

Габитова Айгуль Айдаровна

канд. биол. наук, доцент

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет»

г. Уфа, Республика Башкортостан

Янбаев Руслан Юлаевич

аспирант

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный

аграрный университет»

г. Уфа, Республика Башкортостан

Бахтина Светлана Юрьевна

аспирант

ФГБУН Уфимский Институт биологии РАН

г. Уфа, Республика Башкортостан

DOI 10.21661/r-118255

О РАЗЛИЧИЯХ В СТРУКТУРЕ ПОПУЛЯЦИЙ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ В РАЗНЫХ ЛЕСОРАСТИТЕЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

Аннотация: в статье приведены результаты изучения влияния различий в лесорастительных условиях на дифференциацию и полиморфизм популяций дуба черешчатого на Южном Урале, полученные с помощью электрофоретического анализа и аллозимных маркеров.

Ключевые слова: структура популяций, дуб черешчатый, экологические условия, электрофорез изоферментов.

В теории экологии популяция – это элементарная микроэволюционная единица, обладающая способностью к изменению своего генофонда в ответ на изменение экологических факторов среды обитания [2]. Однако в лесоведении не так много данных, показывающих эти процессы на практике, в том числе для важнейшей в экономическом отношении породы – дуба, одного из компонента широколиственных и хвойно-широколиственных лесов. В то же время такие ис-

следования могут быть полезными не только для теории, но и практики. Отмечается [2], что в последние десятилетия в России наблюдалось массовое усыхание дуба из-за чередующихся экстремально холодных зим и последующих вспышек численности энтомовредителей дуба. Но не известно – как эти негативные для породы процессы сказываются на структуре его популяций?

Целью работы является изучение вопроса – насколько экстремальные для дуба черешчатого лесорастительные условия сказываются на составе генотипов и полиморфизме существующих в них насаждений? В качестве объекта исследования выбран дуб черешчатый (*Quercus robur* L.) Южного Урала. Исследованы дубравы на типичных для региона условиях произрастания вида на территориях Зилаирского (обозначена ЗЛР), Куяргазинского (КЮГ), Кугарчинского (КГЧ) лесничеств Башкортостана. Кроме того, изучено насаждение из Бурзянского (БРЗ) лесничества, расположенное в нехарактерном в экологическом отношении местообитании – сильно прогреваемом каменистом крутоисклоне южной экспозиции. Древостои для отбора образцов были подобраны после анализа лесоустроительных данных и осмотра насаждений в природе. Закладка пробных площадей проведена согласно стандартным методикам, принятым в лесоводстве. В каждой из них методом случайного отбора отобраны по 32 дерева в возрасте плодоношения, с которых в зимнее время собраны ветки. Изоферменты выделены из почек, распускающихся после выдерживания веток в сосудах с водой при комнатной температуре.

Экстракция ферментов проведена в экстрагирующем буфере: 0.1 М три-
HCl с pH 8.0, содержащий 17% сахарозы, 0.1% 2-меркаптоэтанола, 0.1% цистеина, 0.5% БСА, 0,05% диэтилдитиокарбамата натрия. Гомогенизация почек осуществлена вручную в 500 мкл экстрагирующего буфера в фарфоровых чашках с добавлением (для связывания инактивирующих ферменты вторичных метаболитов) равного количества нерастворимого поливинилпирролидона. Для получения супернатантов осуществлено центрифугирование гомогената в течение 15 минут при 15 тыс. об/мин.

Для лабораторных анализов использован диск-электрофорез с разделением изоферментов в щелочном 7,5%-ном полиакриламидном геле после их предварительного фокусирования в концентрирующем геле [4; 8] в вертикальных блоках. Для гистохимического выявления изоферментов в гелях после электрофореза использовали методы [1] с незначительными модификациями. В качестве маркеров использовали изоферменты NAD⁺-зависимой формиатдегидрогеназы (FDH, 1.2.1.2) диафоразы (DIA, 1.6.4.3), лейцинаминопептидазы (LAP, 3.4.11.1), аланинаминопептидазы (AAP, 3.4.11.2) и шикиматдегидрогеназы (SKDH, 1.1.1.25).

Для определения полиморфизма и различий выборок по аллозимам применены стандартные параметры [9]), вычисляемые компьютерной программой BI-OSYS-1. Частота аллеля $r = 2HO + 1HE / 2N$ (HO и HE - численности гомо- и гетерозигот по данному локусу, N - число особей). Для определения частоты генотипов N_G осуществлен прямой подсчет численности каждого из них с последующим делением на число особей в выборки. Для вычисления доли полиморфных локусов P числа полиморфных локусов поделено на их общее число. Среднее число аллелей на локус определено, как $N_a = \frac{n_a}{N_L}$ (n_a - общее число выявленных аллелей, N_L – число локусов). Показатели F -статистики [10; по: 6] вычислены по уравнениям $F_{IS} = H_s - H_o / H_s$, $F_{IT} = H_T - H_o / H_T$, $F_{ST} = H_T - H_s / H_T$. Средняя ожидаемая гетерозиготность выборок по локусу H_s вычислена как $H = 1 - \sum_i p_i^2$ (p – частота i -го аллеля в локусе. H_o – средняя наблюдаемая гетерозиготность по этому же локусу). Ожидаемая гетерозиготность всех использованных выборок вычислена как $H_T = 1 - \sum_i \bar{p}_i^2$ (\bar{p}_i - средняя по выборкам частота i -го аллеля в том или ином локусе). Ожидаемая гетерозиготность отдельных выборок обозначена нами ниже как H_E . Генетическое расстояние М. Нея [7] равно

$D = -\ln(J_{XY} / \sqrt{J_X J_Y})$ ($J_{XY} = \sum X_i Y_i$, $J_X = \sum X_i^2$, $J_Y = \sum Y_i^2$ (X и Y – частоты i -го аллеля одного и того же локуса в двух рассматриваемых выборках). Коэффициент инбридинга вычислен нами как $F = H_E - H_O / H_E$

Генетический контроль использованных нами ферментов показан ранее [3; 5; 11]. Но из-за того, что могут быть региональные отличия популяций по числу аллелей, ниже в тексте и таблице 1 приведено краткое описание обнаруженного нами полиморфизма популяций. В локусе Skdh-1 шикиматдегидрогеназы во всех выборках выявлены три аллеля, лишь один из которых доминировал по частоте. В локусе Fdh-1 уже два аллеля являются общими в большинстве выборок, но в отдельных популяциях к ним добавляются аллозимы с частотами менее 5%. В высоко полиморфном локусе Lap-2 лейцинаминопептидазы обнаружена та же картина – два аллозима доминировали во всех выборках, а более редкие четыре аллозима были специфичными лишь для отдельных выборок. Локус Aar-1 фермента аланинаминопептидазы также оказался высоко полиморфным – у нее выявлены два сравнительно частых и четыре редких аллелей. У локуса диафоразы Dia-1 высокий полиморфизм складывается редкими аллелями при наличии всего одного аллеля, общего для всех выборок. Частоты аллозимов приведены в табл. 1.

При анализе встречаемости аллелей обращает на себя внимание, что в группе деревьев БРЗ мономорфными оказались локусы Skdh-1, Lap-2 и Dia-1, изменчивые в других группах деревьев. По этой причине в ней показатели полиморфизма наиболее низкие. В частности, число аллелей на локусе меньше в 1,4–1,9 раз (табл. 2), чем в других выборках. По ожидаемой и наблюдаемой гетерозиготности эти различия между Бурзянской и другими выборками выражены еще больше (в 1,8–1,9 и 2,6–3,1 раз, соответственно). Доля полиморфных локусов, составляющая 1,0 в контрольных популяциях, снижена на пробной площади БРЗ до значения 0,4 (40%). При включении в анализ F -статистики всех выборок доля межвыборочной подразделенности выше несколько раз, чем при подсчетах данного параметра лишь для дубрав из типичных условий произрастания. Попарные генетические расстояния М. Нея в группах ЗЛР, КЮГ и КГЧ меняется в пределах

$D=0,011-0,029$, в то время как с участием Бурзянского насаждения – от 0,102 до 0,117.

Возможно, лесорастительные условия древостоя являются для исследованного дуба черешчатого из Бурзянского лесничества крайне экстремальными (деревья там растут на каменистом крутоисклоне южной экспозиции, сильно прогреваемом в летнее время и практически лишенном в зимнее время снежного покрова). В качестве аргумента для такого предположения можно привести габитус особей – деревья здесь имеют нехарактерную для дуба черешчатого низкорослую стланиковую форму.

Своеобразие изученной бурзянской выборки по частотам аллелей изоферментных локусов и показателям полиморфизма свидетельствует о том, что такая изменчивость габитуса может иметь генетическую природу. Возможной причиной наблюданного «генетического сдвига» в ней может быть фенологическая изоляция насаждения, происходящая из-за несовпадения времени образования пыльцы и цветения между насаждением БРЗ и окружающими его дубравами и отдельными деревьями из-за больших различий лесорастительных условий. Согласно теории, изоляция популяции, если ее численность мала, может привести к дрейфу генов – изменению частот аллелей в малых популяциях от поколения к поколению из-за действия случайных факторов, причем чем меньше исходная частота аллеля, тем выше вероятность ее исчезновения. Этот процесс ведет к в конце концов к утере одного из аллелей и фиксации других. Возможно, по этой причине в Бурзянской выборке локусы Skdh-1, Lap-2 и Dia-1 стали мономорфными, а показатели полиморфизма сильно снижены.

Таблица 1

Частоты аллозимов в выборках дуба черешчатого

Локусы	Ал-лели	Выборки			
		ЗЛР	КЮГ	КГЧ	БРЗ
Skdh-1	1	0,036	0,117	0,063	0
	2	0,964	0,867	0,938	1,000
	3	0	0,017	0	0
Fdh-1	1	0,482	0,517	0,688	0,591
	2	0,518	0,467	0,271	0,364

	3	0	0,017	0,042	0,045
Aap-1	1	0	0,017	0	0,045
	2	0,589	0,633	0,435	0,636
	3	0,071	0	0	0
	4	0	0	0,087	0,045
	5	0,339	0,350	0,457	0,273
	6	0	0	0,022	0
	1	0,071	0,100	0,087	0
Lap-2	2	0,750	0,617	0,739	1,000
	3	0	0	0	0
	4	0,179	0,217	0,174	0
	5	0	0,050	0	0
	6	0	0,017	0	0
	1	0	0	0,022	0
Dia-1	2	0,161	0,067	0,065	0
	3	0,750	0,850	0,848	1,000
	4	0,071	0,083	0,065	0
	5	0,018	0	0	0

Таблица 2

Генетическая изменчивость в популяциях дуба черешчатого

Лесничество	<i>A</i>	<i>H_E</i>	<i>H_O</i>	<i>F</i>
Зилаирское	2,8 ± 0,4	0,388 ± 0,084	0,329 ± 0,069	+ 0,152
Кумертауское	3,4 ± 0,4	0,417 ± 0,068	0,387 ± 0,072	+ 0,071
Кугарчинское	3,2 ± 0,4	0,379 ± 0,083	0,394 ± 0,082	- 0,039
Бурзянское	2,0 ± 0,6	0,216 ± 0,133	0,127 ± 0,079	+ 0,412

Полученные данные необходимы для понимания механизмов формирования структуры популяций в экстремальных лесорастительных условиях. Кроме того, они могут найти применение для природоохранного дела – вероятно, есть необходимость обеспечения охраны Бурзянского насаждения с необычным для дуба черешчатого габитусом (стланиковой формой) и уникальной структурой генотипов в качестве памятника природы. Возможно, есть перспективы использования семенного материала из данного древостоя при организации экологически ориентированного лесокультурного и лесосеменного дела дуба черешчатого в Башкортостане.

Список литературы

1. Корочкин Л.И. Генетика изоферментов [Текст]: / Л.И. Корочкин, О.Л. Севров, А.И. Пудовкин [и др.]; ред. Л.И. Корочкин. – М.: Наука, 1977. – 275 с.
2. Одум Ю. Экология [Текст]: В 2-х т.: Учебник / Ю. Одум; пер. с англ. Ю.М. Фролова. – М.: Мир, 1986. – 325 с.
3. Янбаев Ю.А. Генетические аспекты сохранения биологического разнообразия [Текст]: Учебник / Ю.А. Янбаев, М.Н. Косарев, Р.М. Бахтиярова [и др.]. – Уфа: БГУ, 2000. – 108 с.
4. Davis B.J. Disc electrophoresis 11 – Methods and application to human serum proteins [Text] / B.J. Davis – New York: Ann. NY Acad. Sci., 1964. V. 121. – P. 404–427.
5. Müller-Starck G. Inheritance of isoenzymes in sessile oak (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) and offspring from interspecific crosses [Text] / G. Müller-Starck, A. Zanetto, A. Kremer, et al. – Forest Genetics, 1996. – V. 3. – P. 1–12.
6. Nei M. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations [Text] / M. Nei – Ann. Hum. Genet., 1977. – V. 41. – P. 225–233.
7. Nei M. Genetic distance between populations [Text] / M. Nei. Amer. Natur., 1972. – V. 106. – №949. – P. 283–292.
8. Ornstein L. Disc-electrophoresis. I. Background and theory [Text] / L. Ornstein. – New York: Ann. NY Acad. Sci., 1964. – V. 121. – P. 321–349.
9. Swofford D.L. BIOSYS-1: a FORTRAN program for the comprehensive analysis of electrophoresis data in population genetics and systematics [Text] / D.L. Swofford, R.B. Selander. – Journal of Heredity, 1981. – V. 72. – P. 281–283.
10. Wright S. Evolution and genetics of populations [Text] / S. Wright. – Chikago: Univ. press, 1969. – P. 580.
11. Zanetto A. Inheritance of isozymes in pedunculate oak (*Quercus robur* L.) [Text] / A. Zanetto, A. Kremer, G. Müller-Starck, et al. – Journal of Heredity, 1996. – V. 87. – P. 364–370.