

УДК 575.2:577.21

ПОЛІМОРФІЗМ ДОВЖИНИ ІНТРОНІВ ГЕНІВ β -ТУБУЛІНУ У РОСЛИН *ULMUS RUMILA* L. В СТЕПОВОМУ ПРИДНІПРОВ'І

Я. В. ПІРКО¹, Л. О. КАЛАФАТ¹, Н. М. ПІРКО¹, А. М. РАБОКОНЬ¹, С. М. ПРИВАЛІХІН¹,
А. Є. ДЕМКОВИЧ¹, Ю. О. БІЛОНОЖКО¹, О. А. КРАВЕЦЬ¹, А. А. АЛЕКСЄЄВА²,
Н. О. ХРОМИХ², Ю. В. ЛИХОЛАТ²

¹ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України»
Україна, 04123, Київ, вул. Осиповського, 2а
e-mail: yarvp1@gmail.com, kalafatlubov@gmail.com

²Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара
Україна, 49000, Дніпро, Дніпропетровська область, проспект Гагаріна, 72

Мета. За допомогою ДНК-маркерів, що пов'язані з генами, які кодуєть β -тубулін у рослин, провести оцінку внутрішньовидового генетичного поліморфізму *Ulmus rumila* L. у Степовому Придніпров'ї та порівняти його з поліморфізмом цього виду в межах природного ареалу. **Метод.** Аналіз поліморфізму довжини інтронів генів β -тубуліну (ТВР-метод). **Результати.** При порівнянні електрофоретичних профілів, отриманих на основі ТВР-аналізу для *U. rumila* встановлено, що рослини між собою мало відрізняються за кількістю виявлених ампліконів та характером їх розподілу. Половина виявлених у вибірках фрагментів належить до рідкісних. Середня кількість фрагментів (алелей) на локус (*Ne*), інформаційний індекс Шенона (*I*) та показник вмісту поліморфної інформації (*PI*) дорівнювали відповідно: 1,26, 0,27, 0,21, і виявилися нижчими, ніж у природної популяції, проаналізований з використанням мікросателітних маркерів. **Висновки.** Рослини *U. rumila*, що зростають у Степовому Придніпров'ї за ТВР-маркерами мають менший рівень генетичної різноманітності, ніж було виявлено під час аналізу природних популяцій за допомогою інших молекулярних маркерів. Серед можливих причин можуть бути характер (методика) створення та вік аналізованих деревостанів, а також природа генетичних маркерів, що були використані для аналізу генетичного поліморфізму виду.

Ключові слова: ТВР-метод, інтрони, β -тубулін, *Ulmus rumila*, генетичне різноманіття.

Вступ. Інвазії чужорідних видів за межі їх первинних ареалів носять глобальний характер, їх натуралізація і подальше розповсюдження може викликати екологічні катастрофи, небажані економічні та соціальні наслідки. На сьогодні біологічні інвазії розглядаються як «біологічне забруднення».

Чужорідні організми, що успішно заселилися, можуть розмножуватися і поширюватися в навколишньому середовищі, знищуючи аборигенні види, порушуючи структуру біотичних угруповань, часто з непередбачуваними й необоротними наслідками [1–3]. Це обумовлює особливу небезпеку біологічного забруднення і визначає специфіку заходів боротьби. Такі заходи повинні носити переважно превентивний характер, тобто бути спрямованими на послаблення та стримування цього процесу [1]. Зростання інвазивності адвентивних видів створює додаткову загрозу для місцевої флори, а саме: зростання ризиків зникнення видів, зниження їх щільності; істотні зміни генетичної структури популяцій нативних видів, філогенетичного і таксономічного різноманіття, продуктивності екосистем.

Не зважаючи на високий рівень присутності адвентивних рослинних видів у Степовому Придніпров'ї, дотепер не приділено належної уваги системному вивченню процесів, пов'язаних із зростанням ступеня інвазивності рослин у регіоні та його можливими наслідками.

Попередньо встановлено, що флуктуації регіональних температурних та інших кліматичних параметрів упродовж останніх десятиліть асоціюються, зокрема, зі збільшенням чисельності популяцій деревних адвентивних рослинних видів та зростанням їх розповсюдження у природних і штучних місцезростаннях на території регіону [4]. Тому вивчення механізмів розвитку інвазивності адвентивних рослинних видів на основі молекулярно-генетичних досліджень є актуальною проблемою, що очікує свого вирішення.

Ulmus pumila L. (в'яз приземкуватий) — є інвазивним видом в Україні й здатний до перехресної гібридизації [1]. Досить агресивно він проявив себе і на території інших країн [5–7].

В дослідженнях ряду авторів було показано, що природна гібридизація між занесеними та близькими до них природними видами зустрічається досить часто і може створити серйозні проблеми збереження біорізноманіття [8, 9]. Зокрема на території Італії зафіксовано міжвидові гібриди між *U. pumila* та *U. minor* [10]. Подальша гібридизація може призвести до генетичної асиміляції та можливих втрат родових таксонів [11, 12]. Гібридизація між видами також може стимулювати посилення інвазивності шляхом збільшення генетичної різноманітності та створення нових генотипів [8–13].

Більш повному розумінню мікроеволюційних процесів, пов'язаних із адаптивними можливостями та інвазивністю рослинних видів сприятиме дослідження молекулярно-генетичної структури популяцій. Раніше для встановлення генетичних взаємовідносин використовували методи якісної фенетики, електрофорез білків з насіння, ізоферментний аналіз. Згодом поширення набули молекулярні маркери із застосуванням полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), серед яких активно використовуються для потреб популяційної генетики мікросателітні повтори (SSR) [14]. В той же час, як джерело ДНК-поліморфізму все більшої популярності набувають інтрони. Встановлено, що інтрони беруть участь у численних важливих молекулярних подіях — контролі експресії генів через механізм альтернативного сплайсингу та інших процесах [15–19]. Еволюція екзонних і інтронних послідовностей йде з різною швидкістю [20, 21], при цьому інтрони є гіперваріабельними ділянками, і можуть мати різний нуклеотидний склад і довжину, навіть у межах однієї таксономічної одиниці. Таким чином доцільним є використан-

ня маркерних систем, що ґрунтуються на вивченні поліморфізму інтронів, зокрема на поліморфізмі довжини інтронів генів β -тубуліну (TBP, Tubulin Based Polymorphism) [22]. Остання вважається надійною, стабільно працюючою для різних видів вищих рослин, системою молекулярно-генетичних маркерів.

Мета роботи — за допомогою TBP-аналізу дослідити генетичний поліморфізм дерев *Ulmus pumila* L. у Степовому Придніпров'ї та порівняти його з поліморфізмом цього виду в межах природного ареалу.

Матеріали та методи

Для виділення ДНК та подальшої оцінки поліморфізму інтронів генів β -тубуліну використовували вегетативний матеріал (термінальні бруньки із фрагментами пагонів та листові пластинки), зібраний із 20 дерев на кожній з трьох пробних ділянок *U. pumila* (ПП2, ПП3, ПП4), які були закладені у Степовому Придніпров'ї.

Ділянка ПП 2 (середній вік рослин — 14 років): розташована в межах центральної частини с. Андріївка Новомосковського району Дніпропетровської області. Екземпляри *U. pumila* зростають вздовж ґрунтової та асфальтованої сільської дороги. Ділянка ПП 3 (середній вік рослин — 7 років): зелені насадження знаходяться між навчальними корпусами студентського містечка Дніпровського національного університету ім. Олеса Гончара м. Дніпро. Антропогенно-трансформовані. На ділянці зростають *Ulmus pumila* L. та *Ulmus minor* Mill. Ділянка ПП 4 (середній вік рослин — 10 років). Це відкрита ділянка прямокутної форми (приблизно 80 × 90 м) з розвинутим трав'яним покривом із рудерально-степових та рудерально-лугових видів. Екземпляри *U. pumila* зустрічаються по всій території (всього близько 100 екземплярів).

Геномну ДНК екстрагували з вегетативного матеріалу ЦТАБ-методом [23]. Якість і кількість ДНК перевіряли за допомогою електрофорезу в 1,5 % агарозному гелі і спектрофотометрично на біофотометрі «Eppendorf» з визначенням концентрації і ступеня забруднення ДНК. Зразки ДНК зберігали при -20 °С. TBP-аналіз проводили згідно з Брєвіаріо та ін. [24]. Послідовності праймерів, які зазначені в літературі [24], що дозволяють напрацьовувати інтронні ділянки генів β -тубуліну, були наступними: TBP-F: 5'-AACTGGGCBAARGGNCAAYTAYAC-3'; TBP-R: 5'-ACCATRCAYTCRTCDGCRTTYTC-3'.

ПЛР проводили на ампліфікаторі Thermal Cycler 2720 («Applied Biosystems», США). Реакційна суміш (об'ємом 10 мкл) містила п'ятикратний ПЛР буфер з сульфатом амонію, 2,5 ммоль $MgCl_2$, 50 нг рослинної ДНК, 1 μM кожного з праймерів, 0,2 мм кожного dNTPs, 0,5 од. Тақ полімерази («Fermentas», Литва). Ампліфікацію проводили за наступним протоколом: початкова денатурація (94 °C) — 3 хв, 35 циклів ампліфікації (денатурація 94 °C — 30 с, відпал праймерів 55 °C — 40 с, подовження 72 °C — 1,5 хв), кінцеве подовження 72 °C — 8 хвилин, 15 °C — утримання [25].

Кожну ПЛР-реакцію проводили як мінімум в триразовій повторності з використанням негативного контролю, що дає можливість при подальшому електрофоретичному аналізі виявити неспецифічні продукти ампліфікації. Продукти ПЛР (0,5 мкл) розділяли за допомогою електрофорезу в 6 % неденатуруючому поліакриламідному гелі в 1x TBE-буфері [25] при 300 В протягом 4 годин разом з ДНК-маркером (O'Gene Ruler™ 100bp Plus DNA Ladder, ready-to-use; «Fermentas», Литва). Візуалізацію фрагментів проводили шляхом фарбування гелів нітратом срібла [26, 27]. Після електрофорезу і проявлення гелю фотографували у видимому світлі та отримані зображення піддавали подальшому аналізу.

Аналіз зображень електрофоретичних гелів та визначення довжини відтворюваних і чітких

фрагментів (бендів) визначали за допомогою програми GelAnalyzer:

(<http://www.gelanalyzer.com/>).

Рівень поліморфізму ТВР-маркерів оцінювали за допомогою показника PIC (Polymorphism Information Content) за формулою:

$$PIC = \frac{\sum_{i=1}^n (1 - f_{ai}^2 - f_{bi}^2)}{n},$$

де n — загальна кількість фрагментів, що були оцінені, f_a частка випадків (рослин), у яких був відсутній i -й фрагмент, та f_b частка рослин, у яких цей фрагмент був присутній [24, 28].

Результати та обговорення

Аналіз ТВР локусів у 60 дерев *Ulmus pumila* загалом виявив 10 зон (рис. 1). При цьому 9 з 10 — є поліморфними. Мономорфними для всіх зразків були зони з приблизною молекулярною вагою 380 пар нуклеотидів (п.н.). Зона розподілу всіх чітких та відтворюваних фрагментів знаходиться в діапазоні від 380 п.н. до 450 п.н. Вище цієї зони також спостерігаються окремі фрагменти, проте вони є досить нечіткими і детектуються не кожного разу. При порівнянні електрофоретичних профілів інтронів генів β -тубуліну, отриманих на основі ТВР-методу для *U. pumila*, можна відмітити, що рослини відрізняються незначно за кількістю ампліконів та їх розподілом і розмірами.

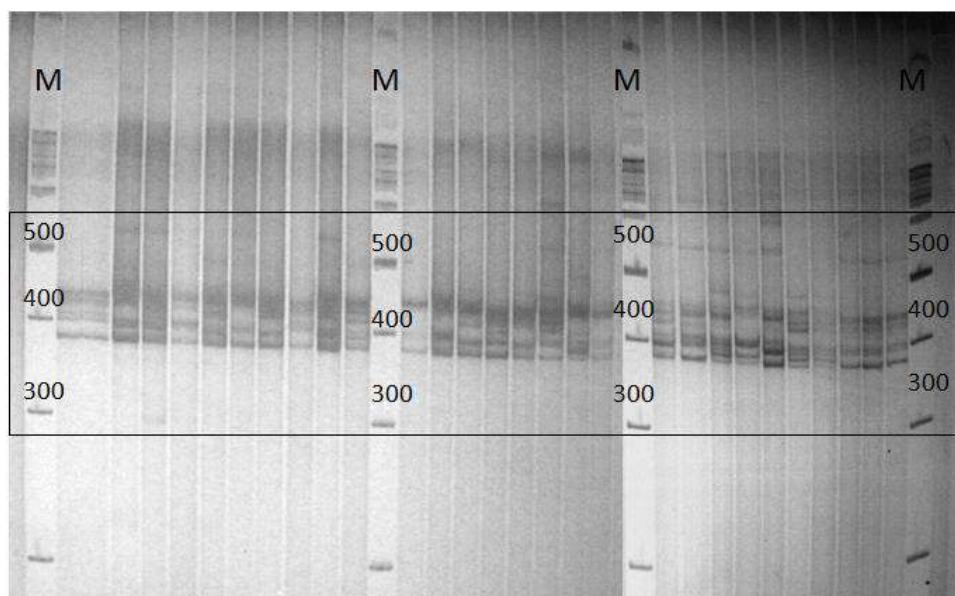


Рис. 1. Електрофореграма з типовими ампліконами ділянок інтронів генів β -тубуліну дерев *Ulmus pumila* L.: М — маркер молекулярної ваги.

Частоти фрагментів представлено на рис. 2. Кумулятивна частота половини з них (5 фрагментів) складає менше 20 %. Найчастіше зустрічаються фрагменти з приблизною довжиною 380 п.н. (частота 100 %), 395 п.н. (частота

складає від 55 % до 80 %) та 435 п.н. (частота складає від 90 % до 100 %). Отже, половина виявлених фрагментів відноситься до рідкісних (рис. 2а), а фрагмент довжиною 410 п.н. виявився унікальним для ділянки ПП4 (рис. 2б).

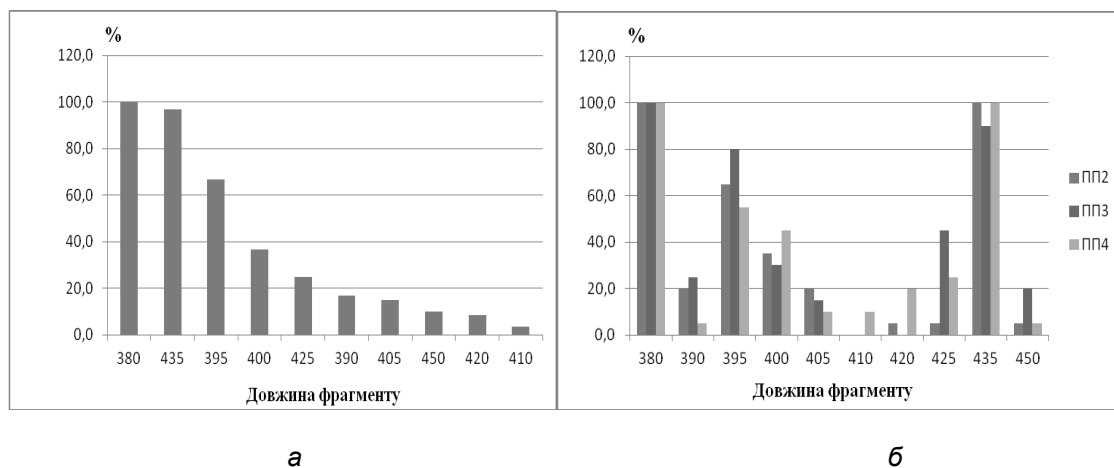


Рис. 2. Частоти фрагментів, отриманих за використання ТВР-маркерів у рослин *Ulmus pumila* L.

Оцінка показників поліморфізму за ТВР-маркерами, проведена для досліджених ділянок, виявила зниження кількості фрагментів на ділянці ПП2 ($N_e = 1,20$), порівняно з ділянками ПП3 та ПП4 ($N_e = 1,34$ та $1,23$, відповідно) (рис. 3). За інформаційним індексом Шенона також спостерігаються відмінності між ділянкою ПП2 ($I = 0,22$) і ділянками ПП3 та ПП4 ($I = 0,33$ та $0,26$ відповідно). Оскільки ТВР належить до біалельних маркерів доцільно було використання показника вмісту поліморфної інформації (PIC) для оцінки

генетичного різноманіття досліджених ділянок. Значення цього показника змінювалося наступним чином: найменше значення спостерігалось у рослин ділянки ПП2 ($0,18$), а найвище у рослин ділянки ПП3 ($0,24$). Для будь-якого біалельного маркера максимальна оцінка PIC становить $0,5$ [28]. В цілому значущих відмінностей у показниках, що характеризують генетичний поліморфізм *U. pumila* на досліджуваних ділянках, не виявлено. Тобто, дерева суттєво не відрізнялися за ТВР-профілями.

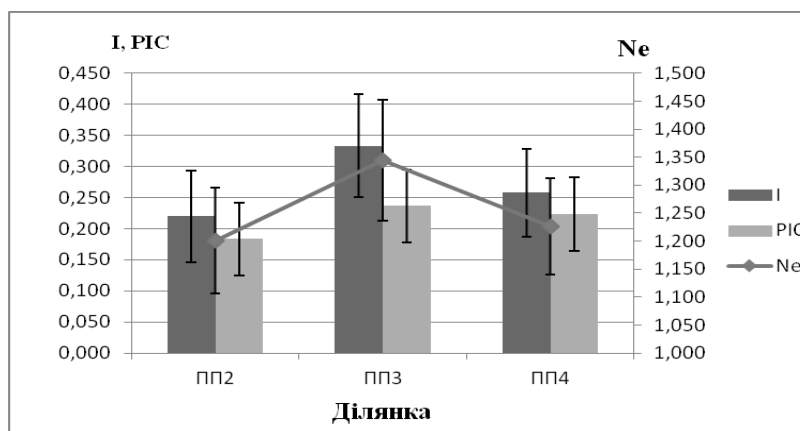


Рис. 3. Основні показники алельного різноманіття у рослин *Ulmus pumila* L. за ТВР-маркерами.

Слід зазначити, що рівень поліморфізму, оцінений за 15 мікросателітними локусами у 53 дерев *U. pumila* з Китаю, виявився дещо вищим ($A_e = 1,89$, $I = 0,56$, $H_e = 0,27$) [5], але для даного дослідження не вказано вік аналізованих дерев. Для популяцій *U. glabra* Huds., що зростають у сприятливих умовах Іберійського півострова поліморфізм за 22 локусами також виявився вищим ($N_e = 1,711-2,803$, $I = 0,547-1,047$, $H_e = 0,310-0,590$) [29]. Той факт, що отримані в даному дослідженні оцінки нижчі порівняно із рівнем генетичного різноманіття в вибірках Степового Придніпров'я, можна пояснити віком аналізованих рослин. У Придніпров'ї аналізувалися молоді рослини (середній вік 7–14 років), які не пройшли стадію добору. Не виключено, що серед цих рослин є немало гомозиготних генотипів, які з часом під дією зовнішніх факторів середовища, можуть бути еліміновані відбором на користь більш гетерозиготних генотипів. Також менша генетична різноманітність вибірок за результатом аналізу з використанням ТВР-маркерів може бути пояснена більшою мінливістю мікросателітів у порівнянні з інтронами генів β -тубуліну.

Подальший аналіз молекулярної варіанси (AMOVA) виявив незначні відмінності досліджених рослин різних ділянок (рис. 4). Так у складі загальної генетичної гетерогенності виду за ТВР-маркерами 96 % генетичного різноманіття *U. pumila* припадає на внутрішньовибірковий поліморфізм, і лише 4 % складає міжвибірковий. Наприклад, у дослідженні природних популяцій *U. glabra* з Іберійського півостро-

ва міжпопуляційна мінливість склала значну частку — 34 %, а мінливість, пов'язана з внутрішньопопуляційною мінливістю склала — 76 %, що, вірогідно, пов'язано із невеликою кількістю проаналізованих рослин в окремих популяціях і підвищеним впливом клонального відновлення *U. glabra* на порушених ділянках [30].

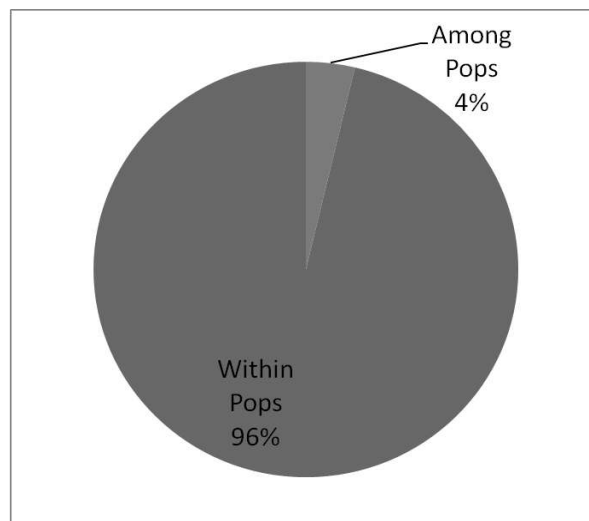


Рис. 4. Співвідношення міжвибіркової та внутрішньовибіркової генетичної мінливості вибірок *Ulmus pumila* L.

Аналіз деревостанів *U. pumila* методом головних компонент не виявив високого ступеню ординації вибірок в просторі головних компонент (рис. 5).

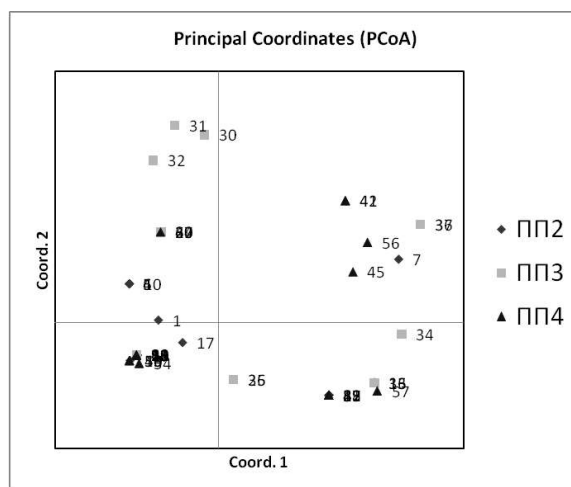


Рис. 5. Розташування вибірок *Ulmus pumila* L. в просторі перших двох головних компонент.

Таким чином, при використанні ТВР-методу вставлено, що досліджені вибірки рослин *U. pumila* не мають помітної просторової структури. Її відсутність може свідчити про штучне походження дерев із різного насінневого матеріалу. В цілому ж *U. pumila* у Степовому Придніпров'ї за дослідженими локусами характеризується відносно низьким рівнем генетичної мінливості.

Висновки

Деревостани *U. pumila*, що зростають у Степовому Придніпров'ї за ТВР-маркерами мають менший рівень генетичної мінливості, ніж було виявлено під час аналізу природних популяцій за допомогою мікросателітних локусів. Серед можливих причин можуть бути характер (методика) створення та вік аналізованих деревостанів, а також природа генетичних маркерів, що були використані для аналізу генетичного поліморфізму виду.

Перелік літератури

1. Protopopova V. V., Shevera M. V. Ergasiophytes of the Ukrainian flora. Biodiv. Res. Conserv. 2014. Vol. 35. P. 31–46. doi: 10.2478/biorc-2014-0018.
2. Sandvik H., Sæther B., Holmern T. et al. Generic ecological impact assessments of alien species in Norway: a semi-quantitative set of criteria. Biodivers Conserv. 2013. Vol. 22. P. 37–62. doi: 10.1007/s10531-012-0394-z.
3. Pacanoski Z., Saliji A. The first detailed report for invasive *Erigeron annuus* (L.) Pers. (daisy fleabane) in Republic of Macedonia. Academia Journal of Agricultural Research. 2015. Vol. 3, No. 9. P. 204–212. doi: 10.15413/ajar.2015.0161.
4. Lykholat Y. V., Khromykh N. A., Ivan'ko I. A. et al. Assessment and prediction of the invasiveness of some alien plants in conditions of climate change in the steppe Dnieper region. Biosystems Diversity. 2017. Vol. 25, No. 1. P. 52–59. doi: 10.15421/011708.
5. Zalapa J. E., Brunet J., Guries R. P. Patterns of hybridization and introgression between invasive *Ulmus pumila* (Ulmaceae) and native *U. rubra*. American Journal of Botany. 2009. Vol. 96, No. 6. P. 1116–1128. doi: 10.3732/ajb.0800334.
6. Hirsch H., Brunet J., Zalapa J. E. et al. Intra- and interspecific hybridization in invasive Siberian elm. Biol. Invasions. 2017. Vol. 19, No. 6. P. 1889–1904. doi: 10.1007/s10530-017-1404-6.
7. Bertolasi B., Leonarduzzi C., Piotti A. et al. A last stand in the Po valley: genetic structure and gene flow patterns in *Ulmus minor* and *U. pumila*. Annals of Botany. 2015. Vol. 115, No. 4. P. 683–692. doi: 10.1093/aob/mcu256.
8. Ellstrand N. C., Schierenbeck K. Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA. 2000. Vol. 97. P. 7043–7050. doi: 10.1073/pnas.97.13.7043.
9. Rieseberg L. H., Raymond O., Rosenthal D. M. et al. Major ecological transitions in wild sunflowers facilitated by hybridization. Science. 2003. Vol. 301. P. 1211–1216. doi: 10.1126/science.1086949.
10. Brunet J., Zalapa J. E., Pecori F., Santini A. Hybridization and introgression between the exotic Siberian elm, *Ulmus pumila*, and the native Field elm, *U. minor*, in Italy. Biol Invasions. 2013. Vol. 10. P. 53–66. doi: 10.1007/s10530-013-0486-z.
11. Rhymer J. M., Simberloff D. Extinction by hybridization and introgression. Annual Review of Ecology and Systematics. 1996. Vol. 27. P. 83–109. doi: 10.1146/annurev.ecolsys.27.1.83.
12. Hedge S. G., Nason J. D., Clegg J. M., Ellstrand N. C. The evolution of California's wild radish has resulted in the extinction of its progenitors. Evolution. 2006. Vol. 60. P. 1187–1197. doi: 10.1111/j.0014-3820.2006.tb01197.x
13. Sakai A. K., Allendorf F. W., Holt J. S. et al. The population biology of invasive species. Annual Review of Ecology and Systematics. 2001. Vol. 32. P. 305–332. doi:10.1146/annurev.ecolsys.32.081501.114037.
14. Geng Q. F., Yang J., He J. et al. Microsatellite markers for the critically endangered elm species *Ulmus gaussonii* (Ulmaceae). Genes Genet Syst. 2016. Vol. 91, No. 1. P. 11–14. doi: 10.1266/ggs.15-00053.
15. Braglia L., Manca A., Mastromauro F., Breviario D. cTBP: A successful intron length polymorphism (ILP)-based genotyping method targeted to well defined experimental needs. Diversity. 2010. Vol. 2. No. 4. P. 572–585. doi:10.3390/d2040572.
16. Le Hir H., Nott A., Moore M. J. How introns influence and enhance eukaryotic gene expression. Trends in Biochemical Sciences. 2003. Vol. 28, No. P. 215–220. doi: 10.1016/S0968-0004(03)00052-5.
17. Li S.-C., Tang P., Lin W.-C. Intronic Micro RNA: discovery and biological implications. DNA and Cell Biology. 2007. Vol. 26, No. 4. P. 195–207. doi: 10.1089/dna.2006.0558.
18. Morello L., Breviario D. Plant spliceosomal introns: not only cut and paste. Current Genomics. 2008. Vol. 9, No. 4. P. 227–238. doi: 10.2174/138920208784533629.
19. Rose A. B. Requirements for intron-mediated enhancement of gene expression in Arabidopsis. RNA. 2002. Vol. 8, No. 11. P. 1444–1453.
20. Souza S. J. The emergence of a synthetic theory of intron evolution. Genetica. 2003. Vol. 118, No. 2/3. P. 117–121. doi: 10.1023/A:1024193323397.
21. Sakurai A., Fujimori S., Kochiwa H. et al. On biased distribution of introns in various eukaryotes. Gene. 2002. Vol. 300, No. 1–2. P. 89–95. doi: 10.1016/S0378-1119(02)01035-1.
22. Bardini M., Lee D., Donini P., Mariani A. et al. Tubulin-based polymorphism (TBP): a new tool, based on

- functionally relevant sequences, to assess genetic diversity in plant species. *Genome*. 2004. Vol. 47. P. 281–291. doi: 10.1139/g03-132.
23. Green M. R., Sambrook J. *Molecular cloning*. Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2012. 1890 p.
 24. Breviario D., Baird W. V., Sangoi S. et al. High polymorphism and resolution in targeted fingerprinting with combined β -tubulin introns. *Molecular Breeding*. 2007. Vol. 20, No. 3. P. 249–259. doi: 10.1007/s11032-007-9087-9.
 25. Pirko N. N., Demkovych A. Ye., Kalafat L. O. et al. Intron length polymorphism of β -tubulin genes in different representatives of Pinaceae Lindl. family. *Journal of botany*. 2016. Vol. VIII, No. 2 (13). P. 5–9.
 26. Benbouza H., Jacquemin J.-M., Baudoin J.-P., Mergeai G. Optimization of a reliable, fast, cheap and sensitive silverstaining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2006. Vol. 10, No. 2. P. 77–81.
 27. Rahman M. H., Jaquish B., Khasa P. D. Optimization of PCR protocol in microsatellite analysis with silver and SYBR[®] stains. *Plant Molecular Biology Reporter*. 2000. Vol. 18, No. 4. P. 339–348. doi: 10.1007/BF02825061.
 28. Hongtrakul V., Huestis G. M., Knapp J. Amplified fragment length polymorphisms as a tool for DNA fingerprinting sunflower germplasm: genetic diversity among oilseed inbred lines. *TAG Theoretical and Applied Genetics*. 1997. Vol. 95, No. 3. P. 400–407. doi: 10.1007/s001220050576.
 29. Puerto M. M., García F. M., Mohanty A., Martín J. P. Genetic diversity in relict and fragmented populations of *Ulmus glabra* Hudson in the Central system of the Iberian Peninsula. *Forests*. 2017. Vol. 8, Vol. 143. doi:10.3390/f8050143.
 30. Nielsen L. R., Kjær E. D. Gene flow and mating patterns in individuals of Wych elm (*Ulmus glabra*) in forest and open land after the influence of Dutch elm disease. *Conserv. Genet.* 2010. Vol. 11. P. 257–268. doi: 10.1007/s10592-009-0028-5.

Представлено І. А. Козерецькою
Надійшла 14.05.2018

INTRON LENGTH POLYMORPHISM OF β -TUBULIN GENES IN *ULMUS PUMILA* L. PLANTS IN THE STEPPE PRYDNIPROV'YIA

Ya. V. Pirko¹, L. O. Kalafat¹, N. M. Pirko¹, A. N. Rabokon¹, S. N. Privalikhin¹, A. Ye. Demkovych¹, Yu. O. Bilonozhko¹, O. A. Kravets¹, A. A. Alexeyeva², N. O. Khromykh², Yu. V. Lykhola²

¹Institute of Food Biotechnology and Genomics NAS of Ukraine
Ukraine, 04123, Kyiv, Osipovskogo str., 2A
e-mail: yarvp1@gmail.com, kalafatlubov@gmail.com

²Oles Honchar Dnipro National University,
Ukraine, 49000, Dnipro, Gagaryn Ave., 72,

Purpose. Using DNA markers related to the genes encoding β -tubulin in plants, to evaluate the intraspecific genetic polymorphism of *Ulmus pumila* L. in the Steppe Prydniprov'ya and compare it with the polymorphism of this species within the natural range. **Method.** Analysis of the intron length of polymorphism of β -tubulin genes (TBP-method). **Results.** It was established that the plants differ from each other slightly in terms of the number of identified amplicons and the nature of their distribution when comparing electrophoretic profiles obtained on the basis of the TBP analysis for *U. pumila*. Half of the fragments found in the samples are rare. The average number of fragments (alleles) on the locus (Ne), Shannon information index (I) and polymorphism information content value (PIC) amounted respectively: 1.26, 0.27, 0.21, and were lower than in natural populations, analyzed using microsatellite markers. **Conclusions.** *U. pumila* plants growing in the Steppe Prydniprov'yi for the TBP markers have a lower level of genetic diversity than was found during the analysis of natural populations using other molecular markers. Among the possible reasons may be the nature (methodology) of the creation and age of the tree stands examined, as well as the nature of the genetic markers used to analyze the genetic polymorphism of the species.

Keywords: TBP-method, introns, β -tubulin, *Ulmus pumila*, genetic diversity.