

ГРНТИ 34.23.35

DOI: 10/71130/3079-6245-2025-4-3-5-10

ТЕХНОГЕНДІК ЭКОЖҮЙЕЛЕРДЕГІ ШЫРҒАНАҚТЫҢ ГЕНЕТИКАЛЫҚ АЛУАНДЫҒЫ

*Л.Ш. Шадманова^{1,2}, А.М. Агынғалиева², А.И. Токен¹, Г.Т. Ситпаева¹¹РГП «Институт ботаники и фитоинтродукции», Алматы, Казахстан² Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы, Казахстан

e-mail: laura_shadmanova@mail.ru

Андатпа. Генетикалық алуандық түрдің эволюциялық дамуын, бейімділігін және ұзақ мерзімді өміршендігін сипаттайтын маңызды көрсеткіш болып табылады, сондықтан оны сақтау және зерттеу ғылым үшін өзекті міндет болып қала береді. Шырғанақ (*Hippophae rhamnoides* L.) ғасырлар бойы қолданылып келе жатқан және биологиялық белсенді заттарға бай болуына байланысты соңғы жылдары экономикалық маңызы артып отырған өсімдік.

Бұл зерттеуде Солтүстік Қазақстанның техногендік аймақтарындағы *H. rhamnoides* түрінің генетикалық алуандығы ISSR-маркерлер арқылы бағаланды. Тұқымдар Қостанай облысының Пригородный орманшылығындағы шырғанақтың екі популяциясынан жиналды.

ISSR-талдау популяция ішінде полиморфизмнің жоғары деңгейін (87%) және популяциялар арасында төмен деңгейін (13%) көрсетті. UPGMA кластерлеуі популяциялар арасында да, олардың ішінде де генетикалық айырмашылықтардың бар екенін анықтап, өсімдіктердің әртүрлі шығу тегі мен айқас тозандану мүмкіндігін көрсетті.

Түйін сөздер: генетикалық алуандық, молекулалық маркерлер, популяция, итшомырт шырғанақ.

Тірі организмдердің генетикалық алуандығы немесе өзгергіштігі – кез келген түрдің эволюциялық дамуының, қоршаған орта жағдайларына бейімделу қабілетінің және биологиялық түр ретінде сақталуының маңызды көрсеткіші болып табылады. Бұл көрсеткішті бақылау сирек таралған, жойылып кету қаупі төнген немесе популяция көлемі шағын түрлер үшін, сондай-ақ мәденилендірілген немесе арнайы жасанды ортада өсірілетін өсімдіктер үшін аса маңызды. Қазіргі таңда көптеген елдер табиғи генетикалық ресурстарды тұрақты пайдалану, табиғи популяциялардың генетикалық алуандығын зерттеу және жойылып бара жатқан түрлерді *in situ* жағдайында сақтау мәселелерін маңызды стратегиялық бағыттардың бірі ретінде қарастырады [1].

Осы тұрғыда ерекше мәнге ие өсімдіктердің бірі – *Hippophae rhamnoides* L. (итшомырт шырғанақ). Шырғанақты адамзат мыңдаған жылдар бойы пайдаланғанымен, оның экономикалық және биологиялық маңыздылығы соңғы онжылдықтарда кеңінен танылып отыр. Жемісінің құрамында биологиялық белсенді қосылыстардың жоғары болуы оны медицина, тағам өнеркәсібі, ауыл шаруашылығы мен косметология салаларында кең қолданылатын құнды өсімдікке айналдырды [2-5]. Сонымен қатар, шырғанақтың құмды, тасты, құнарсыз топырақтарда да жақсы өсіп, экстремалды температуралар мен қатты аяздарға төтеп беру қабілеті, құрғақшылыққа және тұзданған топырақтарға төзімділігі оның экожүйелерді қалпына келтіруде болашағы зор екенін көрсетеді. [5].

Қазақстан аумағында *H. rhamnoides* L. бірқатар флоралық өңірлерге таралғанымен [6], оның табиғи популяциялары бойынша генетикалық және фитоценоздық зерттеулер өте аз жүргізілген. Елімізде шырғанақтың практикалық маңызы жоғары болғанына қарамастан, оның генетикалық алуандығы, табиғи таралу заңдылықтары мен экологиялық-фитоценоздық байланыстары фитохимиялық зерттеулермен салыстырғанда әлдеқайда аз зерттелген. Қазақстанда шырғанақ бойынша ғылыми база жеткіліксіз және оның бір ғана түрі туралы нақты деректер бар [6,7].

Солтүстік Қазақстан өңірі табиғи-климаттық аймақ ретінде ерекше назар аударуды қажет етеді. Бұл өңір жазы ыстық, қысы ұзақ әрі қатты аязды, күрт континенттік климатымен сипатталады. Мұндай экологиялық жағдайлар шырғанақ популяцияларында генетикалық вариацияның қалыптасуы үшін табиғи негіз болып табылады. Дегенмен, Солтүстік Қазақстандағы *H. rhamnoides* L. популяцияларының нақты таралуы, олардың фитоценоздық байланыстары мен генетикалық құрылымы ғылыми тұрғыдан толық зерттелмеген.

Осыған байланысты шырғанақтың табиғи популяцияларын ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) молекулалық маркерлері арқылы генетикалық алуандығын анықтау [8], сондай-ақ Солтүстік Қазақстанның түрлі ландшафттық-экологиялық жағдайларында қалыптасқан қауымдастықтардағы фитоценоздық құрылымын зерттеу – Қазақстандағы *H. rhamnoides* L. түрінің биологиялық ерекшеліктерін кешенді түрде зерттеуге мүмкіндік береді. Бұл зерттеулер түрдің таралу аймағын нақтылауға, филогенетикалық байланыстарын құруға, ДНҚ банк жасақтауға және табиғи популяцияларды тиімді сақтау мен ұтымды пайдалану стратегияларын әзірлеуге негіз болады.

Зерттеу жұмысымыздың мақсаты техногендік аймақ бойынша Қазақстанда таралуы аса кең зерттелмеген итшомырт шырғанақ өсімдігінің генетикалық алуандығын ISSR маркерлерінің көмегімен бағалау.

Зерттеу нысаны мен әдістері. Өсімдіктің тұқым үлгілері 2023-2024 жылдары аралығында көктем-күз кезеңдерінде Солтүстік Қазақстандағы Қостанай облысының Пригородное орман шаруашылығында жүргізілген далалық ботаникалық зерттеу кезінде алынды.

Маршруттық зерттеу барысында қарастырылып отырған түр өсетін әртүрлі тіршілік аймақтары қамтылды. Зерттелген өсімдік қауымдастықтарында кездесетін өсімдік түрлерінің гербарий материалдары флоралық еңбектер негізінде анықталды [6, 9]. Сонымен қатар, түрлердің таксономиялық деңгейі халықаралық “Plants of the World Online” веб-жүйесі арқылы да тексеріліп, нақтыланды [10].

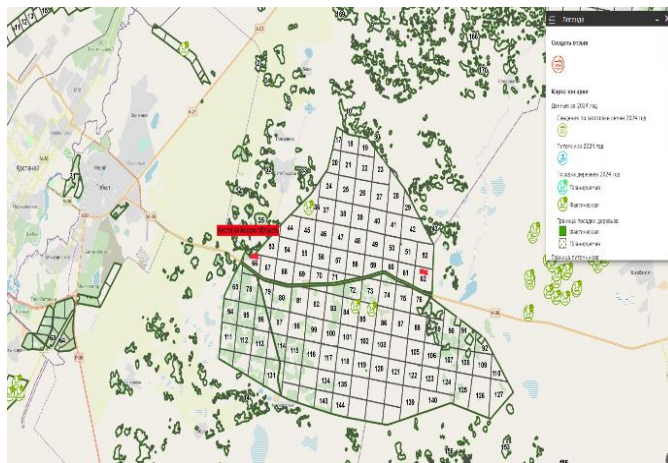
Алынған шырғанақ популяцияларының тұқым және жеміс үлгілерінің жалпы саны – 6, ал популяция саны – 2:

1. Қостанай орман шаруашылығының Пригородное мемлекеттік орманшылығының 66-кварталының шекарасында (сурет 1) итшомырт шырғанағының бірінші популяциясы карьер шұңқырының (80-жылдардағы карьер орны) төменгі бөлігінде табылды. Шырғанақ таралған аймақ қарағайлы-бұталы-шырғанақты-алуаншөп қауымдастығы ретінде сипатталды. Участоктың ауданы шамамен 30 га. Координаттары: N 53° 09' 06.22", E 063° 38' 55.24". – теңіз деңгейінен биіктігі 147 м. Итшомырт шырғанақтары бір дінді, өмірлік формасы ағаш тәрізді (орташа биіктігі 4-5 м; діннің диаметрі – 5 см). 10×10 м сынақ алаңдары шегінде итшомырт шырғанақтарының саны 20 дана. Ағаштардың орташа арақашықтығы 2–3 м.

Аталған қауымдастықтың ағаш құрамы *Pinus sylvestris* L. (орташа биіктігі 4-6 м), *Ulmus pumila* L. (орташа биіктігі 5-6 м), *Acer negundo* L. (орташа биіктігі 6 м), *Populus* sp. (орташа биіктігі 5-6 м) түрлерінен, бұталар қабаты *Elaeagnus angustifolia* L., *Lonicera tatarica* L. және *H. rhamnoides* L. құралған. Қалпына келуі жақсы. Субстраты – құмтасты жыныс. Бірінші популяцияда – 3 форма (Нг 80, Нг 81, Нг 82) зерттелді.

2. Екінші популяция аталған орманшылықтың 62 кварталы аймағында табылды (сурет 1). Итшомырт шырғанақ алуан шөпті өсімдік қауымдастығында таралған, теңіз деңгейінен 196 м биіктікте ескі карьер шұңқырының шекарасында орналасқан. Координаттары: N 53°10'94.84, E 063°43'44.40. Бұл учаскеде итшомырт шырғанақтары тоғай түзіп таралған, бұталардың жасы шамамен 10-15 жыл. Итшомырт шырғанағының генеративті дарактары жақсы дамыған. Итшомырт шырғанақ бұталарының арақашықтығы 1-3 м. Діндерінің орташа диаметрі - 5 см.

Шөптесін өсімдіктер жамылғысының басым түрлері: *Artemisia dracunculus* L., *Artemisia sericea* Weber ex Stechm., *Vicia sepium* L., *Achillea millefolium* L., *Phleum phleoides* (L.) H. Karst., *Lathyrus pratensis* L., *Medicago falcata* L., *Euphorbia virgata* Waldst. ex Kit. Қалпына келуі жақсы (аймақта 35 дана жас өркен). Екінші популяция бойынша - 3 форма (Hr 78, Hr 32, Hr 34) зерттелді.



Сурет – 1. *Hippophae rhamnoides* L. формалары жиналған аймақ -Қостанай облысының «Пригородное» орман шаруашылығының кварталдары

ДНҚ бөліп алу үшін арнайы өсімдіктен ДНҚ бөлуге арналған *Altaibiotech* компаниясының *DiamondDNATM* жинағы қолданылды.

Өсімдіктен алынған ДНҚ молекулаларының нақты концентрациясын анықтау *DiamondDNATM* компаниясының MAXLIFE флуориметрінде жүргізілді. ДНҚ концентрациясы 0,5-2000 нг/мкл арасында өлшенді.

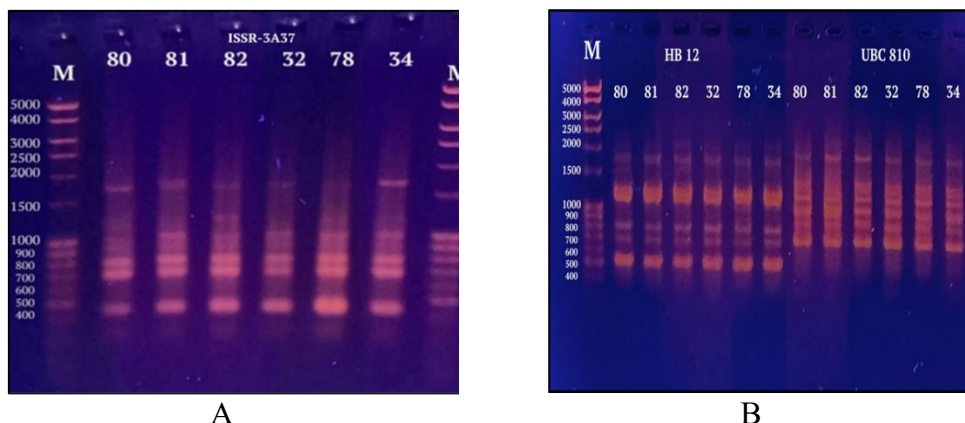
ДНҚ фрагментінің нақты бар немесе жоқ екендігі 1,5 % агарозды гель арқылы горизонтальді электрофорез камерасында (45V, 0,45 A, 15 мин) талданды. Гельдегі 2,5 мкл ДНҚ молекуласын визуализациялау үшін 1,5 мкл арнайы 6xGelladepuffer (Glycerin, Xylencyanol) және 7 мкл ddH₂O қолданылды. Контроль ретінде Thermo Scientific 6X DNA Loading Dye бояуы қолданылды.

Полимеразды тізбекті реакция

ПТР VeritiPro термоциклер құрылғысында (Thermo Fisher Scientific, АҚШ) жүргізілді. ISSR- PCR әдісіне арналған 20 мкл ерітінді үшін :1 мкл ДНҚ, 10 мкл 2x HS Taq Red Mix, 1,3 мкл 10 pM праймер, 7,7 мкл ddH₂O бар қоспа дайындалды. ISSR-PCR режимі: бастапқы денатурация – 94°C, 01:30 мин., денатурация - 94°C, 00:40 мин., праймерлерді күйдіру - 45°C, 00:45 мин., элонгация - 72°C, 01:30 мин x 36 цикл, соңғы элонгация сатысы - 72°C 6 мин құрайтын стандартты бағдарламаға сәйкес орындалды.

Зерттеу нәтижелері және талқылау

ISSR маркерлерін қолдана отырып *H. rhamnoides* L. (өсімдік атауын не барлық жерде латынша, не барлық жерде қазақша жазған жөн) генетикалық алуандығын талдау жүргізу үшін ең полиморфты 8 ISSR-ПТР праймерлері таңдалды. Сыналған 8 маркердің ішінен ISSR-3A37, HB12, UBC 810 (сурет 2), UBC 812 праймерлері таңдалды. Зерттелген ДНҚ фрагменттері бойынша жалпы 197 ISSR ДНҚ фрагменттері анықталды, оның 39 фрагмент саны ISSR 3A37 маркері бойынша, 38 фрагмент саны HB 12 маркері бойынша, 44 фрагмент UBC 810 маркері бойынша, 76 фрагмент UBC 812 маркері бойынша полиморфты болды. Ең полиморфты маркер - UBC 812 маркері болып табылады.



Сурет - 2. ISSR-ПТП өнімінің электрофореграммасы: А – ISSR-3A37 маркері; В – HB12 және UBC 810 маркерлері

ДНҚ фрагменттерінің жиіліктеріне сүйене отырып, Қостанай облысы, Пригородное орман шаруашылығының 62 және 66-шы кварталы бойынша 2 түрлі популяциялардан алынған итшомырт шырғанақ тұқым үлгілерінің генетикалық алуандық деңгейінің негізгі көрсеткіштері GenAlEx 6.5. бағдарламасы арқылы есептелінді (3-кесте):

ISSR маркерлері үшін аллельдердің орташа саны (N_a) әртүрлі зерттеу объектісіне байланысты 0-1 арасында ауытқиды, кей жағдайда 1-ден де жоғары мәндерге ие болады. Алынған нәтижелер бойынша бірінші популяциядағы $N_a = 0,957 \pm 0,08$. Екінші популяция бойынша $N_a = 1,304 \pm 0,06$. Жалпы 2 популяция бойынша аллельдердің орташа саны (N_a) $1.130 \pm 0,058$ -ді құрады.

Эффективті аллельдер саны (N_e) - бір локустың ішіндегі аллельдердің санын және олардың сол локус ішіндегі теңдей таралуын сипаттайтыны белгілі. Алынған деректерге сәйкес N_e бірінші популяцияда $1,122 \pm 0,04$ мәнге ие болса, екінші популяцияда $1,243 \pm 0,05$ мәндерін көрсетті. Екі популяция бойынша эффективті аллельдер саны мен анықталған аллельдердің орташа сан көрсеткіштері арасында жақсы нәтижелер алынды.

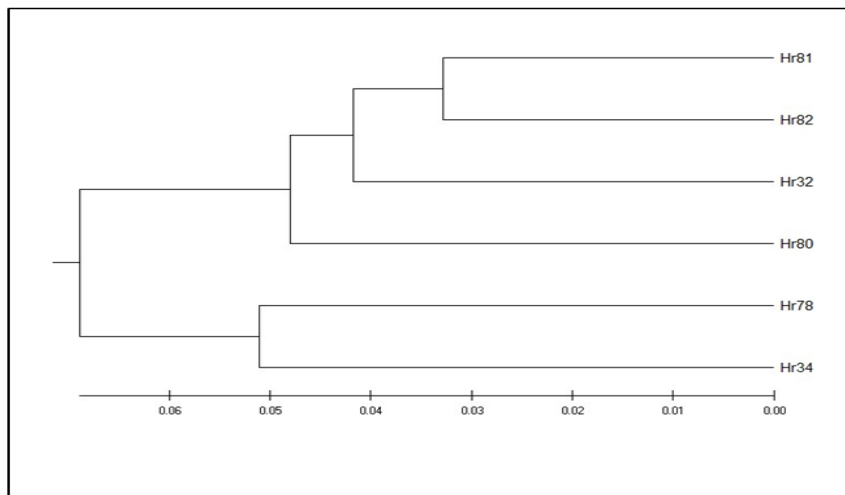
Бірінші популяция бойынша бейтарап әртүрлілік көрсеткіші (u_h) – $0,101 \pm 0,036$. Екінші популяция бойынша бейтарап әртүрлілік көрсеткіші (u_h) – $0,203 \pm 0,046$. Итшомырт шырғанақтың 2 популяциясы бойынша алынған бейтарап әртүрлілік индексі (u_h) $0,152 \pm 0,029$ -ды құрады. Демек екі популяция бойынша шырғанақ өсімдік үлгілерінің итшомырт шырғанақ түріне жатады деп болжауға болады. Егер де u_h индексі бойынша 1 мәні көрсетілсе, *H. rhamnoides* L. түріне жататын субтүрлер бар екендігіне болжам жасауға болады.

Итшомырт шырғанақтың өсімдік үлгілері бойынша популяция ішілік өзгергіштік 87%-ды көрсетті және популяция аралық өзгергіштік көрсеткіші 13%-ды құрады.

Жүргізілген UPGMA кластерлік талдау нәтижесінде итшомырт шырғанақ өсімдігінің зерттеу формалары екі жеке топқа: бірінші популяция және екінші популяция бойынша бөлінді.

Бірінші топтағы формалар үш кластерге бөлінді. Бірінші кластерге Hr81 және Hr82 формалары кірді. Бұл екі форманың популяциясы бір және олардың шығу тегі жағынан жақын болуы мүмкін екендігі туралы тұжырым жасауға болады. Екінші кластерге Hr32 формасы жеке енгізілді. Бұл форма екінші популяция формасы болып табылады. Hr32 формасының бірінші кластерге енуі өсімдіктегі аралас тозандану жағдайымен түсіндіріледі. Үшінші кластерде Hr80 формасы жеке дара орналасты. Оның басқа Hr81, Hr82 формаларынан шығу тегі бойынша ерекшеленетін белгілері

бар. Екінші кластерлік топ құрамына Нr78 және Нr34 итшомырт шырғанақтың екінші популяциялық формалары орналасты. Екінші топ екі жеке кластерлерге бөлінді. Бір популяция формалары болғанымен, шығу тегі бойынша генетикалық алуандық белгілері бар екендігі айқындалды (сурет 3).



Сурет – 3. MEGA 7 бағдарламасы арқылы итшомырт шырғанақ өсімдік формаларына құрылған UPGMA дендограммасы

Қорытынды

Жазық ландшафтарда итшомырт шырғанақ көбінесе өсімдік қауымдастықтарының доминанты болады, олар құрғақ дала мен шабындық фитоценоздарына тән. Біз зерттеген техногендік аймақтардағы итшомырт шырғанақтың популяцияларында генеративті және прегенеративті дарақтары басым болды. Постгенеративті дарақтар сирек кездеседі. Бұл популяциялардың жас екендігін айқындайды.

Генеративті даралар популяциядағы генетикалық алуандықты қамтамасыз етеді, бұл молекулалық-генетикалық талдау нәтижелерімен дәлелденді.

Зерттеуге алынған үлгі саны аз болғанымен, алынған ISSR ДНҚ фрагменттері популяция ішілік полиморфизмін көрсетті, олардың көрсеткіштері 87%-ды, ал популяция аралық полиморфизм көрсеткіші 13%-ды құрады.

Жүргізілген UPGMA кластерлік талдау нәтижесінде итшомырт шырғанақ өсімдігінің зерттеу формалары екі жеке топқа: бірінші популяция және екінші популяция бойынша бөлінді. Бірінші топтағы формалар үш кластерге бөлінді. Бірінші кластерге Нr81 және Нr82 формалары кірді. Екінші кластерге Нr32 формасы жеке енгізілді. Бұл форма екінші популяция формасы болып табылады. Нr32 формасының бірінші кластерге енуі өсімдіктегі қайта тозаңдану жағдайымен түсіндіріледі. Үшінші кластерде Нr80 формасы жеке орналасты.

Екінші кластерлік топ құрамына Нr78 және Нr34 итшомырт шырғанақтың екінші популяциялық формалары жеке кластерге бөлініп орналасты.

Популяция ішілік полиорфизмнің жоғары болуы (87%) мен бір кластерлік топқа орналасқаны итшомырт шырғанақ формаларының шығу тегі бойынша генетикалық алуандық белгілері бар екендігін айқындады.

Қолданылған әдебиет көздері

1. Radionov A. The states of forest genetic resources in the SEC region. The Republic of Kazakhstan Country Report Food and Agriculture Organization of the United Nations Ankara. – 2013. – P.147.

2. Thomas S. C. Li. Sea Buckthorn: A New Medicinal and Nutritional Botanical // Thomas S. C. Li and Thomas H. J. Beveridge // Ottawa: Agriculture and Agri-Food Canada // (Publication series). – 2007. – 89 p.
3. Bernarth J. Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.): a promising new medicinal and food crop // Bernarth J., Foldesi D. // J. Herbs Spices Med. Plants. – 1992. – Vol. 1. – N 1–2. – P. 27–35.
4. Negi B. Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.): A multipurpose Plant // Negi B., Kaur R., Li T.S.C. and Schroeder W.R. // Hort Technology. – 1996. – V.6. – P. 370–380.
5. Shadmanova L.Sh. Current state and ecological features of *Hippophae rhamnoides* L. cenopopulations in Northern Kazakhstan // Shadmanova L.Sh., Mukan G.S., Akhatov K.Zh., Yeszhanova A.S., Kanapin Ch.B., Sitpaeva G.T. // The series «Biology. Medicine. Geography». – 2024. – V. 29. – 4 (116). – P. 101–107. DOI: <https://doi.org/10.31489/2024bmg4/101-107>.
6. Павлов Н.В. (ред.). *Флора Казахстана*: в 9 т. — Алма-Ата: Наука, 1956–1966.
7. Dzhangaliev A.D. The Wild Fruit and Nut Plants of Kazakhstan // Dzhangaliev A.D., Salova T.N., Turekhanova R.M. // John Wiley and Sons, Inc. – 2003. – PP. 361.
8. Frizen, N. 2007. *Molekulyarnye metody, ispol'zuemye v sistematike rastenii*. [Molecular methods used in plant systematics] // Barnaul: AzBuka. – P. 33–34.
9. Черепанов С.К. *Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР)*. – СПб.: Мир и семья - 95, 1995. – 990 с.
10. “POWO (2024). "Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet: <https://powo.science.kew.org/> Retrieved 09 September 2024."

Аннотация. Генетическое разнообразие является ключевым показателем эволюционного развития, адаптивности и долгосрочного выживания вида, поэтому его сохранение и изучение остаётся важной задачей. Облепиха крушиновидная (*Hippophae rhamnoides* L.), традиционно используемая человеком и обладающая высоким содержанием биологически активных веществ, приобретает всё большее экономическое значение.

В исследовании оценено генетическое разнообразие *H. rhamnoides* в техногенных зонах Северного Казахстана с использованием ISSR-маркеров. Семена собраны из двух популяций Пригородного лесничества Костанайской области.

ISSR-анализ выявил высокий уровень полиморфизма в пределах популяций (87%) и более низкий между ними (13%). Кластеризация UPGMA показала различия как между популяциями, так и внутри них, что отражает их неоднородное происхождение и возможность перекрёстного опыления.

Ключевые слова: генетическое разнообразие, молекулярные маркеры, популяция, облепиха крушиновидная.

Abstract. Genetic diversity is a key indicator of a species' evolutionary development, adaptability, and long-term survival, making its conservation and study an important scientific task. Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.), traditionally used for centuries and valued for its high content of bioactive compounds, is gaining increasing economic significance.

This study assessed the genetic diversity of *H. rhamnoides* in technogenic zones of Northern Kazakhstan using ISSR markers. Seeds were collected from two populations in the Prigorodnoye forestry of the Kostanay region.

ISSR analysis revealed a high level of polymorphism within populations (87%) and a lower level between them (13%). UPGMA clustering showed genetic differences both between and within populations, indicating heterogeneous origins and possible cross-pollination.

Key words: genetic diversity, molecular markers, population, Sea buckthorn.