

**Т.С. БАГАЦЬКА, Г.П. КАШЕВАРОВ**

Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка НАН України  
Україна, 01014 м. Київ, вул. Тімірязєвська, 1

## ДО ПИТАННЯ ПРО ГЕНЕТИЧНУ НЕОДНОРІДНІСТЬ *CENCHRUS LONGISPINUS* (HACK.) FERNALD (POACEAE) НА ТЕРИТОРІЇ УКРАЇНИ

У вітчизняній науковій літературі видова назва карантинного бур'яну *Cenchrus* змінювалася тричі. Методом PCR-RAPD проведено дослідження гербарних зразків з фондів Гербарію Національного ботанічного саду ім. М.М. Гришка НАН України. Одержані результати свідчать про генетичну неоднорідність зразків *C. longispinus* (Hack.) Fernald, знайдених на теренах України.

**Ключові слова:** *Cenchrus longispinus*, морфологічні та генетичні методи, Гербарій, генетична неоднорідність.

Наявність карантинних рослин на теренах нашої країни зумовлює необхідність їх кращого вивчення.

Рід *Cenchrus* (L.), який належить до родини Poaceae, налічує близько 25 видів [4], поширених у тропічних та субтропічних районах обох півкуль, а в Америці види цього роду трапляються і у помірному поясі [6].

Для представників роду характерна наявність твердих обгорток колосків, оснащених гострими шипами. До цвітіння та плодоношення більшість видів роду *Cenchrus* є добрими кормовими рослинами, однак під час цвітіння та досягання плодів рослина стає небезпечною для тварин. В Україні *Cenchrus longispinus* (Hack.) Fernald внесено до переліку карантинних рослин [5].

Історія назви виду *Cenchrus longispinus*, яку нині використовують фахівці в Україні, така. В Гербарії Інституту ботаніки імені М.Г. Холодного НАН України (KW) на етикетках перших екземплярів, знайдених Д.К. Ларіоновим у 1951 р., рослина позначена як *Cenchrus tribuloides* L. [3]. В.В. Протопопова у своїй монографії (1973) згадує карантинну рослину *Cenchrus pauciflorus* Benth. [6]. У 1995 р. С.Л. Мосякін вивчив

зразки ценхрису, зібрані в Україні, і порівняв їх з американськими. Отримані результати дали підставу стверджувати, що на теренах нашої країни, найімовірніше, зростає один вид — *Cenchrus longispinus*. Однак С.Я. Мосякін висловив припущення, що з часом в Україні можуть бути знайдені й інші види ценхрису [4].

Метою нашої роботи є уточнення видової приналежності рослин ценхрису, які зростають на території України.

### Вивчення морфологічних особливостей зразків насіння ценхрису

Ми вивчили морфологічні особливості п'яти гербарних зразків рослин ценхрису з фондів Гербарію Національного ботанічного саду (НБС) ім. М.М. Гришка НАН України (KWHN).

На рис. 1 наведено зразки насіння гербарних рослин ценхрису, використаних для досліджень.

На етикетці 1-го зразка зазначено: Herbarium of the University of Massachusetts. Plants of Massachusetts. Worcester Country, *Cenchrus longispinus* (Hackel) Fernald, railroad right-of-way, Worcester Collected by H.E. Ahles 81923 July 25, 1976.

У гербаризованій рослині стебла завдовжки 46–48 см, довжина сформованих

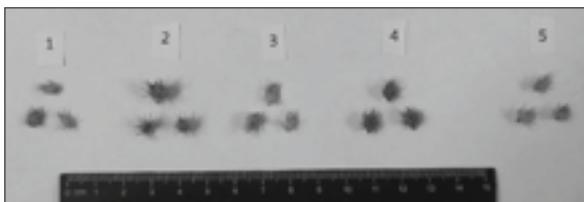


Рис. 1. П'ять зразків насіння центхрусу з КВНА

суцвіть — 4,5–5,3–6,0 см, вони складаються з 9, 11 та 13 колосків. Бічні пагони на верхівці мають молоді суцвіття, ще обгорнуті листками.

Зовнішні тверді обгортки кожного колоска блідо-зеленого забарвлення, кулясті, злегка сплюснуті, 4,0–4,5 мм завширшки, з 28–45(40–51) шипами, основа яких трохи ширша за середину. При основі обгортки є 10–12 тонших і менших (приблизно вдвічі-втричі) шипів. Обгортка та шипи помірно опушені.

Етикетка 2-го зразка містить таку інформацію: Herbarium Instituti botanici acad. Scient. RSS UCR (KW) Гербарій Інституту ботаніки Академії наук УРСР. *Cenchrus pauciflorus* Benth. Адвентивний північноамериканський злак (*C. tribuloides* auct.), м. Київ, піски вздовж залізниці біля ст. Київ–Петрівка. 24.X.1987. Зібрав та визначив Мосякін С.Л.

Рослина цього зразка має п'ять стебел довжиною від 28 до 55 см, найдовше стебло має бічні відгалуження. Верхівка кожного стебла закінчується суцвіттям. Суцвіття бокових гілочок обгорнуті листками і ще не зовсім розвинуті. Суцвіття центрального стебла добре розвинене, завдовжки 6,0 см, складається з 12 колосків у колючих обгортках, які легко відокремлюються від стрижня. Кожна обгортка майже кулястої форми, 5–6 мм завширшки, з 40 — 50 шипами. Основа шипів розширена до 1 мм. Наявні кілька пар шипів з однією основою. Обгортка коричнево-вишневого забарвлення, помірно опушена, шипи опушені до половини та мають зазублини.

Згідно з етикеткою рослина 3-го зразка надійшла до Гербарію НБС від колектора

М.С. Щепця. Її зібрано в м. Києві, по вул. Княжий Затон на житловому масиві Позняки 30.07.2004 р. Визначено Т.С. Багацькою як *Cenchrus longispinus* (Hack.) Fernald. На етикетці рослина зазначена як карантинний бур'ян. Довжина стебел — 24–37 см, довжина суцвіть з 9–11 плодами — 4,5–5,0 см. Обгортки тверді, видовжені, розмір обгортки (без шипів) — 2,5–3,0 мм. Шипів 10–15–18, їхні основи розширені, іноді утворюють пари (немовби широкий шип розрізано навпіл). Обгортки блідо-зеленого кольору.

Рослини *Cenchrus longispinus* (Hack.) Fernald 4-го зразка спеціально надіслані для цього дослідження О.Ю. Уманець із Чорноморського заповідника (Голопристанський р-н, Херсонська обл.). Рослини зібрано 11–13 листопада 2008 р. на ділянках Івано-Рибальчанська та Солоноозерна, розташованих на Олешківських пісках арени Іванівська та Кінбурзького півострова. Більшість колосків яйцеподібні, видовжені, рідше — більш округлої форми. Довжина суцвіть — 4,5–5,5 см, вони мають 7–9 колючих обгортки. Розмір обгортки без шипів — 3–5 мм, основи шипів розширені, деякі утворюють пари. Плоди помірно опушені, на шипах опушення є лише в базальній частині, власне шип має лише зазублини.

На етикетці 5-го зразка зазначено: *Cenchrus longispinus* (Hack.) Fernald, Київ, берег оз. Алмазного. Газон уздовж автотраси. Після випалювання. 19.08.2008. Рослина зібрана та визначена Багацькою Т.С.

Зовнішні обгортки зернівок цього зразка блідо-зеленого забарвлення, кулясті, злегка сплюснуті, 4,0–4,5 мм завширшки, з 30–40 шипами, їхня базальна основа дещо ширша за середину. При основі обгортки розташовані тонші шипи, спрямовані донизу. Обгортка та шипи помірно опушені.

#### Вивчення зразків насіння центхрусу методом PCR-RAPD

Сучасні флористичні дослідження неможливі без застосування генетичних методів [1].

Для визначення генетичної спорідненості гербарних зразків ценхрусу, які зберігаються в КВНА, вперше застосовано методику PCR-RAPD [2].

ДНК рослини виділяли з обгортки, розтертих у рідкому азоті, з використанням СТАВ [9].

Спектральні характеристики отриманих зразків ДНК та її кількість визначали за допомогою спектрофотометра Nano-Drop (США).

ДНК виділених зразків вивчали методом PCR-RAPD (ампліфікатор Crea-Con, Нідерланди, Taq-полімераза, dNTPs, GeneRuler 100bp Plus DNA Ladder — Fermentas, Литва) з використанням дванадцяти 10-нуклеотидних праймерів — OPP-1, OPP-2, OPP-3, OPP-4, OPP-9, OPP-10, OPP-11, OPP-12 (Oregon Technologies) та синтезованих «Macrochem» (UA) (TCCACCGAGC, GAGCCAACCG, AGTCAGCCAC, AGGTGACCGT; 1, 6, 7, 9 відповідно).

Ампліфіковані фрагменти ДНК розділяли методом електрофорезу у 1,7 % агарозному гелі з подальшою візуалізацією з бромистим етидієм. Гелі фотографували в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм (трансільюмінатор Vilbert Lourmat, Франція) за допомогою системи фотодокументації Vilbert Lourmat. Генетичну подібність оцінювали за програмою POPGENE.

#### Результати досліджень та обговорення

На рис. 2–5 наведено фото гелів ампліфікованих фрагментів ДНК ценхрусу в УФ-світлі з використанням різних праймерів.

У результаті аналізу ДНК зразків *Cenchrus* за допомогою RAPD-праймерів ідентифіковано 193 локуси, з яких 118 (61,4%) виявилися поліморфними. У літературі відсутні дані щодо вивчення ДНК видів *C. longispinus* і *C. rauciflorus* та їх порівняння з іншими видами. За Gustine et al. [10], дещо вищі рівні поліморфізму отримано при дослідженні ДНК *Cenchrus ciliaris* L. — 87%, а Chandra, Dubey [8] наводять цифру 93% для 8 видів роду *Cen-*

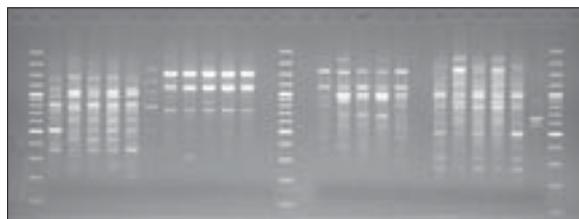


Рис. 2. Праймери «Macrochem» 1, 6, 7, 9. Зліва направо – зразки 1–5; крайній праворуч – blend

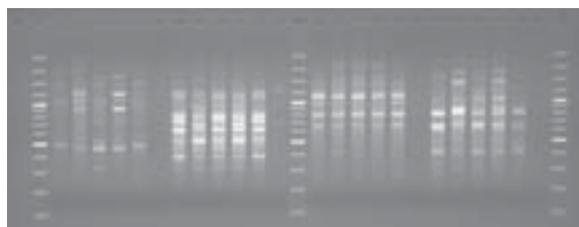


Рис. 3. Праймери OPP 9, 10, 11, 12. Зліва направо – зразки 1–5; крайній праворуч – blend

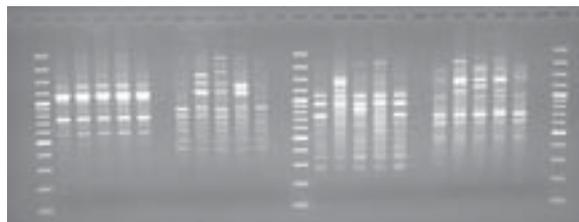
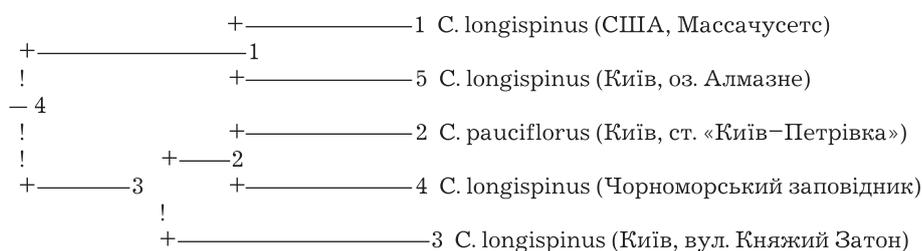


Рис. 4. Праймери OPP 1, 2, 3, 4. Зліва направо – зразки 1–5; крайній праворуч – blend



Рис. 5. Праймери OPP 5, 6, 7, 8. Зліва направо – зразки 1–5; крайній праворуч – blend

chrus (*C. ciliaris* L., *C. setigerus* Vahl., *C. penisetiformis* Hochst. ex Steud., *C. myosuroides* Kunth, *C. glaucus* Mudalier et Sundaraj, *C. priourri* (Kunth) Maire, *C. biflorus* Roxb., *C. echinatus* L.).

Рис. 6. Дендрограма видів *Cenchrus*

У подальшому RAPD-маркери використано для оцінки генетичної подібності і дистанції між вивченими зразками *Cenchrus*. Результати RAPD-аналізу показали, що генетична дистанція  $D_N$  Nei [11] між дослідженими зразками варіювала від 0,1751 до 0,5993 (таблиця). Найменше значення  $D_N$  виявлено для генетичної дистанції між *C. longispinus* із США, який було прийнято за еталонний, та *C. longispinus* із Києва (оз. Алмазне) (0,1751), а найбільше — для дистанції між *C. longispinus* із США та зі ст. Київ–Петрівка — 0,5993.

Дендрограма, представлена на рис. 6, ілюструє взаємозв'язки між вивченими зразками *Cenchrus*. Вона побудована на основі значень генетичної дистанції  $D_N$  Nei і відображує генетичну диференціацію досліджених видів *Cenchrus* за результатами PCR-RAPD-дослідження.

Як видно з дендрограми, *C. longispinus* — 1-й зразок (США), який ми прийняли за еталонний вид, та 5-й зразок (оз. Алмазне) утворили один кластер, що вказує на подіб-

ність їхніх генетичних структур. В інший кластер потрапили *C. pauciflorus* з м. Києва (2-й зразок) та *C. longispinus* із Чорноморського заповідника (4-й зразок).

Окреме місце займає *C. longispinus* з київського масиву «Позняки» (3-й зразок) із значенням  $D_N$  0,4344.

### Висновки

1. Вперше за результатами PCR-RAPD-дослідження виявлено генетичну неоднорідність рослин *Cenchrus*, які зростають в Україні.

2. У Києві зростає *C. longispinus*, оскільки рослини, зібрані на березі оз. Алмазне генетично подібні до американської рослини, прийнятої нами за еталон виду *C. longispinus*.

Два інших зразки — рослини з Києва (ст. Київ–Петрівка, зразок 2) та Чорноморського заповідника (зразок 4) — також генетично подібні але відрізняються від рослин, зібраних на березі оз. Алмазне. Тому можна припустити, що в Києві і на території України загалом зростають декілька різновидів або, можливо, видів *Cenchrus*.

3. Питання про статус інших різновидів *Cenchrus*, установлених за результатами PCR-RAPD-дослідження, залишається відкритим і потребує уточнення, оскільки ми маємо еталон лише одного виду з природних місць зростання у США (*C. longispinus*), а еталонний зразок виду *C. pauciflorus* з його батьківщини відсутній.

4. На нашу думку, подальші дослідження роду *Cenchrus* в Україні, його генетична диференціація та проведення генетичного

### Генетичні характеристики зразків ценхрусу

pop ID	1	2	3	4	5
1	—	0,5492*	0,6477*	0,6062*	0,8394*
2	0,5993	—	0,7358*	0,8290*	0,5648*
3	0,4344	0,3069	—	0,7720*	0,6736*
4	0,5005	0,1875	0,2587	—	0,6321*
5	0,1751	0,5713	0,3952	0,4587	—

Примітка: \* — коефіцієнт генетичної подібності, решта значень — генетична дистанція  $D_N$  Nei.

моніторингу потребують застосування молекулярно-генетичних методів з використанням молекулярних маркерів.

1. Багацька Т.С. Конференція, присвячена 300-річчю від дня народження Карла Ліннея // Інтродукція рослин. — 2007. — № 3. — С. 98–100.

2. Багацька Т.С., Кашеваров Г.П. Вивчення карантинного бур'яну *Cenchrus longispinus* (Hack.) Fernald, розповсюдженого в Україні, методом PCR-RAPD // Інтродукція рослин. Збереження та збагачення біорізноманіття в ботанічних садах і дендропарках: Матеріали міжнар. наук. конф., присвяченої 75-річчю заснування Нац. ботан. саду ім. М.М. Гришка НАН України (15–17 вересня 2010 р.). — К.: Фітосоціоцентр, 2010. — С. 581–583.

3. Ларіонов Д.К. Ценхрус як ірцевий на Україні // Ботан. журн. УАН. — 1951. — 8, № 3. — С. 78–79.

4. Мосякін С.Л. *Cenchrus* (Poaceae) в Україні: огляд номенклатури, систематики та сучасного поширення // Укр. ботан. журн. — 1995. — 52, № 1. — С. 120–125.

5. Обзор распространения карантинных вредителей, болезней и сорных растений в Украине (на 1 января 2003 г.). — К., 2003. — 150 с.

6. Протопопова В.В. Адвентивні рослини Лісо-stepу і Степу України. — К.: Наук. думка, 1973. — 192 с.

7. Рожевиц Р.Ю. Злаки. Введение в изучение кормовых и хлебных злаков. — М., Л.: Сельхозгиз, 1937. — 636 с.

8. Chandra A., Dube A. Evaluation of genus *Cenchrus* based on malondialdehyde, proline content, specific leaf area and carbon isotope discrimination for drought tolerance and divergence of species at DNA level // Acta Physiolog. Plantarum. — 2008. — 30 (1). — P. 53–61.

9. Chandra A., Saxena R. A rapid protocol for isolation genomic DNA from tropical grass species suitable for RAPD, ISSR and STS // Cytologia (Japan). — 2007. — 72 (4). — P. 427–434.

10. Gustine D.L., Sherwood R.T., Gounaris Y., Huff D. Isozyme, protein and RAPD markers within a half-sib family of buffergrass segregating for apospory // Crop science (USA). — 1996. — 36 (3). — P. 723–727.

11. Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals // Genetics. — 1978. — 89. — P. 583–590.

Рекомендував до друку В.І. Мельник

Т.С. Багацька, Г.П. Кашеваров  
Национальный ботанический сад  
им. Н.Н. Гришко НАН Украины,  
Украина, г. Киев

К ВОПРОСУ О ГЕНЕТИЧЕСКОЙ  
НЕОДНОРОДНОСТИ *CENCHRUS*  
*LONGISPINUS* (HACK.) FERNALD (POACEAE)  
НА ТЕРРИТОРИИ УКРАИНЫ

В отечественной научной литературе видовое название карантинного растения *Cenchrus* изменялось трижды. Методом PCR-RAPD проведены исследования гербарных образцов из фондов Гербария Национального ботанического сада НАН Украины им. Н.Н. Гришко. Полученные результаты свидетельствуют о генетической неоднородности образцов *C. longispinus* (Hack.) Fernald, найденных на территории Украины.

**Ключевые слова:** *Cenchrus longispinus*, морфологические и генетические методы, Гербарий, генетическая неоднородность.

T.S. Bagatska, G.P. Kashevarov

M.M. Gryshko National Botanical Gardens,  
National Academy of Sciences of Ukraine,  
Ukraine, Kyiv

TO THE PROBLEM OF *CENCHRUS*  
*LONGISPINUS* (HACK.) FERNALD (POACEAE)  
GENETIC HETEROGENEITY IN UKRAINE

The nomenclature of *Cenchrus*, a quarantine species in Ukraine, has changed three times in national scientific publications. Herbarium specimens deposited in the Herbarium of M.M. Gryshko Botanical Gardens of the NAS of Ukraine were studied by PCR-RAPD method. Results of research are indicative of genetic heterogeneity of *C. longispinus* (Hack.) Fernald in Ukraine.

**Key words:** *Cenchrus longispinus*, morphological and genetic methods, Herbarium, genetic heterogeneity.