

## МИКРОЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ РАСТЕНИЙ КАК ЭЛЕМЕНТ ВИДОСПЕЦИФИЧНОГО ГОМЕОСТАЗА

*Д.С. Круглов*

*ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный университет», Новосибирск, Россия*

В современной ботанике систематика растений перешла от морфологического признака в разделении растений на систему Angiosperm phylogeny group – APG, в основе которой лежат генетические признаки, по которым проводится построение филогенетических отношений. В системе APG IV построение основано на анализе последовательностей ДНК генов хлоропластов и гена, кодирующего рибосомы. Микроэлементный состав растений также имеет прогностическое значение для хемосистематики растений. В связи с тем, что поглощение микроэлементов из почвы происходит с использованием белков-переносчиков, чей состав определяется естественно тоже генами, можно ожидать корреляции между филогенетическим деревом и деревом микроэлементного статуса построенных с использованием иерархической кластеризации. Целью данной работы явилась проверка выдвинутой гипотезы. Объектами исследования служили надземные части растений семейства Boraginaceae - *Pulmonaria mollis* Wulf. ex Horn., *Pulmonaria obscura* Dum., *Nonea rossica* Stev. *Onosma arenaria* Waldst. et Kit., *Onosma simplissima* L., *Ehium vulgare* L., *Brunnera sibirica* Stev. и *Lithospermum officinale* L., собранные в фазе цветения в разные годы и в наиболее типичных местах ареалов. Количественное определение содержания элементов проводили методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой. Для анализа полученных данных была применена иерархическая кластеризация с формированием кластеров по методу Варда. Анализ построенного иерархического дерева показал, что распределение растений по кластерам коррелирует с их распределением в системе APGIV. Установлено, что распределение растений на основании микроэлементного статуса коррелирует с распределением, полученным с использованием молекулярно-генетического анализа.

**Ключевые слова:** геносистематика, молекулярно-генетический анализ, APGIV, бурачниковые, микроэлементный статус, иерархическая кластеризация

## TRACE ELEMENT COMPOSITION OF PLANTS AS A COMPONENT OF SPECIES-SPECIFIC HOMEOSTASIS

*D.S. Kruglov*

*Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia*

Today plant taxonomy has moved from morphological characters for dividing plants to the way offered by Angiosperm phylogeny group - APG system, which is based on genetic characters that are used to creating phylogenetic relationships. This is based on the analysis of DNA sequences of chloroplast genes and the gene encoding ribosomes. On the other hand, the trace element composition of plants also has prognostic significance for plant chemosystematics. Due to the fact that the absorption of trace elements from the soil occurs using proteins carrier, whose composition is naturally also determined by genes, one can expect a correlation between the phylogenetic tree and the tree of trace element status constructed using hierarchical clustering. The purpose of this work was to verify the hypothesis presented. The subjects of the study were the above-ground parts of plants of the Boraginaceae family, *Pulmonaria mollis* Wulf. ex Horn., *Pulmonaria obscura* Dum., *Nonea rossica* Stev. *Onosma arenaria* Waldst. et Kit., *Onosma simplissima* L., *Ehium vulgare* L., *Brunnera sibirica* Stev. and *Lithospermum officinale* L., collected in the flowering phase in different years and in the most typical places of their habitats. Quantitative determination of elements was carried out by mass spectrometry with inductively coupled plasma. Hierarchical clustering was used with cluster formation using the Ward method to analyze the data. Analysis of the constructed hierarchical tree showed that the distribution of plants into

clusters correlates with their distribution in the APGIV system. We established that the distribution of plants according to the status of trace elements correlates with the distribution obtained using molecular genetic analysis.

**Keywords:** gene systematics, molecular genetic analysis, APGIV, Boraginaceae, trace element status, hierarchical clustering

Молекулярно-генетические методы исследования, благодаря внедрению ПЦР-технологии широко используются в современной биологической науке. В частности, в ботанике систематика растений перешла от морфологического признака в разделении растений на различные таксоны (система Тахтаджана) на систему Angiosperm phylogeny group – APG, в основе которой лежат генетические признаки [1]. В базе системы APG лежит построение филогенетических отношений на основании последовательностей нескольких фрагментов ДНК. Последняя версия системы классификации цветковых растений APG IV основана на кладистическом анализе последовательностей ДНК генов хлоропластов и гена, кодирующего рибосомы [2]. После составления матрицы последовательностей она анализируется с использованием методов многофакторного анализа и наиболее часто метода иерархической кластеризации с построением дендрограммы – филогенетического дерева. Система позволяет перейти от описательного подхода к количественному с использованием различных методов численного анализа многомерных объектов.

Нашими исследованиями было показано, что микроэлементный состав растений может иметь прогностическое значение для хемосистематики растений. Здесь следует заметить, что микроэлементы необходимы растительному организму в качестве или прямых катализаторов и инициаторов начального этапа биосинтеза различных метаболитов или в качестве простетических компонентов различных ферментов, регулирующих такой биосинтез [8]. Поглощение микроэлементов из почвы, в основном, происходит активным путём по симпласту с использованием различных белков-переносчиков элементов через плазмолемму [11]. Естественно, что состав белков-переносчиков определяется естественно теми же генами, кодирующими белки и можно ожидать вида корреляции между филогенетическим деревом и деревом микроэлементного статуса построенных с использованием иерархической кластеризации.

Целью данной работы явилась проверка гипотезы о корреляции таксономического положения растения, полученного с использованием молекулярно-генетическим подходом и полученного с использованием микроэлементного статуса растения.

Объектами исследования служили надземные части растений семейства *Boraginaceae* - *Pulmonaria mollis* Wulf. ex Horn., *Pulmonaria obscura* Dum., *Nonea rossica* Stev. *Onosma arenaria* Waldst. et Kit., *Onosma simplissima* L., *Ehium vulgare* L., *Brunnera sibirica* Stev. и *Lithospermum officinale* L., собранные в фазе цветения в разные годы и в наиболее типичных местах ареалов. Количественное определение элементов проводили методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой на приборе ELAN DRC-II (Perkin Elmer Inc.).

Для анализа полученных данных была применена иерархическая кластеризация с формированием кластеров по методу Варда [4] и стандартизацией по строкам. В качестве расстояния между кластерами берётся прирост суммы квадратов расстояний объектов до центров кластеров, получаемый в результате их объединения. На каждом шаге алгоритма объединяются такие два кластера, которые приводят к минимальному увеличению целевой функции, т.е. внутригрупповой суммы квадратов. В качестве критериев объединения точек в кластер является условие, что Евклидово расстояние между точками меньше некоей задаваемой величины  $\epsilon$ , которая в данном случае выполняет роль некоего «доверительного интервала» для оценки значимости различий между кластерами. В качестве величины  $\epsilon$ , была принята индивидуальная изменчивость микроэлементного состава по заросли равная 15% [3]. Для построения иерархического дерева использовали пакет прикладных программ “STATISTICA 10.0”

В результате было определено содержание 60-ти элементов - Li, Be, B, Na, Mg, Al, Si, P, K, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Ge, As, Se, Br, Rb, Sr, Y, Zr, Nb, Mo, Ag, Cd, Sn, Sb, I, Cs, Ba, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu, Hf, Ta, W, Hg, Tl, Pb, Bi, Th, U

Анализ построенного иерархического дерева (рис 1) показывает, распределение растений по кластерам коррелирует с их распределением в системе APGIV и четко выделяются кластеры, объединяющие растения из двух разных триб Boraginaceae и Lithospermeae.

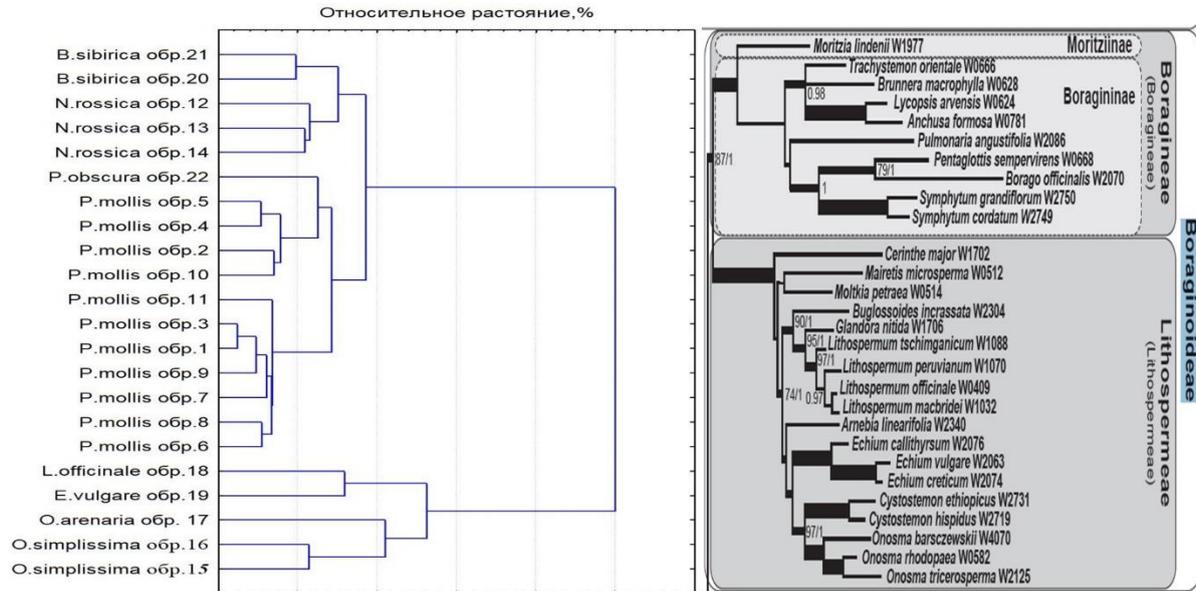


Рис 1. Иерархическое дерево кластеризации растений по микроэлементному статусу и филогенетическое дерево по системе APGIV из [5]

Внутри триб растения что вне зависимости от места сбора и года сбора группируются по видам, несмотря на значительное варьирование абсолютных значений содержания того или иного элемента. Такая инвариантность может быть объяснена тем, что важным является не столько абсолютное значение сколько некий функционал образованный этими элементами. Такой функционал, что в свою очередь может определяться белками-переносчиками, которые кодируются генами, используемыми в молекулярно-генетическом анализе. Поскольку геном растений уникален то и микроэлементный состав растения не может меняться, выходя за запрограммированные генетически пределы и можем говорить о микроэлементном статусе растения как компоненте гомеостаза растения. Таким образом в результате данной работы установлено, что содержания микроэлементов варьирует существенно у одного и того же вида, однако это не влияет на нормированное соотношение микроэлементов в растении и таким образом применяемый метод анализа не только вид специфичен, но и инвариантен относительно вариации абсолютных значений концентрации элементов.

#### Библиографический список:

1. Гельтман Д. В. Современные системы цветковых растений // Ботанический журнал. 2019, том 104, № 4, с. 503-527. <https://doi.org/10.1134/S0006813619040045>
2. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV// The Linnean Society of London, Botanical Journal of the Linnean Society, 2016, 181: 1–20. <https://doi.org/10.1111/boj.12385>
3. Круглов Д. С. Прогностическая применимость микро элементного профиля растений для задач систематики // Ботаника в современном мире. Труды Русского ботанического общества Т. 1: Систематика высших растений. Флористика и география растений. Охрана растительного мира. Палеоботаника. Ботаническое образование. - Махачкала: АЛЕФ, 2018. - с.58-60
4. Murtagh F, Legendre P. Ward's hierarchical clustering method: clustering criterion and agglomerative algorithm // Journal of Classification. 2014, 31(3), pp. 274–295
5. Chacon Ju., Luebert F., Hilger H.H., Ovchinnikova S., Selvi F., Cecchi L., Guilliams C.M., Hasenstab-Lehman K., Sutory K., Simpson M.G., Weigend M. The borage family (Boraginaceae s.str.): A revised infrafamilial classification based on new phylogenetic evidence, with emphasis on the placement of some enigmatic genera // Taxon 2016. 65 (3): 523-546. <http://dx.doi.org/10.12705/653.6>