

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ПОПУЛЯЦИЙ РЕДКИХ И ИСЧЕЗАЮЩИХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ НА ЮЖНОМ УРАЛЕ

С использованием изоферментных маркеров изучена популяционно-генетическая структура 7 редких и исчезающих видов растений Южного Урала. У исследованных таксонов выявлены относительно слабая межпопуляционная дифференциация и сравнительно большие различия по уровню генетического разнообразия. Показана актуальность анализа генофонда популяций для разработки видоспецифичных мер по охране данной категории растений в природных местообитаниях.

Ключевые слова: редкие и исчезающие виды растений, Южный Урал, популяционно-генетическая структура, изоферментные маркеры.

Генетическое разнообразие видов рассматривается в качестве одного из важных параметров, определяющих устойчивое состояние популяций и сохранение механизмов адаптации к антропогенным и природным факторам [1]. Особенно это положение актуально для малочисленных и изолированных популяций редких и исчезающих видов растений, особенно чувствительных к антропогенным воздействиям и климатическим изменениям. По этим причинам в последние десятилетия существенно возросло число публикаций, в которых приводятся результаты изучения генетических ресурсов таксонов этой категории. Показана их результативность для предотвращения снижения генетического разнообразия объектов, охраняемых *in situ* и *ex situ*, предложения в этих целях конкретных управленческих решений, расстановке приоритетов в этом, повышении природоохранной и экономической эффективности проводимых мероприятий и т. д.

Цель настоящей работы – изучение уровня генетической изменчивости, внутри- и межпопуляционной подразделенности популяций ряда редких и исчезающих видов растений Южного Урала.

Материалы и методы исследований

Объектами исследований явились семь видов растений, отнесенных в Республике Башкортостан к категории редких и исчезающих таксонов – цмин песчаный *Helichrysum arenarium* (L.) Moench, касатик сибирский *Iris sibirica* L., лук поникающий *Allium nutans* L., гвоздика иглолистная *Dianthus acicularis* Fisch.ex Ledeb., шаровница точечная *Globularia punctata* Lapeyr.,

термопсис Шишкина *Thermopsis schischkinii* Czefr. (*Thermopsis lanceolata* R.Br. non R.Br.), большеголовник серпуховидный *Stemmacantha serratulooides* (Georgi) M.Dittrich.

В качестве метода лабораторных анализов выбран полиакриламидный диск-электрофорез в щелочном разделяющем геле, в качестве молекулярных маркеров генетического разнообразия – изоферменты [2]. Исследован полиморфизм аспаргатаминотрансферазы (ААТ, кодовый номер фермента 2.6.1.1), диафоразы (DIA, 1.6.4.3), глутаматдегидрогеназы (GDH, 1.4.1.2), алкогольдегидрогеназы (ADH, 1.1.1.1), 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (6-PGD, 1.1.1.44), кислой фосфатазы (APH, 3.1.3.2), лейцинаминопептидазы (LAP, 3.4.11.1), аланинаминопептидазы (AAP, 3.4.11.2), малатдегидрогеназы (MDH, 1.1.1.37), малик-энзима (ME, 1.1.1.40), неспецифических эстераз (EST, 3.1.1...), НАДН-дегидрогеназы (E.C. 1.6.99.1) супероксиддисмутазы (SOD, 1.15.1.1) и флуоресцентной эстеразы (FE, E.C. 3.1.1.1...).

В каждом местообитании случайным образом собраны листья 32 растений. Для выделения изоферментов использовали ткани листьев, доставляемых в лабораторию в день анализа. К навеске растительного материала добавляли примерно равное по объему количество поливинилпирролидона и десятикратное количество 0,1 М трис-НСl (рН 8,0) экстрагирующего буфера, содержащего 17%-ную сахарозу, 0,5% диэтилдитиокарбамата натрия, 0,5% 2-меркаптоэтанола, 1% аскорбиновой кислоты (натриевая соль), 0,1% ЭДТА (этилендиаминотетрауксусная кислота). Гомогенизацию почек осуществляли в фарфоровых ступках. Гомогенат центрифугировали 10 минут при 12000 об/мин. В одну

лунку геля наносили 40 микролитров супернатанта.

Для расчетов использована компьютерная программа POPGENE (v. 1.31) [3], с помощью которой определяли долю полиморфных локусов, ожидаемую гетерозиготность, внутри- и межпопуляционные составляющие генетического разнообразия (параметры F-статистики Райта F_{st} [4]).

Результаты исследований.

У шаровницы крапчатой, изученной по 10 локусам (Lap-1, Lap-2, Fdh, Gdh, Aap-1, Aap-2, Dia-2, Dia-3, Mdh, Dia-1), большинство (кроме последних двух) исследованных локусов оказались мономорфными. Доля полиморфных локусов составила, соответственно, 15%. Среднее число аллелей на локус составило $1,3 \pm 0,7$, ожидаемая гетерозиготность – всего 5,6%. Выявлен относительно низкий уровень межпопуляционной дифференциации ($F_{st}=0,012$, изменения по отдельным локусам составили от 0,012 до 0,017), несмотря на то, что изученные две популяции территориально разобщены – расположены на склонах разных горных вершин в отдаленности друг от друга около 10 км. Также обнаружена сравнительная гомогенность состава генотипов. Проведенный тест χ^2 не обнаружил статистически значимую гетерогенность аллельных частот (суммарный χ^2 составил лишь 3,86 при d.f.=3, $P=0,85$).

У лука поникающего из 16 исследованных локусов изменчивыми оказались Lap-2, Lap-2, Fdh-2, Mdh-2, Dia-2, Dia-2, мономорфными – Fdh-1, Mdh-1, NADHdh-1, Dia-4, Dia-3, Est-1, Aph-1, 6pgdh-1, Sod-1 и Sod-2. Число аллелей на локус составило $1,6 \pm 0,8$, доля полиморфных локусов 37,6%, средняя ожидаемая гетерозиготность 16,9%. Выявленное практически полное отсутствие межпопуляционной подразделенности вызвано сравнительной гомогенностью состава генотипов изученных двух изученных выборок на остепненных склонах противоположенных отрогов хребта Ирандык (расстояние между местообитаниями составляет около 5 км).

У большеголовника серпуховидного из исследованных 13 локусов (Lap-1, Est-1, Aph-1, 6pgdh-1, Sod-1, Sod-2, Aat-1, Aat-2, Lap-2, Gdh, Fdh, Mdh, Dia), полиморфизм выявлен для последних пяти. Доля полиморфных локусов составила 38,5%. Установленное значение среднего числа аллелей на локус $1,5 \pm 0,7$, средней ожидаемой гетерозиготности – 18,6%. Снова выяв-

лен относительно низкий уровень межпопуляционной подразделенности ($F_{st}=0,040$), хотя изменения по отдельным локусам выражены от 0,040 до 0,100. В отличие от частот аллелей гомогенность состава генотипов двух изученных выборок (расположены на расстоянии 15 км друг от друга) выражена в большей степени.

У термопсиса Шишкина из 15 локусов (Lap-1, Lap-2, Skd-1, Fdh-1, NaDHdh, Dia-1, Dia-2, Dia-3, Est-1, Est-2, Aph-1, Sod-1, Sod-2, Aat-1, Aat-2) полиморфными оказались лишь Lap-1, Skd-1 и Dia-3. Доля полиморфных локусов при этом 20,0%, среднее число аллелей на локус $1,2 \pm 0,4$, средняя ожидаемая гетерозиготность – 9,0%. Показатель межпопуляционной дифференциации составил значение всего 0,042, что свидетельствуя об относительно низком уровне генетической подразделенности двух исследованных популяций (расположены на расстоянии около 10 км друг от друга). Но изменения параметра по отдельным локусам варьируются в относительно высоких пределах (от 0,105 до 0,120).

Гвоздика иглолистная также характеризуется относительно невысоким уровнем генетического разнообразия. Из 13 изученных локусов изменчивыми оказались Gdh-1, Gdh-2, Skdh, Lap-1, Lap-2, мономорфными являются Dia-1, Dia-2, Est-1, Est-2, Est-3, 6pgdh-1, Sod-1, Sod-2. Доля полиморфных локусов составила 38,5%, среднее число аллелей на локус – $1,4 \pm 0,5$, средняя ожидаемая гетерозиготность 17,7%. Снова выявлен относительно низкий уровень межпопуляционной подразделенности ($F_{st}=0,066$, изменения по отдельным локусам сравнительно высоки – от 0,056 до 0,160).

В двух исследованных популяциях касатика сибирского, у которого изучены 12 локусов, изменчивыми оказались лишь четыре локуса – Lap-2, Gdh-1, Mdh-1, Dia-1 (мономорфны Lap-1, Dia-3, Dia-2, Est-1, Aph-1, 6pgdh-1, Aat-1, Aat-2). Доля полиморфных локусов составила 28,6%, среднее число аллелей на локус – $1,3 \pm 0,5$, ожидаемая гетерозиготность в среднем составила 13,6%. Установлено также практически полное отсутствие межпопуляционной подразделенности.

В отличие от видов, перечисленных выше, у цмина песчаного, изученного в трех выборках на территории Зианчуринского, Баймакского и Абзелиловского районов Республики Башкортостан по 13 локусам (Lap, Mdh, Gdh, Fdh, Dia-3, Dia-2, Dia-1, Est-1, Est-2, Aph-1, 6pgdh-1, Sod-1,

Sod-2), выявлен относительно высокий уровень популяционного разнообразия. Большинство изученных локусов оказались изменчивыми – Lap, Mdh, Gdh, Fdh, Dia-3, Dia-2, Dia-1, доля полиморфных локусов составила 53,8%. Среднее число аллелей на локус составило $2,2 \pm 1,2$, гетерозиготность – 19,4%. Уровень межпопуляционной дифференциации составил $F_{st}=0,041$ (изменения по отдельным локусам от 0,012 до 0,080).

Выводы

Для большинства видов, перечисленных выше, значения числа аллелей на локус подтверждает ожидаемую теоретически картину – в малых популяциях редких и исчезающих видов растений полиморфизм должен быть ниже, чем у широко распространенных таксонов [5]. Однако сравнительно низкий уровень аллельного разнообразия выявлен также для некоторых редких и исчезающих видов, имеющих относительно широкое распространение в регионе, в частности, касатика сибирского [6]. Еще одним отклонением от теоретически ожидаемых закономерностей является феномен относительно большого числа аллелей локусов цмина песча-

ного, популяции которого также малочисленны. Это обстоятельство указывает на важность популяционно-генетических исследований для разработки видоспецифичных мер по охране редких и исчезающих видов в природных местообитаниях – из-за различий в уровне генетического разнообразия популяций предложения универсальных мер является неоправданным.

Одной из причин того, что выборки растений изученных популяций практически не отличаются по уровню генетического разнообразия, а их дифференциация слабо выражена, может быть фрагментация ранее более обширных по объему популяций лишь в относительно недавнее время (сенокошение, рубки леса, пастьба скота, освоение целинных земель и т. д.) [7]. По этой причине генофонд не стал пространственно подразделенным. Это обстоятельство не позволяет рекомендовать обогащение генофонда исследованных популяций за счет искусственного потока генов и/или создание создания *ex situ* единой синтетической популяции для интродукции в природные местообитания.

18.04.2014

Список литературы:

1. Мелехова, О.П. Сохранение биоразнообразия в промышленных и урбанизированных районах / О.П. Мелехова // Сохранение и восстановление биоразнообразия. Коллектив авторов. – М.: Издательство Научного и учебно-методического центра, 2002. – 286 с.
2. Корочкин, Л.И. Генетика изоферментов / Л.И. Корочкин [и др.]. – М.: Наука, 1977. – 275 с.
3. Yeh F.C. POPGENE Version 1.32: Microsoft Windows – based Freeware for Population Genetic Analysis / F.C. Yeh, R. Yang, T. Boyle // Univ. of Alberta, Center of Int. Forestry Res. – 1999.
4. Wright S. Genetics of populations / S. Wright // *Encycl. Brit.* – 1948a. – V. 10. – 111 pp.
5. Межпопуляционная дифференциация родиолы ирмельской (*Rhodiola iremelica* Boriss., Crassulaceae) на Южном Урале / Ю.А. Янбаев [и др.] // *Генетика*, Москва, 2007. – Т. 43. – №11. – С. 1565–1570.
6. Красная книга Республики Башкортостан: в 2 т. Т.1: Растения и грибы / под ред. д-ра биол.наук, профессор Б.М.Миркина. – 2-е изд., доп. переработ. – Уфа: МедиаПринт, 2011. – 384 с.: илл.
7. Пион гибридный (*Paeonia hybrida* Pall.) – редкое, исчезающее растение Башкирского Зауралья: автокорреляционный анализ пространственной структуры генотипов в разных экологических условиях / Редькина Н.Н. [и др.] // *Сибирский экологический журнал*, Новосибирск, 2008. – Т. 15. – №6. – С. 937–942.

Сведения об авторе:

Муллагулов Рагиз Юмагилдеевич, заместитель директора по учебно-воспитательной работе
Зауральского филиала Башкирского государственного аграрного университета,
кандидат биологических наук, доцент
453830, Республика Башкортостан, г. Сибай, ул. Пушкина, 17, e-mail: ragiz@mail.ru