

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Биолого-почвенный институт Дальневосточного отделения Российской академии наук (БПИ ДВО РАН)

Совет молодых ученых БПИ ДВО РАН

Дальневосточный федеральный университет (ДВФУ)

Школа естественных наук

I ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ

***«Современные исследования
в биологии»***

25 - 27 сентября 2012 г.

г. Владивосток

Исходя из возможностей по наличию приборной базы, рабочей площади, подготовке кадров Приморского НИИСХ в настоящий период может вполне освоить метод гаплоидии на сое. Для проведения этих исследований, возможно, использовать накопленный опыт работы БПИ ДВО РАН, Московской сельскохозяйственной академии им. К.А. Тимирязева.

Использование нетрадиционных методов селекции для создания селекционного материала, к которым относится индуцированный мутагенез, экспериментальная полиплоидия, генная инженерия позволит расширить полиморфизм признаков культуры, и получить формы сои с редкими или отсутствующими в естественном генофонде вида признаками.

Список литературы

1. Мережко, А.Ф. Проблема доноров в селекции растений / А.Ф.Мережко; РАСХН, ВНИИР. - Спб., 1994. - 127 с.
2. Гончаров, Н.П. методические основы селекции растений / Н.П. Гончаров, П.Л. Гончаров; Рос. акад. наук, Сиб. отд-ние, ИЦиГ; РАСХН, СибНИИРС – Новосибирск, 2009. – 427 с.

АЛЛОЗИМНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ШЕСТИ ВИДОВ ОСТРОЛОДОЧНИКОВ СИБИРИ И ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА РОССИИ

А.Б. ХОЛИНА, О.В. НАКОНЕЧНАЯ

Биолого-почвенный институт ДВО РАН, г. Владивосток
kholina@biosoil.ru

Методом анализа изоферментов изучали уровень генетического разнообразия шести видов рода *Oxytropis* DC. из Южной и Восточной Сибири, и Дальнего Востока России. Сравнительный анализ выявил ряд факторов, ответственных за наблюдаемый уровень полиморфизма (величина ареала, система размножения и эволюционная история вида). Повышенный уровень генетической изменчивости позволяет остролодочникам Сибири адаптироваться к широкому спектру условий обитания, в том числе к стрессовым условиям.

ALLOZYME POLYMORPHISM IN SIX OXYTROPIS SPECIES FROM SIBERIA AND FAR EAST OF RUSSIA

A.B. KHOLINA, O.V. NAKONECHNAYA

Institute of Biology and Soil Science, FEB RAS, Vladivostok, Russia
kholina@biosoil.ru

Using allozyme analysis, the levels of genetic diversity were examined for six species of the genus *Oxytropis* DC. from Southern and Eastern Siberia and Russian Far East. Comparative analysis has revealed factors responsible for the observed level of polymorphism (geographic range, mating system, species evolutionary history). Increased genetic variability allows Siberian oxytropes adapt to a different environments, including stress conditions.

Род *Oxytropis* DC. является одним из наиболее крупных родов сем. Fabaceae: он включает около 400 видов, распространенных в умеренных и арктических зонах Северного полушария [3, 6]. Виды рода *Oxytropis* широко применяют в китайской, монгольской и тибетской медицине как кровоостанавливающее, диуретическое, сердечно-сосудистое, противовоспалительное и жаропонижающее средство, при интоксикациях эндогенного и экзогенного характера [1]. Химические и фармакологические исследования остролодочников показали перспективность этих видов как возможных источников сырья для создания лекарственных средств; для них характерны такие биологические активные вещества, как флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, кумарины и сапонины [1, 7]. Так, в надземной части сибирского вида *O. strobilacea* Bunge содержатся флавоноиды – кверцетин, рамнетин, рутин и др. [7]; настой, экстракт *O. strobilacea*, как и обитателя байкальской Сибири *O. lanata*

(Pall.) DC. в эксперименте оказывают депримирующее действие, проявляют противогипоксические и анальгезирующие свойства [2]. Виды рода *Oxytropis* можно рассматривать как перспективный источник биологически активных соединений.

Многие виды рода являются эндемиками [3, 6] и находятся под угрозой исчезновения в связи с растущим антропогенным давлением, кроме того, все больше распространенных видов переходит в категорию уязвимых, редких и исчезающих. Поэтому необходимо оценить резерв генетической изменчивости видов *Oxytropis* – основного потенциала для адаптивных изменений, повышения приспособленности и выживания вида. Сохранение и поддержание этой изменчивости является одной из важнейших задач в проектах по сохранению генофонда редких и ценных видов растений. Цель настоящей работы заключается в исследовании генетического полиморфизма шести видов рода *Oxytropis* Сибири и Дальнего Востока России методом аллозимного анализа.

Семена собирали в природных местообитаниях (табл. 1). Жизненная форма у данных шести видов довольно сходная – все они являются бесстебельными травянистыми многолетниками, некоторые (*O. calcareorum*, *O. strobilacea*, *O. intermedia*) образуют небольшие дерновинки [3, 6]. В качестве материала для генетического анализа использовали трех- или четырехнедельные проростки исследуемых видов. Генетическую изменчивость изучали по общепринятым методикам с использованием в качестве маркеров полиморфных ферментных систем.

На основе частот аллелей были рассчитаны основные показатели генетического полиморфизма для шести видов *Oxytropis* (табл. 2). Ранее, при изучении влияния экологических и биологических свойств растений на внутривидовую и внутривидовую генетическую гетерогенность [11], было установлено, что среди исследованных факторов (величина ареала, тип размножения, система скрещивания, способ распространения семян и др.) наибольшее влияние на изменчивость на видовом уровне оказывают размеры ареала и система скрещивания.

Таблица 1

Ареалы, экологическая приуроченность [3, 6] и места сбора шести видов рода *Oxytropis*

Вид	Ареал	Экотопы	Пункт сбора
<i>O. sachalinensis</i> Miyabe et Tatew.	Сев.-Сах., Южно-Сах.	В высокогорьях и на морских террасах среди шикшовника	о. Сахалин, п-ов Шмидта, река Талики, на разнотравном склоне горы
<i>O. retusa</i> Matsum	Сев.-Кур., Южно-Кур.	На скалах и травянистых склонах морского берега	Курильские о-ва, о-в Парамушир, залив Васильева, мыс Капустный
<i>O. calcareorum</i> N.S. Pavlova	Сев.-Сах.	На каменистых склонах в верхнем лесном и подгольцовом поясах гор, приурочен к известнякам	о. Сахалин, Поронайский р-н, Восточно-Сахалинские горы, известняковая г. Вайда в верховье р. Витница, у скал
<i>O. strobilacea</i> Bunge	Зап. Сиб., Вост. Сиб., Дальн. Вост., Сев. Монг., Сев. Китай	В горных степях, на степных и каменистых склонах, в высокогорьях, по берегам рек на песчаных и галечниковых отложениях	Юг средней Сибири, Тува, окрестности села Сесерлиг, степной склон, часто
<i>O. intermedia</i> Bunge	Зап. Сиб., Монг. Алтай	На степных щебнистых и каменистых склонах гор и в пустынно-степных долинах горных рек	Юг средней Сибири, Тува, опустыненные каменистые степные склоны по водоразделам у берега Енисея
<i>O. lanata</i> (Pall.) DC.	Вост. Сиб., Сев. Монг.	На песках, в песчаных степях, на песчаных берегах рек и озер	Республика Бурятия, Прибайкальский район, окр. с. Горячинск, на берегу оз. Байкал

Сравнительный анализ уровня полиморфизма изученных видов *Oxytropis* свидетельствует, что и в данном случае наиболее весомый вклад в генетическую

изменчивость вносят размеры ареала. Тип размножения и система скрещивания одинаковы у всех исследуемых видов: остролодочки – облигатные перекрестноопылители, не способные к самоопылению и апогамной репродукции семян [9]. Половой тип репродукции и перекрестное опыление, безусловно, оказывают существенное влияние на уровень генетического разнообразия. Для остролодочников с минимальным уровнем полиморфизма, возможно, эти особенности размножения являются важнейшим источником поддержания и возобновления резерва изменчивости, но они не могут объяснить различие между видами.

Наиболее существенные различия между видами связаны с размерами их ареала. Минимальные величины параметров изменчивости установлены для двух узколокальных эндемиков, редких видов с крайне ограниченной областью распространения, занесенных в региональную сводку редких растений [8] – *O. sachalinensis* и *O. retusa* (табл. 2). Уровень полиморфизма, выявленный у этих видов, оказался даже ниже значений, установленных ранее в среднем для 159 эндемичных видов ($P = 29.2$, $A = 1.43$, $H_e = 0.076$) [12]. В отличие от них, сахалинский эндемик *O. calcareorum*, вид с узкой экологической приуроченностью к известковым субстратам, продемонстрировал довольно высокую генетическую изменчивость (табл. 2), что может быть связано с его полиплоидным происхождением. Вид является тетраплоидом; известно, что полиплоиды обладают более широким размахом изменчивости и отличаются повышенной гетерозиготностью [10]. Параметры полиморфизма тетраплоида *O. calcareorum* сопоставимы со значениями для более распространенных сибирских видов (табл. 2).

Таблица 2

Основные показатели генетического полиморфизма шести видов рода *Oxytropis*

Вид	Статус редкости	2n	N _i	N _l	P, %	A	A _p	H _o
Секция <i>Orobia</i>								
<i>O. sachalinensis</i>	эндем, редкий	16	13	12	16.7	1.17	2.00	0.050
<i>O. retusa</i>	эндем, редкий	–	19	21	14.3	1.19	2.33	0.068
<i>O. calcareorum</i>	эндем	32	56	15	53.3	1.67	2.25	0.194
<i>O. strobilacea</i>	–	16	86	18	66.7	2.17	2.75	0.295
Секция <i>Xerobia</i>								
<i>O. intermedia</i>	–	16	94	17	52.9	1.82	2.27	0.281
Секция <i>Baicalia</i>								
<i>O. lanata</i>	–	16	15	17	41.2	1.65	2.22	0.158

Примечание: 2n – число хромосом; N_i, N_l – 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.

Три сибирских вида показали довольно высокий уровень генетического разнообразия. От 41 до 66% их генов находятся в полиморфном состоянии (P), определены весьма высокие значения наблюдаемой гетерозиготности (H_o) (0.158 – 0.295). Установленные для этих видов параметры полиморфизма близки к известным средним значениям для травянистых бобовых ($P = 53.0$, $H_e = 0.160$) [12]. Среди сибирских видов минимальные параметры изменчивости обнаружены у псаммофильно-степного вида *O. lanata*. При небольших размерах ареала вид характеризуется жесткой экологической приуроченностью к пескам и песчаным почвам вблизи водоемов – на берегах рек, оз. Байкал, поэтому допустимо предположить, что средний уровень полиморфизма вида отражает его ограниченные адаптивные возможности. Более высокие показатели установлены для *O. intermedia*, ареал которого ограничен пределами Южной Сибири и Северной Монголии. Это высокогорный вид, ксеропетрофит, который, как и другие сохранившиеся в настоящее время на территории Южной Сибири

виды секции *Xerobia*, считается плиоценовым реликтом [4]. Существуют данные о высоком содержании белкового азота в листьях *O. intermedia*, как успешной адаптации к горным условиям существования в ходе эволюции обмена веществ [5]. Повышенные параметры полиморфизма этого вида, не совсем обычные для реликтового растения с не очень большим ареалом, вероятно, связаны с его способностью приспосабливаться к выживанию в более суровых условиях существования, при низких температурах вегетационного периода, низкой влажности и высокой инсоляции. Максимальный уровень аллозимного полиморфизма, значительно превышающий известные средние показатели, выявлен у *O. strobilacea* (табл. 2), степного плейстоценового гемиэндемика [4]. *O. strobilacea* – один из древних исходных видов секции *Orobia*, вероятно, наиболее близкий к горно-степному предку, давшему начало высокогорным видам Южной Сибири [5]. Вид имеет обширный дизъюнктивный ареал, охватывающий Сибирь и Дальний Восток, кроме того, изолированные участки ареала имеются в Якутии. *O. strobilacea* обладает очень широкой экологической амплитудой, встречается как в высокогорьях, так и в лесном и степном поясах. Дизъюнктивный ареал вида позволяет считать, что в периоды наиболее сухого климата в Сибири он имел широкий сплошной ареал, достигающий крайних северных районов современной лесной области. Очевидно, что эволюционная история вида связана с процессами послетретичной истории флор в Сибири, происходившей под влиянием таких факторов, как возникновение высокогорного пояса, оледенение, чередование сухих и влажных, холодных и более теплых климатических стадий. Известно, что наряду с эколого-биологическими особенностями вида, значительную роль в формировании генетической изменчивости играет историческое прошлое вида, включающее изменение ареала, фрагментацию местообитаний, изоляцию популяций и другие события. Во многих случаях именно этот фактор определяет уровень изменчивости [11]. Уровень полиморфизма *O. strobilacea* также может быть обусловлен событиями эволюционной истории вида, вероятно, обладающего в прежние эпохи большим резервом изменчивости, способностью адаптироваться к резким изменениям окружающей среды, разнообразию условий существования и их ужесточению в определенные временные периоды. В настоящее время, при сокращении и фрагментации ареала, *O. strobilacea* не утратил богатства своего генофонда; по-видимому, исторические события имели важное значение для формирования современного уровня генетического разнообразия вида.

Таким образом, в работе выявлены молекулярные маркеры, с помощью которых установлены параметры генетической изменчивости и проведен сравнительный анализ аллозимного полиморфизма представителей рода *Oxytropis*. Такие факторы, как величина ареала, система размножения и эволюционное прошлое вида, внесли существенный вклад в наблюдаемый уровень генетического разнообразия исследуемых видов.

Авторы выражают искреннюю благодарность сотрудникам БПИ ДВО РАН Баркалову В.Ю. и Якубову В.В. и сотруднику ПГСХА Илюшко М.В. за сбор материала.

Литература

1. Блинова К.Ф., Саканян Е.И. Виды *Oxytropis* DC., применяемые в тибетской медицине, и их флавоноидный состав // Раст. ресурсы. 1986. Т. 22. Вып. 2. С. 266–272.
2. Коноплева Е.В. Сравнительная характеристика обезболивающего и противогипоксического действия настоев некоторых видов *Oxytropis* DC. // Растительные ресурсы. 1989. Т. 25. В. 2. С. 254–258.
3. Павлова Н.С. Бобовые – Fabaceae // Сосудистые растения советского Дальнего Востока / Отв. ред. С.С. Харкевич. Л.: Наука, 1989. Т. 4. С. 191–339.
4. Пешкова Г.А. Флорогенетический анализ степной флоры гор Южной Сибири. Новосибирск: Наука, 2001. 192 с.
5. Пленник Р.Я. Морфологическая эволюция бобовых Юго-Восточного Алтая (на примере родовых комплексов *Astragalus* L. и *Oxytropis* DC.). Новосибирск: Наука, Сибирское отделение, 1976. 216 с.
6. Положий А.В. *Oxytropis* DC. – Остролодочник // Флора Сибири / Отв. ред. А.В. Положий, Л.И. Малышев. Новосибирск: ВО “Наука”, 1994. Т. 9. С. 74–151.

7. Пхон-Аса С. Флавоноиды *O. strobilacea* // Химия природных соединений. 1991. № 5. С. 721–724.
8. Харкевич С.С., Качура Н.Н. Редкие виды растений советского Дальнего Востока и их охрана. М.: Наука, 1981. 234 с.
9. Юрцев Б.А., Жукова П.Г. Полиплоидные ряды и таксономия (на материале анализа некоторых групп арктических бобовых) // Бот. ж. 1968. Т. 53. № 11. С. 1531–1542.
10. Arft A.M., Ranker T.A. Allopolyploid origin and population genetics of the rare orchid *Spiranthes diluvialis* // Amer. J. Bot. 1998. V. 85. P. 110–122.
11. Hamrick J.L., Godt M.J.W., Sherman-Broyles S.L. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species // New Forests. 1992. V. 6. P. 95–124.
12. Godt M.J.W., Johnson B.R., Hamrick J.L. Genetic diversity and population size in four rare southern Appalachian plant species // Conservation Biology. 1996. V. 10. P. 796–805.

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ МЕЗОФИЛЛА ЛИСТА *REYNOUTRIA SACHALINENSIS* (POLYGONACEAE)

Ю.А. ХРОЛЕНКО

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Биолого-почвенный институт ДВО РАН, г. Владивосток, Россия
khrolenko@biosoil.ru

В настоящем сообщении приводятся данные по количественной анатомии листьев разного яруса у *Reynoutria sachalinensis*. Результаты демонстрируют возрастную динамику показателей мезоструктуры листа, а именно, в листьях более высокого яруса увеличивается число клеток в единице площади листа и плотность фототрофных тканей листа.

MESOPHYLL STRUCTURE OF LEAVES *REYNOUTRIA SACHALINENSIS* (POLYGONACEAE)

YU. A. KHROLENKO

Institute of Biology and Soil Science, FEB RAS, Vladivostok, 690022, Russia
khrolenko@biosoil.ru

Results of quantitative anatomy from photosynthetic tissues of *Reynoutria sachalinensis* in ontogeny are presented. Comparison of the ratio of palisade and spongy cells in the leaves on the generative phase of *R. sachalinensis* ontogeny was carried out. These results demonstrate age-dynamics of leaf mesostructure, namely an increase in the number of cells per unit leaf area, the increase in palisade cells in leaf structure.

Видовой состав крупнотравных сообществ Сахалина гораздо богаче по сравнению с районами Камчатки. Из характерных видов крупнотравья там появляются *Reynoutria sachalinensis*, *Petasites amplus* Kitam. и другие. *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai – рейнутрия сахалинская из семейства Polygonaceae – травянистый многолетник, один из наиболее характерных элементов сахалинского крупнотравья [8]. Это растение отличается гигантскими размерами (высота 2.5-3.5 м при безусловной принадлежности его к травам), высокой биологической продуктивностью, необычайной скоростью роста [6]. Многие авторы связывают интенсивные ростовые процессы основных видов крупнотравных сообществ с совокупностью особых внешних условий, таких как: спектр солнечной радиации - преобладание рассеянного света, высокая обеспеченность растений влагой, включая влажность воздуха, своеобразие эдафических условий и т.д. [6;7;9]. Феномен гигантизма очень интересен и, возможно, чтобы понять, как работают цепочки его запуска необходимо привлечь методы клеточной биологии. Данные по морфогенезу этого вида *in vitro* могут