

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЭНДЕМИЧНЫХ ВИДОВ *OXYTROPIS* САХАЛИНСКОЙ ОБЛАСТИ

© А.Б. Холина¹, О.В. Наконечная¹, М.Н. Колдаева²

¹ Биолого-почвенный институт ДВО РАН, г. Владивосток

² Ботанический сад-институт ДВО РАН, г. Владивосток
E-mail: kholina@biosoil.ru

С целью сохранения генофонда четырех эндемичных видов рода *Oxytropis* Сахалинской области проведен анализ аллозимного полиморфизма и выявлены надежные и информативные маркерные ферментные системы для данных видов. *O. retusa* и диплоидный вид *O. sachalinensis* обладают низким уровнем изменчивости, характерным для эндемичных растений, полиплоидные виды *O. calcareorum* и *O. hidakamontana* – довольно высоким (наблюдаемая гетерозиготность составляет 0,194 и 0,235 соответственно).

Ключевые слова: *Oxytropis*, Fabaceae, эндемичные виды, генетическая изменчивость, аллозимный анализ

Введение

При изучении разнообразия растительности Дальнего Востока особую значимость приобретает охрана эндемичных видов. Для островных территорий эндемики составляют наиболее уязвимую часть региональной флоры. Как правило, они характеризуются узкой экологической приуроченностью и существуют в форме малых изолированных популяций. Значительное сокращение, а в ряде случаев и исчезновение отдельных популяций под действием природных и антропогенных факторов, может закончиться полным вымиранием видов-эндемиков. С учетом динамичности окружающей среды (действие тайфунов и штормов на островных побережьях, периодические извержения вулканов и т.д.) и в связи с малым ареалом эндемиков остро встает вопрос о сохранении их генофонда.

Среди бобовых Дальнего Востока России род *Oxytropis* занимает первое место по богатству и разнообразию – 55 видов из 8 секций, из них 32 эндемичны для этой территории (Павлова, 1989). В крайних для жизни условиях (морские побережья, высокогорья, пионерные зарастания вулканов) преобладают полиплоидные виды остролодочников; большинство эндемичных видов *Oxytropis* являются тетра- (32), гекса- (48) и октоплоидами (64) (Павлова, 1989). Представители рода имеют практическое значение – как пионерные растения, поселяются в местах с отсутствием почвенного покрова, и в результате их жизнедеятельности идет формирование благоприятных почвенно-грунтовых условий для поселения других видов растений (Воронкова и др., 2008). Многие виды *Oxytropis* обладают ценными лекарственными свойствами (Повыдыш и др., 2010; Li et al., 2012). Во флоре о-ва Сахалин присутствует 6 видов рода *Oxytropis*, из них 5 являются эндемиками; для флоры Курильских о-вов отмечено 7 видов рода *Oxytropis*, из них 2 – эндемичны (Павлова, 1989; Баркалов, Таран, 2004; Баркалов, 2009). Вид *O. hidakamontana* можно было бы отнести к гемиэндемикам, так как он известен в России только для о-ва Шикотан (Баркалов, 2009), а ранее был

отмечен на Хоккайдо (Ohwi, 1965), однако в современной сводке флоры Хоккайдо вид не указан (Takita, 2001 – цит. по Баркалов, 2009). Для сохранения генетических ресурсов эндемичных видов *Oxytropis* в первую очередь необходимо определить уровень их генетического разнообразия с помощью надежных маркеров.

Цель настоящей работы – исследование состояния генофонда четырех эндемичных видов рода *Oxytropis* Сахалинской области на основе анализа полиморфных ферментных систем.

Семена собирали в природных местообитаниях на о-ве Сахалин (*O. calcareorum* N.S. Pavlova, *O. sachalinensis* Miyabe et Tatew.) и о-вах Курильской гряды Парамушир (*O. retusa* Matsum) и Шикотан (*O. hidakamontana* Miyabe et Tatew.).

Материалы и методы

В качестве материала для генетического анализа использовали трех- или четырехнедельные проростки исследуемых видов. Генетическую изменчивость изучали по общепринятым методикам аллозимного анализа (Гончаренко и др., 1989). Электрофорез проводили в 13% крахмальном геле в 2 буферных системах: трис-цитратной (рН 6.2) и трис ЭДТА-боратной (рН 8.6). Определение уровня изменчивости проводили на основе ряда общепринятых показателей: полиморфности (P), количества аллелей на локус (A), количества аллелей на полиморфный локус (A_p), наблюдаемой гетерозиготности (H_c).

Результаты и обсуждение

На основе частот аллелей были рассчитаны основные показатели генетической изменчивости 4 видов *Oxytropis* (таблица). Минимальные величины параметров изменчивости установлены для узколокальных эндемиков *O. retusa* и *O. sachalinensis*, редких видов с крайне ограниченной областью распространения, занесенных в региональную сводку редких растений (Харкевич, Качура, 1981). Значения показателей полиморфизма, выявленные у этих видов, оказались ниже установленных ранее в среднем величин для 159 эндемичных видов (P = 29,2; A = 1,43; H_c = 0,076) (Godt et al., 1996).

Среди факторов, ответственных за формирование внутривидового полиморфизма (жизненная форма растения, величина ареала, тип размножения, уровень пloidности вида и др.), размер ареала является одним из наиболее значимых. Как правило, виды с узким ареалом обладают небольшим резервом изменчивости, что мы и наблюдаем у *O. retusa* и *O. sachalinensis*. Из-за фрагментированности и небольшого размера популяций на уровень изменчивости

Основные показатели генетического полиморфизма 4 видов рода *Oxytropis*

Вид	2n	N _i	N _j	P, %	A	A _p	H _o
<i>O. calcareorum</i>	32*	56	15	53,3	1,67	2,25	0,194
<i>O. hidakamontana</i>	64*	150	19	42,1	1,53	2,13	0,235
<i>O. retusa</i>	–	19	21	14,3	1,19	2,33	0,068
<i>O. sachalinensis</i>	16**	13	12	16,7	1,17	2,00	0,050

Примечание: 2n – число хромосом; N_i, N_j – число исследованных растений, локусов; P, % – доля полиморфных локусов (полиморфность), A – число аллелей на локус, A_p – число аллелей на полиморфный локус, H_o – наблюдаемая гетерозиготность. * – Probatova et al., 2009; ** – Пробатова и др., 2007. Прочерк – нет данных.

оказывает негативное влияние дрейф генов. Тем не менее, два других исследованных вида – сахалинский эндемик *O. calcareorum*, вид с узкой экологической приуроченностью к известковым субстратам, и *O. hidakamontana* – демонстрируют довольно высокий уровень генетического разнообразия. Установленные для этих видов параметры полиморфизма близки к известным средним значениям для травянистых бобовых (P = 53,0; H_o = 0,160) (Godt et al., 1996), однако уровень гетерозиготности у изученных эндемиков выше. Очевидно влияние иных факторов на наблюдаемый уровень полиморфизма. Оба вида являются полиплоидами, *O. calcareorum* – тетраплоидом, *O. hidakamontana* – гексаплоидом (таблица). Известно, что полиплоиды обладают более широким диапазоном изменчивости и отличаются повышенной гетерозиготностью (Soltis, Soltis, 2000), что характерно и для этих двух видов. Величины показателей генетического разнообразия *O. calcareorum* и *O. hidakamontana* близки к полученным ранее данным для узколокального эндемика побережий о. Ханка, тетраплоида *O. chankaensis* (P = 42,9%, H_o = 0,266) (Холина и др., 2009) и эндемичного камчатского вида, гексаплоида *O. erecta* (P = 47,8%, H_o = 0,274) (Холина и др., 2013). Допустимо предположить, что при существующем у четырех изученных эндемиков сходстве жизненной формы, способа размножения, размера ареала, такой фактор, как уровень плоидности, оказывается решающим при формировании довольно высокого уровня полиморфизма *O. calcareorum* и *O. hidakamontana*. Последний вид по морфологическим признакам считается близким к *O. retusa* (Павлова, 1989; Баркалов, 2009). В известной нам литературе не было информации о числе хромосом *O. retusa*, но особенности габитуса растения (особи *O. retusa* мельче *O. hidakamontana*, имеют меньше побегов, меньшие размеры листьев и листочков) и полученные нами данные об уровне изменчивости косвенно указывают на то, что *O. retusa* является диплоидом. Формирование уровня полиморфизма изученных видов *Oxytropis*, вероятно, обусловлено взаимным влиянием ряда факторов, среди которых наиболее существенными являются малый размер ареала, узкая экологическая приуроченность видов, влияние дрейфа генов, а для двух видов – наличие полиплоидного генома.

Выводы

Таким образом, в работе выявлены молекулярные маркеры, с помощью которых установлены параметры генетической изменчивости и проведен сравнительный анализ аллозимного полиморфизма четырех эндемичных видов рода *Oxytropis*. Из изученных ферментных систем *Fe-2*

и *Gpi-2* оказались полиморфными у всех видов *Oxytropis*, среди остальных наличие аллельных вариантов у разных видов было отмечено для *Acp*, *Idh-2*, *Mdh-2* и *Mdh-3*, *Lap*, *6-pg-2*, *Gpt-1*, *Pgm-1*. Полученные данные свидетельствуют, что *O. retusa* и диплоидный вид *O. sachalinensis* обладают низким уровнем изменчивости, характерным для эндемичных растений, тогда как полиплоидные виды *O. calcareorum* и *O. hidakamontana* – довольно высоким. Выявленный уровень полиморфизма и риск исчезновения узколокальных эндемичных видов показывают необходимость сохранения генофонда четырех исследованных видов *Oxytropis* в ходе решения задачи сохранения биологического разнообразия растительного покрова Сахалинской области.

Авторы выражают искреннюю благодарность сотруднику БПИ ДВО РАН д.б.н. Баркалову В.Ю. и сотруднику ПримНИИСХ Илюшко М.В. за сбор материала для исследований.

Работа поддержана грантом РФФИ (проект №16-04-01399) и программой Президиума РАН (проект №15-1-6-030).

ЛИТЕРАТУРА

- Баркалов В.Ю. Флора Курильских островов. – Владивосток: Дальнаука, 2009. – 468 с.
- Баркалов В.Ю., Таран А.А. Список видов сосудистых растений острова Сахалин // Растительный и животный мир острова Сахалин (Материалы Международного сахалинского проекта). – Часть I. – Владивосток: Дальнаука, 2004. – С. 39–66.
- Воронкова Н.М., Холина А.Б., Верхолат В.П. Биоморфология растений и прорастание семян пионерных видов вулканов Камчатки // Известия РАН. Сер. биол. 2008. – Т. 35. – №6. – С. 696–702.
- Гончаренко Г.Г., Падутов В.Е., Потенко В.В. Руководство по исследованию хвойных видов методом электрофоретического анализа изоферментов. – Гомель: Полеспечать, 1989. – 164 с.
- Павлова Н.С. Бобовые – Fabaceae // Сосудистые растения советского Дальнего Востока. – Л.: Наука, 1989. – Т. 4. – С. 191–339.
- Повыдыш М.Н., Бобылева Н.С., Битюкова Н.В. Сем. Fabaceae Lindl. // Растительные ресурсы России. – СПб.; М.: Товарищество науч. изд. КМК, 2010. – Т. 3. – С. 11–91.
- Пробатова Н.С., Баркалов В.Ю., Рудыка Э.Г. Кариология флоры Сахалина и Курильских островов. Числа хромосом, таксономические и фитогеографические комментарии. – Владивосток: Дальнаука, 2007. – 392 с.

- Харкевич С.С., Качура Н.Н. Редкие виды растений советского Дальнего Востока и их охрана. – М.: Наука, 1981. – 234 с.
- Холина А.Б., Корень О.Г., Журавлев Ю.Н. Генетическая структура и дифференциация популяций тетраплоида *Oxytropis chankaensis* (Fabaceae) // Генетика, 2009. – Т. 45. – №1. – С. 81–91.
- Холина А.Б., Наконечная О.В., Якубов В.В., Корень О.Г. Генетическая изменчивость шести видов растений рода *Oxytropis* DC. (Fabaceae) п-ова Камчатка // Генетика, 2013. – Т. 49. – № 10. – С. 1174–1182.
- Godt M.J.W., Johnson B.R., Hamrick J.L. Genetic diversity and population size in four rare southern Appalachian plant species // Cons. Biol. 1996. – Vol. 10. – P. 796–805.
- Li M.X., Lan Z.H., Wei L.L. et al. Phytochemical and biological studies of plants from the genus *Oxytropis* // Rec. Nat. Prod. 2012. – Vol. 6. – N 1. – P. 1–20.
- Ohwi J. Flora of Japan. – Washington: Smithsonian Inst., 1965. – 1067 p.
- Probatova N.S., Barkalov V.Yu., Rudyka E.G., Kozhevnikova Z.V. Additions to chromosome numbers for vascular plants from Sakhalin and Kurile Islands (1) // Biodiversity and Biogeography of the Kuril Islands and Sakhalin, 2009. – N 3. – P. 35–47.
- Soltis P.S., Soltis D.E. The role of genetic and genomic attributes in the success of polyploids // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2000. – Vol. 97. – P. 7051–7057.

Доклад представлен на седьмой научной конференции с международным участием «Растения в муссонном климате: острова и растения» (26-29 сентября 2016 г., г. Южно-Сахалинск)

GENETIC VARIATION OF ENDEMIC OXYTROPIS SPECIES FROM SAKHALIN REGION

A.B. Kholina, O.V. Nakonechnaya, Koldaeva M.N.

Institute of Biology and Soil Science FEB RAS, Vladivostok, Russia

Botanical Garden-Institute FEB RAS, Vladivostok, Russia

In order to preserve the gene pool of endemic *Oxytropis* species from Sakhalin region we analyzed allozyme polymorphism and identified reliable and informative marker enzyme systems of these species. *O. retusa* and diploid *O. sachalinensis* have low level of polymorphism typical for endemic plants, polyploid species *O. calcareorum* and *O. hidakamontana* have a rather high level of polymorphism (observed heterozygosity composes 0.194 and 0.235 respectively).

Key words: *Oxytropis*, Fabaceae, endemic species, genetic variation, allozyme analysis

Tabl. 1. Bibl. 15