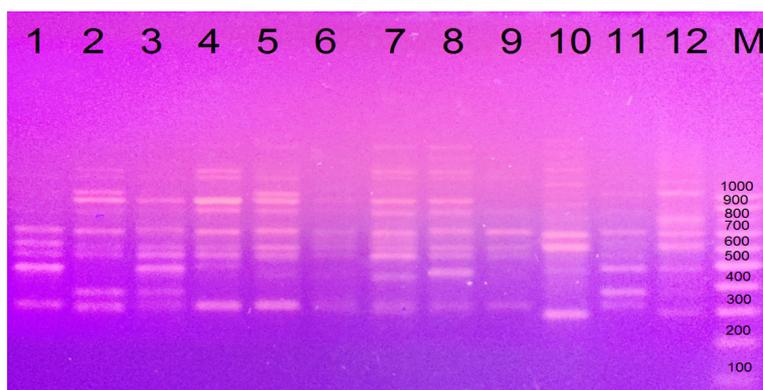
**Рисунок 2** – RAPD-спектр полученный с помощью праймера RAPD07.

Популяции *Ferula foetida*: 1, 6, 9 – в районе песков Карынжарык; 2, 3 – в районе песков Туйесу; 11 – в районе ущелья Камысты; 4, 5 – в районе урочища Караадыр, 7 – местность Южнее возвышенности Тынымбай Шоки, 8 – местность Западнее возвышенности Тынымбай Шоки. Популяции *Ferula Nuda*: 10 – в районе ущелья Камысты, 12 – в районе урочища Караадыр.



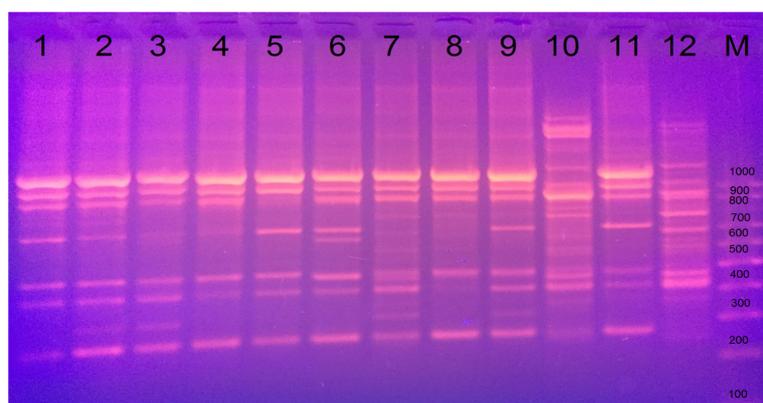
**Рисунок 3** – RAPD-спектр полученный с помощью праймера RAPD13.

Популяции *Ferula foetida*: 1, 6, 9 – в районе песков Карынжарык; 2, 3 – в районе песков Туйесу; 11 – в районе ущелья Камысты; 4, 5 – в районе урочища Караадыр, 7 – местность Южнее возвышенности Тынымбай Шоки, 8 – местность Западнее возвышенности Тынымбай Шоки. Популяции *Ferula Nuda*: 10 – в районе ущелья Камысты, 12 – в районе урочища Караадыр.



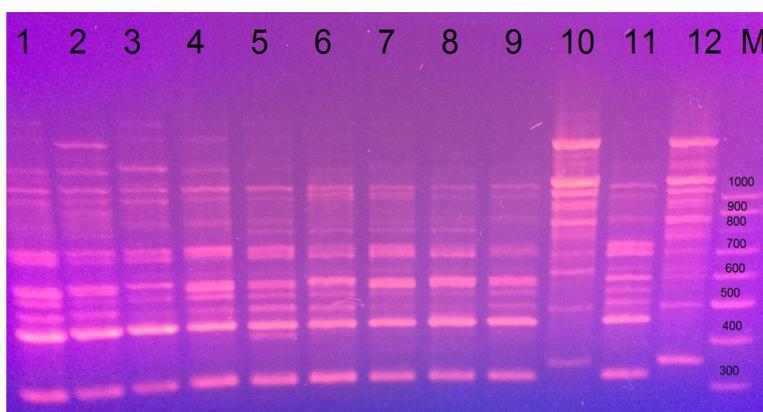
**Рисунок 4** – RAPD-спектр полученный с помощью праймера RAPD14.

Популяции *Ferula foetida*: 1, 6, 9 – в районе песков Карынжарык; 2, 3 – в районе песков Туйесу; 11 – в районе ущелья Камысты; 4, 5 – в районе урочища Караадыр, 7 – местность Южнее возвышенности Тынымбай Шоқы, 8 – местность Западнее возвышенности Тынымбай Шоқы. Популяции *Ferula Nuda*: 10 – в районе ущелья Камысты, 12 – в районе урочища Караадыр.



**Рисунок 5** – RAPD-спектр полученный с помощью праймера RAPD24.

Популяции *Ferula foetida*: 1, 6, 9 – в районе песков Карынжарык; 2, 3 – в районе песков Туйесу; 11 – в районе ущелья Камысты; 4, 5 – в районе урочища Караадыр, 7 – местность Южнее возвышенности Тынымбай Шоқы, 8 – местность Западнее возвышенности Тынымбай Шоқы. Популяции *Ferula Nuda*: 10 – в районе ущелья Камысты, 12 – в районе урочища Караадыр.



**Рисунок 6** – RAPD-спектр полученный с помощью праймера RAPD30.

Популяции *Ferula foetida*: 1, 6, 9 – в районе песков Карынжарык; 2, 3 – в районе песков Туйесу; 11 – в районе ущелья Камысты; 4, 5 – в районе урочища Караадыр, 7 – местность Южнее возвышенности Тынымбай Шоқы, 8 – местность Западнее возвышенности Тынымбай Шоқы. Популяции *Ferula Nuda*: 10 – в районе ущелья Камысты, 12 – в районе урочища Караадыр.

По каждому из пяти выбранных **RAPD праймеров** была выявлена высокая изменчивость как между исследуемыми образцами ДНК одного вида, так и внутри рода. Вариабельность ампликонов, выявленная праймерами **RAPD07, RAPD13, RAPD14, RAPD24 и RAPD30** достаточна для исследования внутривидовой изменчивости растений рода *Ferula* L. Каждый из представителей 12 популяций растений рода *Ferula* L. имеет специфический спектр RAPD-продуктов характеризующихся количеством фрагментов, их размерами и степенью выраженности. Минорные фрагменты воспроизводятся

при повторных амплификациях, а отдельные случаи отсутствия или недопроявления бэндов можно объяснить неполной амплификацией. Число фрагментов, полученных при амплификации ДНК 12 изученных популяций с используемыми праймерами, колеблется от 14 до 17. Некоторые фрагменты являются общими для всех или большинства исследуемых популяций. Вероятно, что эти ампликоны связаны с консервативными участками генома, и определяют принадлежность к одному роду или виду. В таблице 1 представлена информация об использованных праймерах и их RAPD спектрах.

**Таблица 1** – Полиморфные и мономорфные последовательности с RAPD праймерами

| Праймер | Последовательность праймера от 5' к 3' | Общее количество RAPD – полос | Полиморфные последовательности | Мономорфные последовательности |
|---------|--|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| RAPD07  | CTGCGGGTCA                             | 14                            | 13                             | 1                              |
| RAPD13  | TGCCGAGCTG                             | 17                            | 16                             | 1                              |
| RAPD14  | AGTCAGCGAC                             | 15                            | 13                             | 2                              |
| RAPD24  | TGATCCCTGG                             | 15                            | 15                             | -                              |
| RAPD30  | GTCCCGACGA                             | 15                            | 15                             | -                              |
| Всего   |  | 76                            | 72                             | 4                              |

**Таблица 2** – Суммарная матрица генетических дистанций

| пор | 1      | 2      | 3      | 4      | 5      | 6      | 7      | 8      | 9      | 10     | 11     | 12     |
|-----|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 1   | ****   | 0,8421 | 0,8289 | 0,8289 | 0,8026 | 0,8289 | 0,7368 | 0,7763 | 0,8816 | 0,3947 | 0,8421 | 0,3684 |
| 2   | 0,1719 | ****   | 0,8289 | 0,8289 | 0,8289 | 0,7763 | 0,8158 | 0,8026 | 0,8026 | 0,3684 | 0,8158 | 0,3158 |
| 3   | 0,1876 | 0,1876 | ****   | 0,8158 | 0,7632 | 0,7105 | 0,7237 | 0,7105 | 0,7895 | 0,3816 | 0,8026 | 0,4079 |
| 4   | 0,1876 | 0,1876 | 0,2036 | ****   | 0,8684 | 0,7632 | 0,8289 | 0,8421 | 0,8158 | 0,3816 | 0,7763 | 0,3026 |
| 5   | 0,2199 | 0,1876 | 0,2703 | 0,1411 | ****   | 0,7632 | 0,8026 | 0,7632 | 0,8158 | 0,3026 | 0,7500 | 0,2763 |
| 6   | 0,1876 | 0,2532 | 0,3417 | 0,2703 | 0,2703 | ****   | 0,7500 | 0,7632 | 0,8421 | 0,4605 | 0,7763 | 0,4079 |
| 7   | 0,3054 | 0,2036 | 0,3234 | 0,1876 | 0,2199 | 0,2877 | ****   | 0,8553 | 0,7237 | 0,3947 | 0,6579 | 0,2895 |
| 8   | 0,2532 | 0,2199 | 0,3417 | 0,1719 | 0,2703 | 0,2703 | 0,1563 | ****   | 0,7368 | 0,4079 | 0,6974 | 0,2763 |
| 9   | 0,1260 | 0,2199 | 0,2364 | 0,2036 | 0,2036 | 0,1719 | 0,3234 | 0,3054 | ****   | 0,4079 | 0,8026 | 0,3553 |
| 10  | 0,9295 | 0,9985 | 0,9634 | 0,9634 | 1,1952 | 0,7754 | 0,9295 | 0,8967 | 0,8967 | ****   | 0,4211 | 0,8158 |
| 11  | 0,1719 | 0,2036 | 0,2199 | 0,2532 | 0,2877 | 0,2532 | 0,4187 | 0,3604 | 0,2199 | 0,8650 | ****   | 0,4211 |
| 12  | 0,9985 | 1,1527 | 0,8967 | 1,1952 | 1,2862 | 0,8967 | 1,2397 | 1,2862 | 1,0349 | 0,2036 | 0,8650 | ****   |

Как видно из представленных данных получено 76 RAPD – маркерных бэндов, из которых 74 бэнда проявляют себя как полиморфные маркеры, а 4 бэнда оказались конститутивными RAPD маркерами для всех образцов. Основываясь на этих данных, была составлена матрица состояния RAPD ампликонов и проведен математический анализ генетических дистанций между исследованными образцами. На основании полученных спектров ампликонов были составлены таблицы, отражающие наличие или отсутствие соответствующего ампликона, характерного для каждого из праймеров (наличие ампликона обозначалось цифрой – 1, отсутствие цифрой – 0). В таблице 2 представлены данные распределения генетических дистанций между исследованными популяциями.

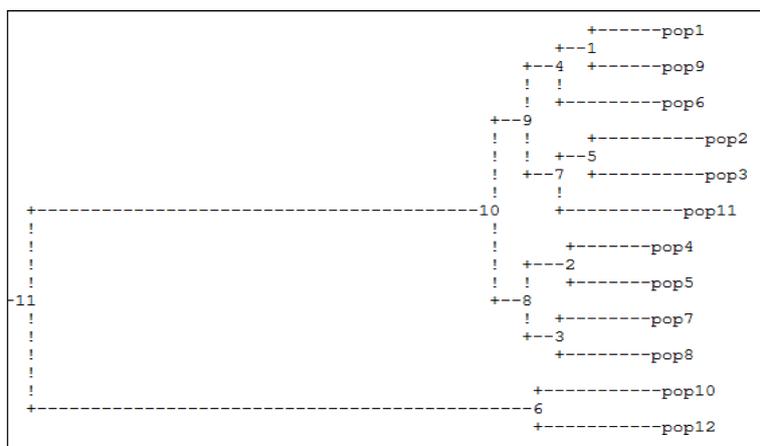
Данные представленные в таблице 2 показывают генетическое расстояние, рассчитанное посредством анализа частоты распределения переменных и конститутивных ампликонов между исследованными геномами.

По данным генетических дистанций между исследованными популяциями были рассчитаны

параметры сходства и различия RAPD профилей и построена дендрограмма характеризующая генетическое различие и сходство исследованных популяций. На рисунке 6 представлена дендрограмма, а в таблице 3 представлены показатели генетических дистанций между популяциями.

Все используемые праймеры эффективно обеспечивали синтез специфических и воспроизводимых наборов фрагментов (ампликонов). Число ампликонов в зависимости от использованного праймера составляло от 5 до 20, их размеры варьировали в пределах 200-2000 пн. Наряду с наличием общих ампликонов, большую часть спектров составляют фрагменты, которые присутствуют в одних и отсутствуют в других геномах. Эти фрагменты являются полиморфными маркерами исследуемых ДНК.

Генетическая дистанция, полученная при анализе RAPD-профилей одного и того же индивида, стремится к нулю, таким образом, чем меньше генетическое расстояние между популяциями, тем генетически ближе они друг к другу.



**Рисунок 7** – Дендрограмма распределения RAPD-профилей у 12 образцов растений рода *Ferula* L.

11 – род *Ferula* L.: 10 – популяции *Ferula foetida*: 1, 6, 9 – в районе песков Карынжарык; 2, 3 – в районе песков Туйесу; 11 – в районе ущелья Камысты; 4, 5 – в районе урочища Караадыр, 7 – местность Южнее возвышенности Тынымбай Шоки, 8 – местность Западнее возвышенности Тынымбай Шоки. 6 – популяции *Ferula Nuda*: 10 – в районе ущелья Камысты, 12 – в районе урочища Караадыр.

Во время исследований была изучена геномная ДНК растений видов *Ferula foetida* (Bunge) Regel. и *Ferula nuda* Spreng., которые принадлежат к одному роду *Ferula* L. Результаты кластеризации RAPD-спектров показали, что исследуемые популяции образуют два основных кластера 6 и 10. Расстояние между корнем кластера 11 и кластера 10 равно 37,42 единицам. Высокие показатели генетических

дистанций между кластерами 6 и 10 указывает на то, что популяции, образующие эти кластеры генетически значительно отдалены друг от друга, что указывает на то, что растения относятся к одному роду, но разным видам, т.е. кластер 10 объединил один вид *Ferula foetida*, а кластер 6 – *Ferula nuda*. Кластер 11 объединил оба вида в один кластер, так как оба вида принадлежат к одному роду *Ferula* L.

Таблица 3 – Показатели генетических дистанций

| Кластер | Кластер и популяция | Дистанция |
|---------|---------------------|-----------|
| 11      | 10                  | 37,41740  |
| 10      | 9                   | 1,82673   |
| 9       | 4                   | 2,43349   |
| 4       | 1                   | 2,68419   |
| 1       | pop1                | 6,30204   |
| 1       | pop9                | 6,30204   |
| 4       | pop6                | 8,98622   |
| 9       | 7                   | 0,83325   |
| 7       | 5                   | 1,20653   |
| 5       | pop2                | 9,37993   |
| 5       | pop3                | 9,37993   |
| 7       | pop11               | 10,58646  |
| 10      | 8                   | 2,62646   |
| 8       | 2                   | 3,56605   |
| 2       | pop4                | 7,05393   |
| 2       | pop5                | 7,05393   |
| 8       | 3                   | 2,80268   |
| 3       | pop7                | 7,81730   |
| 3       | pop8                | 7,81730   |
| 11      | 6                   | 40,48389  |
| 6       | pop10               | 10,17995  |
| 6       | pop12               | 10,17995  |

Кластер 6 (*Ferula nuda*) образован популяциями pop10 и pop12. Генетическое расстояние между этими популяциями составляет 10,18 единиц. Это расстояние свидетельствует о том, что этот вид имеет сходные геномы, так как относится к одному виду *Ferula nuda*, но произрастает в различных популяциях.

Кластер 10 (*Ferula foetida*) образован двумя кластерами 8 и 9, что указывает на различные условия произрастания вида, физико-химические свойства почвы, условия водного режима. Так, образцы, относящиеся к кластеру 8 произрастают на супесчанно-суглинистых почвах с высоко засоленными грунтовыми водами или низким содержанием влаги. Образцы, собранные в кластер 9 произрастают в песчаной местности с наличием как пресных, так и низкосоленых грунтовых вод.

Кластер 8 образован двумя подкластерами 2 и 3, а подкластер 2 сформирован двумя популяциями **pop4 и pop5, подкластер 3 образуют популяции pop7 и pop8**. Эти данные показывают, что образцы ферулы вонючей, собранные в супесчаных-суглинистых массивах (pop4, pop5, pop7 и pop8) имеют сходные геномные профили и являются родственными. Это указывает на то, что растения могут быть однотипными по местам произрастания, но в то же время имеют высокую изменчивость внутри вида.

Кластер 9 образован двумя кластерами 4 и 7. Кластер 4, так же как и кластер 7 образован тремя популяциями, что указывает на схожие условия произрастания, так как образцы объединённые в кластер 4 были собраны с песков Карынжарык, а кластер 7 с песков Туйесу, но

при этом внутривидовая изменчивость высокая.

Таким образом, результаты исследований свидетельствуют о высокой межвидовой изменчивости вида *Ferula foetida*, а также вида *Ferula nuda*, исследованного для сравнения, и популяционной изменчивости растений рода ферула, произрастающих в пустыни Мангистау, что обусловлено генетическими особенностями и условиями произрастания, такими как состав почвы, засоление, оводненность региона. Результаты наших предыдущих исследований по анатомии и морфологии подтверждают факт значительной изменчивости популяций *Ferula foetida* в пустыни Мангистау [20, 7].

Виды рода *Ferula*, произрастающих в Иране, тоже высокополиморфны. Это подтверждается результатом кластерного анализа вида *Ferula gumossa Boiss.* 94% амплифицированных RAPD бэндов оказались полиморфны. Они были собраны с 13 различных мест Ирана и были объединены в 3 главные группы [21].

Генетическое разнообразие зародышевых плазм вида *Ferula assa-foetida*, произрастаю-

щего на юго-востоке Ирана, с использованием метода RAPD, также установил высокий полиморфизм видов, собранных с 30 различных мест произрастания. Из 10 праймеров было получено 127 полиморфных бэндов, которых согласно кластерному анализу объединились в 5 групп [22].

### Заключение

На фактическом материале были выявлены схожие маркеры для видов рода *Ferula L.*, которые были объединены в различные кластеры – *Ferula foetida* и *Ferula nuda*. В результате проведенных исследований была обнаружена межвидовая и популяционная изменчивость ферулы, обусловленная условиями произрастания вида, таких как почва и оводненность региона. Результаты по морфологии подтверждают факт значительного полиморфизма популяций *Ferula foetida* в условиях пустыни Мангистау. Полученные результаты могут внести вклад в решении спорных вопросов систематики внутри вида *Ferula foetida*.

### Литература

- 1 Kareparamban J.A., Nikam P.H., Jadhav A.P., Kadam V.J. *Ferula foetida* “Hing”: A review // Research Journal Pharmacy and Biol.Chem.Sci. – 2012. – No.3, Vol.2. – С.775-786. DOI: 10.1016/S2222-1808(13)60038-9.
- 2 Зубайдова Т.М., Джамшедов Дж.Н., Ходжиматов М., Назаров М.Н., Исупов С.Д., Загребельный И.А., Самандаров Н.Ю., Сухробов П.Ш. Применение ферулы вонючей в древне-традиционной и народной медицине // Вест.Таджик.нац.ун-та. Сер. Естеств.наук. – 2013. – №1/2(106). – С.201-212.
- 3 Sahebkar A., Iranshahi M. Biological activities of essential oils from the genus *Ferula* (Apiacea) // Asian Biomedicine. – 2010. – Vol.4. – No.6. – С.835-847
- 4 Байтулин И.О., Нурушева А.М. О некоторых хозяйственно-ценных видах рода *Ferula* Казахстана // Известия НАН РК. Сер.Биол. – 2008. – №6. – С.3-6.
- 5 Garbovskaia V., Imanbayeva A., Sarsenbayev K., Sagyndykova M., Turpanova R., Zhamangara A. Perspective for commercialization medicinal plant from Mangyshlak – *Ferula foetida*. // Journal of biotech. – 2015. – Vol.208. – С.25. DOI: 10.1016/J.JBIOTECH.2015.06.066.
- 6 Сафина Л.К. Ферулы Средней Азии и Казахстана (карпоанатомический обзор). – Т.18 (3). – Алматы: LEM. – 2012. – 244 с.
- 7 Иманбаева А.А., Белозеров И.Ф., Сагындыкова М.С. Морфология *Ferula foetida* (Bunge) Regel. в природных популяциях пустыни Мангистау // Материалы респ.науч.конф. «Биологические и структурно-функциональные основы изучения и сохранения биоразнообразия Узбекистана». Ташкент. – 2015. – Вып.1. – С.145-150.
- 8 Коровин Е.П. Главнейшие линии в систематике рода *Ferula* (Tournef.) L. // Бюл. МОИП., отд. биол. – 1939. – Т.48. – Вып.5-6. – С.5-15.
- 9 Коровин Е.П. Дифференцирующая роль условий существования в эволюции растений. Род *Ferula L.* // Растение и среда. – 1940. – Т.1. – С.237-274.
- 10 Коровин Е.П. Иллюстрированная монография рода *Ferula* (Tournef.) L. – Ташкент: Изд-во АН УзССР. – 1947. – 91 с.
- 11 Коровин Е.П., Королева К. М., Криштофович А. Н., Манденова И. П., Пояркова А. И., Шишкин Б. К. Флора СССР. – М. – Л.: Изд.АН СССР. – 1951. – Т.17. – 390 с.
- 12 Сафина Л.К., Пименов М.Г. Ферулы Казахстана. – Алма-Ата: Наука. – 1984. – 200 с.
- 13 Rechinger K.H. *Flora Iranica*. – Austria: Academische Druck und Verlagsanstalt. – 1987. – Т.162. – 426 с.
- 14 Черепанов С.К. Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР). СПб.: Мир и семья. – 1995. – 992 с.
- 15 Kurzyna-Mlynik R., Oskolski A.A., Downie S.R., Kopacz R., Wojewozdka A., Spalik K. Phylogenetic position of the genus *Ferula* (Apiaceae) and its placement in tribe Scandiceae as inferred from nrDNA ITS sequence variation // Plant SystEvol. – 2008. – №274. – С.74-66. DOI:10.1007/s00606-008-022-2.

16 Калаев В.Н., Землянухина О.А., Карпеченко И.Ю., Карпеченко К.А., Кондратьева А.М., Вепринцев В.Н., Карпеченко Н.А., Карпова С.С., Моисеева Е.В., Баранова Т.В. Использование методов молекулярно-генетического анализа для изучения полиморфизма ДНК растений рода *Rhododendron* с целью их паспортизации // *Фундаментальные исследования*. – 2012. – №6. – С.323-328.

17 Пименов М.Г., Терехин А.Т., Девяткова Г.Н., Баранова Ю.В. Классификация видов рода *Ferula* L. (Umbelliferae) с помощью иерархического кластер-анализа // *Вопросы кибернетики*. – 1978. – Вып.47. – С.98-113.

18 Грушецкая З.Е., Никитинская Т.В., Кубрак С.В., Дзюбан О.В., Кухарева Л.В., Поликсенова В.Д., Титок В.В., Лемеш В.А., Парфенов В.И., Хотылева Л.В. Использование ISSR-анализа для изучения внутри- и межвидового генетического полиморфизма различных таксонов высших растений // *Вест. БГУ*. – 2013. – Сер.2. – №3. – С.50-56.

19 Кондратенко Е.И., Нетипанова Н.В., Скворцова И.А., Ломтева Н.А., Кузина Т.В., Касимова С.К. Цитогенетические и молекулярно-биологические методы анализа растений. Астрахань: Астраханский университет. – 2015. – 68 с.

20 Imanbayeva A.A., Sarsenbayev K.N., Sagyndykova M.S. Anatomical Organization of Above and Underground Organs of *Ferula foetida* (Bunge) Regel in Mangistau Natural Populations.// *Contemporary Problems of Ecology*. – 2015. – Vol.8. – No.6. – С.743–753. DOI: 10.1134/S1995425515060086.

21 Talebi K.E., Mohammad A., Naghavi M.R. Genetic diversity in *Ferula gummosa* Boiss. populations of Iran using RAPD molecular markers // *Iranian journal of medicinal and aromatic plants*. – 2008. – Vol.23. – No.4 (38). – С.514-522.

22 Sarhadipour S., Naghavi M.R., Baghizadeh A., Hasani D. Genetic diversity of *Ferula assafoetida* L. germplasms using RAPD analysis in Southeast of Iran // *Ecophytochemical journal of medical plants*. – 2015. – Vol.2. – No.4(8). – С.72-82.

### References

1 Kareparamban J.A., Nikam P.H., Jadhav A.P., Kadam V.J. *Ferula foetida* “Hing”: A review // *Research Journal Pharmacy and Biol.Chem.Sci*. – 2012. - No.3, Vol.2. – S.775-786. DOI: 10.1016/S2222-1808(13)60038-9.

2 Zubajdova T.M., Dzhamshev Dzh.N., Hodzhimatov M., Nazarov M.N., Isupov S.D., Zagrebel'nyj I.A., Samandarov N.Ju., Suhrovov P.Sh. Primenenie feruly vonjuchej v drevne-tradicionnoj i narodnoj medicine // *Vest.Tadzhik.nac.un-ta. Ser. Estestv. nauk*. – 2013. – №1/2(106). – С.201-212.

3 Sahebkar A., Iranshahi M. Biological activities of essential oils from the genus *Ferula* (Apiacea) // *Asian Biomedicine*. – 2010. – Vol.4. – No.6. – С.835-847

4 Bajtulin I.O., Nurusheva A.M. O nekotoryh hozjajstvenno-cennyh vidah roda *Ferula* Kazahstana // *Izvestija NAN RK. Ser. Biol*. – 2008. - №6. - С.3-6.

5 Garbovskaya V., Imanbayeva A., Sarsenbayev K., Sagyndykova M., Turpanova R., Zhamangara A. Perspective for commercialization medicinal plant from Mangyshlak – *Ferula foetida*.// *Journal of biotech*. – 2015. – Vol.208. – С.25. DOI: 10.1016/J.JBIOTEC.2015.06.066.

6 Safina L.K. *Feruly Srednej Azii i Kazahstana (karpoanatomicheskij obzor)*. – Т.18 (3). – Алматы: LEM. – 2012. – 244 с.

7 Imanbaeva A.A., Belozero I.F., Sagyndykova M.S. Morfologija *Ferula foetida* (Bunge) Regel. v prirodnyh populjacijah pustyni Mangistau // *Materialy resp.nauch.konf. «Biologicheskie i strukturno-funkcional'nye osnovy izuchenija i sohranjenija bioraznoobrazija Uzbekistana»*. Tashkent. – 2015. – Vyp.1. – С.145-150.

8 Korovin E.P. Glavnejshie linii v sistematike roda *Ferula* (Tourn) L. // *Bjul. MOIP, otd. biol.* – 1939. – Т.48. – Vyp.5-6. – С.5-15.

9 Korovin E.P. Differencirujushhaja rol' uslovij sushhestvovanija v jevoljucii rastenij. Rod *Ferula* L. // *Rastenie i sreda*. – 1940. – Т.1. – С.237-274.

10 Korovin E.P. Illjustrirovannaja monografija roda *Ferula* (Tourn.) L. – Tashkent: Izd-vo AN UzSSR. – 1947. – 91 s.

11 Korovin E.P., Koroleva K. M., Krishtofovich A. N., Mandenova I. P., Pojarkova A. I., Shishkin B. K. *Flora SSSR*. – М. – L.: Izd.AN SSSR. – 1951. – Т.17. – 390 s.

12 Safina L.K., Pimenov M.G. *Feruly Kazahstana*. – Alma-Ata: Nauka. – 1984. – 200 s.

13 Rechinger K.H. *Flora Iranica*. – Austria: Academische Druck und Verlagsanstalt. – 1987. – Т.162. – 426 с.

14 Cherepanov S.K. *Sosudistye rastenija Rossii i sopredel'nyh gosudarstv (v predelakh byvshego SSSR)*. Spb.: Mir i sem'ja. – 1995. – 992 s.

15 Kurzyna-Mlynik R., Oskolski A.A., Downie S.R., Kopacz R., Wojewozdka A., Spalik K. Phylogenetic position of the genus *Ferula* (Apiaceae) and its placement in tribe Scandiceae as inferred from nrDNA ITS sequence variation // *Plant SystEvol*. – 2008. – №274. – С.74-66. DOI:10.1007/s00606-008-022-2.

16 Kalaev V.N., Zemljanuhina O.A., Karpechenko I.Ju., Karpechenko K.A., Kondrat'eva A.M., Vepriincev V.N., Karpechenko N.A., Karpova S.S., Moiseeva E.V., Baranova T.V. Ispol'zovanie metodov molekularno-geneticheskogo analiza dlja izuchenija polimorfizma DNK rastenij roda *Rhododendron* s cel'ju ih pasportizacii // *Fundamental'nye issledovanija*. – 2012. – №6. – С.323-328.

17 Pimenov M.G., Terehin A.T., Devjatкова G.N., Baranova Ju.V. Klassifikacija vidov roda *Ferula* L. (Umbelliferae) s pomosh'ju ierarhicheskogo klaster-analiza // *Voprosy kibernetiki*. – 1978. – Vyp.47. – С.98-113.

18 Grusheckaja Z.E., Nikitinskaja T.V., Kubrak S.V., Dzuban O.V., Kuhareva L.V., Poliksena V.D., Titok V.V., Lemesh V.A., Parfenov V.I., Hotyleva L.V. Ispol'zovanie ISSR-analiza dlja izuchenija vnutri- i mezhvidovogo geneticheskogo polimorfizma razlichnyh taksonov vysshih rastenij // *Vest. BGU*. – 2013. – Ser.2. – №3. – С.50-56.

19 Kondratenko E.I., Netipanova N.V., Skvorcova I.A., Lomteva N.A., Kuzina T.V., Kasimova S.K. Citogeneticheskie i molekularno-biologicheskie metody analiza rastenij. Astrahan': Astrahanskij universitet. – 2015. – 68 s.

20 Imanbayeva A.A., Sarsenbayev K.N., Sagyndykova M.S. Anatomical Organization of Above and Underground Organs of *Ferula foetida* (Bunge) Regel in Mangistau Natural Populations // Contemporary Problems of Ecology. – 2015. – Vol.8. – No.6. – S.743–753. DOI: 10.1134/S1995425515060086.

21 Talebi K.E., Mohammad A., Naghavi M.R. Genetic diversity in *Ferula gummosa* Boiss. populations of Iran using RAPD molecular markers // Iranian journal of medicinal and aromatic plants. – 2008. – Vol.23. – No.4 (38). – С.514-522.

22 Sarhadipour S., Naghavi M.R., Baghizadeh A., Hasani D. Genetic diversity of *Ferula assafoetida* L. germplasms using RAPD analysis in Southeast of Iran // Ecophytochemical journal of medical plants. – 2015. – Vol.2. – No.4(8). – С.72-82.