

О ВЫСОКОМ ГЕНЕТИЧЕСКОМ ПОЛИМОРФИЗМЕ ПОПУЛЯЦИИ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО НА ЗАПАДНОМ МАКРОСКЛОНЕ ЮЖНОГО УРАЛА

© А. А. Габитова^{1,2*}, Р. Ю. Янбаев^{1,2}, Н. Н. Редькина¹

¹Башкирский государственный университет
Россия, Республика Башкортостан, 450076 г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32.

²Башкирский государственный аграрный университет
Россия, Республика Башкортостан, 450054 г. Уфа, ул. 50-летия Октября, 34.

Тел. +7 (347) 228 91 77.

*Email: abigabi@yandex.ru.

В пределах всей южно-уральской части ареала дуба черешчатого с использованием аллозимного и ISSR-анализов проведено сравнительное изучение полиморфизма популяций. Оба метода показали, что наибольшим генетическим полиморфизмом обладает популяция из низкогорий западного макросклона южно-уральских гор на территории Архангельского лесничества Республики Башкортостан. В изоферментных локусах *Skdh-1*, *Fdh-1*, *Aap-1*, *Lap-2* и *Dia-1* в ней обнаружены 25 аллелей, что составляет 92,6 % всего аллельного разнообразия дубрав на исследованной территории размером не менее 400 × 700 км. В архангельской популяции с применением 5 праймеров выявлены 55 полиморфных фрагментов ДНК, амплифицированных ISSR-методом (82,1 % от общего полиморфизма вида в регионе). Ее повышенный генетический полиморфизм может определяться историей развития дубрав низкогорий западного макросклона южно-уральских гор. Здесь может сохраняться часть генофонда древних неогеновых популяций, переживших плейстоценовые похолодания в рефугиумах Южного Урала. Этот генофонд впоследствии может быть обогащен при пространственной экспансии дуба черешчатого за счет мигрантов из рефугиумов и убежищ Поволжья. К территории Архангельского района, где вид является одним из ключевых компонентов широколиственно-лесной зоны растительности с подзоной широколиственно-хвойных лесов, примыкают другие зоны растительности – бореально-лесная с подзоной южной тайги, бореально-лесная с подзоной сосновых и березовых лесов, широколиственно-лесная с подзоной широколиственных лесов, лесостепная и степная. Каждая из них имеет в своем составе дуб черешчатый, что обеспечивает возможность встречи на стыке зон разнонаправленных генетических потоков. Показана информативность использованных генетических маркеров для выбора охраны объектов сохранения генетического разнообразия вида в регионе в естественной среде и вне природных местообитаний. Полученные результаты могут быть использованы для улучшения лесосеменного дела дуба черешчатого, повышения эффективности искусственного воспроизводства дубрав в регионе.

Ключевые слова: дуб черешчатый, Южный Урал, полиморфизм, ISSR-анализ, электрофорез изоферментов, аллозимные локусы.

Введение

На Южном Урале во втором полугодии прошлого века из-за негативного воздействия комплекса климатических и антропогенных факторов произошла сильная деградация дубовых древостоев [1]. Для восстановления дубрав, повышения эффективности лесосеменных и лесокультурных работ с дубом черешчатым необходима оценка состояния генофонда популяций. Эта работа позволяет обнаружить объекты с достаточно высоким полиморфизмом, при помощи которых будет осуществляться восстановление генофонда [2]. Теоретические работы показывают, что число популяций, при помощи которых возможно сохранение генофонда, зависит от уровня их генетического разнообразия. Установлено [3], что отбор всего пяти популяций с относительно высоким полиморфизмом обеспечивает сохранение общих аллелей с 90–95 %-ной вероятностью. Высокое генетическое разнообразие обеспечивает потенциал для адаптации к условиям среды, без которой невозможно сохранение генетических ресурсов [4]. Успех в его выявлении возможен при использовании методов молекулярной биологии и применении информативных генетических маркеров.

Целью работы является доказательство того, что к числу наиболее перспективных объектов для сохранения и использования генофонда дуба черешчатого на Южном Урале можно отнести дубравы низкогорий западного макросклона южно-уральских гор на территории Архангельского лесничества Республики Башкортостан.

Анализируемые популяции, расположенные на территории размером не менее 400 × 700 км, представляют дубравы лесостепной (Предуралье), степной (Зауралье, юг Зилаирского плато) и горно-лесной (низко- и среднегорья южно-уральских хребтов) зон Южного Урала [1].

В дубовых насаждениях Татышлинского, Баймакского, Инзерского, Архангельского, Уфимского и Кувандыкского лесничеств Республики Башкортостан и Оренбургской области на шести пробных площадях (условно обозначены Tat, Sib, Inz, Arc, Ufa и Orb, соответственно) с 32 деревьев генеративного возраста в каждом древостое в качестве растительного материала для лабораторных анализов были собраны зимние почки для лабораторного анализа. Использованные методы генетического анализа были описаны ранее [5, 6]. Для оценки генетического разнообразия популяций применены полиморфные изоферментные локусы *Skdh-1*, *Fdh-1*, *Aap-1*, *Lap-2* и *Dia-1*. Генетический полиморфизм оценивался также по полиморфизму участков ДНК, амплифицированных методом ISSR-анализа с использованием праймеров M1 (нуклеотидная последовательность 5'→3': (AC)₈CG, длина фрагментов: 200–1800 пн), M3 ((ACG)₈CT, 90–1000), M27 ((GA)₈C, 100–1000), X1 ((CA)₆G, 120–1800) и X11 ((AGC)₆G, 120–2200).

Обсуждение результатов исследования

Параметр «число аллелей в аллозимных локусах» является низким в выборке Sib (табл. 1) – в ней представлены всего 44,4 % всех обнаруженных аллозимов. В этой географически изолированной популяции вне

восточной границы ареала вида (Баймакский район Башкортостана) в двух имеющихся насаждениях представлены лишь 34 деревьев репродуктивного возраста. Соответственно, относительно низкое аллельное разнообразие может быть следствием крайне низкой численности популяции.

Данные по полиморфизму в других четырех выборках противоречат теоретическим представлениям, что наибольшее генетическое разнообразие складывается в центральных популяциях и снижается на границе ареалов видов. В насаждении Ufa в центре южно-уральской части ареала дуба черешчатого выявлены лишь 37 % имеющихся во всех выборках 27 аллозимов. В то же время показатель выше на южной (Orb, 70.3 %), восточной (Inz, 66.7 %) и северной (Tat, 59.3 %) границах ареала вида. В насаждении Arc обнаружены 25 аллелей изоферментных локусов, что составляет 92.6 % всего аллельного разнообразия дубрав на обширной территории – размером не менее 400 × 700 км.

Таблица 1
Полиморфизм аллозимных локусов

Аллозимные локусы	Число полиморфных фрагментов ДНК						Всего
	Arc	Orb	Ufa	Tat	Sib	Inz	
Skdh-1	3	2	2	3	2	3	3
Fdh-1	5	3	2	2	3	4	4
Aap-1	7	6	2	3	4	5	9
Lap-2	5	2	2	3	2	3	5
Dia-1	5	6	2	5	1	3	6
Всего	25	19	10	16	12	18	27

Данные по 67 амплифицированным полиморфным ISSR-фрагментам ДНК (табл. 2) подтвердили в целом результаты, полученные для аллозимных локусов. Наименьший полиморфизм снова показан для зауральских дубрав Sib (здесь обнаружены 43.3 % фрагментов, имеющихся в шести рассмотренных выборках). В географически краевых насаждениях Orb, Inz и Tat представлена достаточно высокая часть (58.2–68.7 %) общего полиморфизма популяций, сопоставимой или превышающей разнообразие ISSR-фрагментов в дубраве в Уфимском лесничестве (65.6 %). А в выборке Arc выявлено наибольшее число (55) полиморфных фрагментов ДНК – 82.1 % от общего полиморфизма использованных маркеров.

Таблица 2
Число фрагментов ДНК, амплифицированных ISSR-методом

ISSR-праймеры	Число полиморфных фрагментов ДНК						Всего
	Arc	Orb	Ufa	Tat	Sib	Inz	
M1	15	9	9	12	8	8	16
M3	7	10	10	7	5	7	13
M27	10	5	7	7	6	5	11
X1	12	13	9	7	8	10	14
X11	11	9	9	6	2	9	13
Всего	55	46	44	39	29	39	67

Повышенный генетический полиморфизм архангельской популяции из низкогорий западного макро-

склона южно-уральских гор может определяться историей ее развития. Здесь может сохраняться часть генофонда древних неогеновых популяций, переживших плейстоценовые похолодания в рефугиумах Южного Урала [1]. Этот генофонд впоследствии может быть обогащен при пространственной экспансии дуба черешчатого за счет мигрантов из рефугиумов и убежищ Поволжья [7]. К территории Архангельского района, где вид является одним из ключевых компонентов широколиственно-лесной зоны растительности с подзоной широколиственно-хвойных лесов, примыкают другие зоны растительности – бореально-лесная с подзоной южной тайги, бореально-лесная с подзоной сосновых и березовых лесов, широколиственно-лесная с подзоной широколиственных лесов, лесостепная и степная. Каждая из них имеет в своем составе дуб черешчатый, что обеспечивает возможность встречи на стыке зон разнонаправленных генетических потоков.

Выводы

В работе показана информативность использованных генетических маркеров для выбора охраны объектов сохранения и использования генетического разнообразия дуба черешчатого на Южном Урале в есит и вне природных местообитаний. К их может быть отнесена архангельская и, возможно, другие популяции из низкогорий западного макросклона южно-уральских гор со сравнительно богатым генофондом. Создание здесь генетического резервата и использование его генетических ресурсов может быть полезно для улучшения лесосеменного дела дуба черешчатого на Южном Урале, повышения эффективности искусственного воспроизводства лесов в регионе.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научных проектов 12-04-97047 и 14-44-01591 p_юг_a.

ЛИТЕРАТУРА

1. Попов Г. В. Леса Башкирии. Уфа, Башк. кн. изд-во, 1980. 144 с.
2. Heywood V. H. The conservation of genetic and chemical diversity in medicinal and aromatic plants. Biomolecular aspects of biodiversity and innovative utilization: proceedings of the third IUPAC, Turkey. Kluwer Academic/Plenum Publishers, London, UK. 2002.
3. Brown A. H. D., Briggs J. D. Sampling strategies for genetic variation in ex situ collections of endangered plant species. Genetics and conservation of rare plants. Oxford University Press, New York, USA. 1991. P. 99–119.
4. Gregorius H. R. The attribution of phenotypic variation to genetic or environmental variation in ecological studies // Genetic effects of air pollutants in forest tree populations / F. Scholz, H.-R. Gregorius, D. Rudin (Eds.). Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 1989. P. 3–15.
5. Янбаев Ю. А., Габитова А. А., Боронникова С. В. Экологическая обусловленность межпопуляционной генетической дифференциации дуба черешчатого на Южном Урале // Вестник БГАУ. 2012. № 2. С. 63–65.
6. Бушбом Ю., Янбаев Ю. А., Деген Б., Габитова А. А. Динамика генетического разнообразия во времени в изолированной популяции дуба черешчатого *Quercus robur* L. (Fagaceae) // Генетика. 2012. Т. 48. № 1. С. 135–137.
7. Семериков Л. Ф. Популяционная структура дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) // Исследование форм внутривидовой изменчивости растений. Москва, Наука. 1981. С. 25–51.

Поступила в редакцию 28.08.2015 г.

HIGH GENETIC POLYMORPHISM IN A POPULATION OF THE ENGLISH OAK IN THE LOWLANDS OF WESTERN URAL'S MACRO-SLOPE

© A. A. Gabitova^{1,2*}, R. Yu. Yanbaev^{1,2}, N. N. Redkina¹

¹Bashkir State University

32 Zaki Validi St., 450076 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia.

²Bashkir State Agrarian University

34 50-letiya Oktyabrya St., 450054 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia.

Phone: +7 (347) 228 91 77.

*Email: abigabi@yandex.ru

A comparative study of polymorphism of populations of English oak within the South-Ural part of the area of distribution was carried out by using allozymes and ISSR analyses. Both methods showed that the genetic polymorphism is the largest level in the lowlands of western macro-slope of the mountains (Arkhangelsk forest district, the Republic of Bashkortostan). 25 alleles were found in isozyme loci Skdh-1, Fdh-1, Aap-1, Lap-2 and Dia-1 representing 92.6% of the total allelic diversity in oak forests of the area about 400x700 km. In this population, 55 polymorphic DNA fragments were detected (82.1% of the regional polymorphism) by using 5 ISSR primers. Relatively high genetic polymorphism can be explained by the history of oak stands in lowlands of the western Ural's macro-slope. A gene pool of ancient neogene refugia oak populations after Pleistocene cold spells can be presented there. The genetic variability can be increased at times of spatial oak expansion from Volga refuges. The territory of the Arkhangelsk region, where the species is one of key components of broad-leaved forest zone, is adjacent to zone of broad-leaved-coniferous forests with subzone of the southern taiga, zone of boreal forests with subzone of pine and birch stands, zone of broad-leaved forests with subzone of deciduous stands, forest-steppe zone and steppes. Each of the zones includes English oak, which provides an opportunity to have powerful gene flow in territories of junction. It was shown that the used genetic markers are informative to select objects of regional genetic conservation in situ. The results also are useful to improve seed farming of the species and to increase efficiency of artificial reproduction of oak forests in the region.

Keywords: English oak, the Southern Urals, polymorphism, ISSR-analysis, electrophoresis, isozymes, allozyme loci.

Published in Russian. Do not hesitate to contact us at bulletin_bsu@mail.ru if you need translation of the article.

REFERENCES

1. Popov G. V. Lesa Bashkirii [Forests of Bashkiria]. Ufa, Bashk. kn. izd-vo, 1980.
2. Heywood V. H. The conservation of genetic and chemical diversity in medicinal and aromatic plants. Biomolecular aspects of biodiversity and innovative utilization: proceedings of the third IUPAC, Turkey. Kluwer Academic/Plenum Publishers, London, UK. 2002.
3. Brown A. H. D., Briggs J. D. Sampling strategies for genetic variation in ex situ collections of endangered plant species. Genetics and conservation of rare plants. Oxford University Press, New York, USA. 1991. Pp. 99–119.
4. Gregorius H. R. Genetic effects of air pollutants in forest tree populations / F. Scholz, H.-R. Gregorius, D. Rudin (Eds.). Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 1989. Pp. 3–15.
5. Yanbaev Yu. A., Gabitova A. A., Boronnikova S. V. Vestnik BGAU. 2012. No. 2. Pp. 63–65.
6. Bushbom Yu., Yanbaev Yu. A., Degen B., Gabitova A. A. Genetika. 2012. Vol. 48. No. 1. Pp. 135–137.
7. Semerikov L. F. Issledovanie form vnutrividovoi izmenchivosti rastenii. Moscow: Nauka. 1981. Pp. 25–51.

Received 28.08.2015.