

Полиморфизм фенотипических и генетических маркеров в популяциях *B. nana* L. на Урале

С.О. Медведева, О.Е. Черепанова, Н.В. Семериков

Ботанический сад УрО РАН, г. Екатеринбург

Ключевые слова: береза карликовая, маркеры хлоропластной ДНК, фенотипическая изменчивость, генетический полиморфизм, популяция

Береза карликовая (*Betula nana* L.) – низкий ветвистый кустарник северного полушария, высотой до 1 м, вид относится к секции *Aptercaryon*, произрастает в арктической и горной тундре, а также на моховых сфагновых или гипновых болотах лесной полосы (Скворцов, 2002). Ареал карликовой березы охватывает всю территорию Сибири, Урал, Северную Европу. Листовая пластина (ЛП) обладает набором признаков, позволяющих безошибочно идентифицировать данный вид в полевых условиях: размеры не более 2.5 см, тупозубчатый край, округлое или ширококлиновидное основание (Ashburner, McAllister, 2016). Гибридизация *B. nana* с другими видами из секции *Betula* малоизучена и представляет интерес, как для селекции, так и для понимания эволюционных процессов. На сфагновых болотах *B. nana* часто произрастает совместно с *B. pubescens* Ehrh. (березой пушистой). Были высказаны предположения о наличии гибридных форм *B. nana* × *B. pubescens* в популяциях карликовой березы (Anamthawat-Jonsson et al., 2010, Thorsson et al., 2007). При этом отмечено, что гибриды имели промежуточную морфологию листовой пластины (Thorsson et al., 2007).

Предпринимались попытки исследовать наличие и интенсивность гибридизации *B. nana* с помощью морфологических и молекулярно-генетических методов (Jadwiszczak et al., 2012, Palme et al., 2004). Большинство таких исследований охватывает Европейскую часть ареала карликовой березы, данные по популяциям карликовой березы на территории РФ фрагментарны, а изучение генетической изменчивости карликовой березы на Урале ранее не проводилось. Одним из наиболее широко используемых молекулярно-генетических методов оценки генетического полиморфизма популяций берез является анализ маркеров хлоропластной ДНК (хпДНК) (Jadwiszczak et al., 2012, Maliouchenko, 2007). У представителей рода *Betula* хпДНК передается по материнской линии через семена, что позволяет получить более четкую картину генетической структуры популяций.

Таким образом, **цель работы** – изучение популяционной изменчивости *B. nana*, произрастающей на Урале: фенотипической (параметров

листовой пластины) и генетической (маркеров хпДНК), а также выявление признаков, которые могут быть перспективными для поиска гибридных форм.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для анализа генетического полиморфизма и фенотипической изменчивости ЛП образцы были собраны в 4 популяциях на Среднем Урале (Табл. 1). В каждой из популяций было отобрано по 20–24 генеративных особей на расстоянии не ближе 20 м друг от друга.

Таблица 1. Географическое положение образцов

№	Вид	Координаты	Высота над уровнем моря, м	Географическое описание
2	<i>V. nana</i>	56°50'24.29"С 60°43'22.19"В	271	оз. Малый Шарташ
3	<i>V. nana</i>	59°37'32.9"С 59°14'40.3"В	1200	Серебрянский камень
6	<i>V. nana</i>	55°39'50.40"С 60°20'10.10"В	286	Болото окр. Слюдорудника (Челябинская обл.)
7	<i>V. nana</i>	56°35'36.38"С 60°34'59.81"В	400	Болото Шабровское, близ п. Шабровский

Листовые пластины отсканированы с помощью HP Office JetPro 9010. Размеры листьев измерялись в 15-ти кратной повторности в программе AxioVision Rel 4.8. У каждого растения измерялись следующие параметры ЛП: Длина ЛП (А), максимальная ширина ЛП (В), расстояние от кончика ЛП до самой широкой части (С), расстояние от самой широкой части ЛП до основания (D), угол основания ЛП (Е), площадь листовой пластины, угол отхождения первой жилки. Дополнительно рассчитывались индексы: индекс ЛП (А/В), индекс формы ЛП (С/D).

Для статистической обработки данных рассчитывали минимальный и максимальный пределы варьирования признака (max, min), среднее арифметическое значение (X_{cp}), ошибку среднего (m), стандартное отклонение (σ), коэффициент вариации (Cv). Статистическую обработку данных проводили с помощью программ «Excel» и «Statistica» ver. 10.0.

Для анализа генетической изменчивости тотальная ДНК выделена с использованием СТАБ-метода. Амплификацию регионов хпДНК проводили с использованием праймеров и условий, описанных ранее (Medvedeva et al., 2021). Рестрикция ампликонов проводилась *Hinf*I при температуре 37°С в течение 3 часов. Разделение полученных фрагментов выполнено на полиакриламидном агарозном геле с последующим окрашиванием $AgNO_3$. Статистический анализ бендов произведен с помощью Arlequin 3.5 (Schneider and Lischer 2009). Филогенетические отношения между гаплотипами построены с помощью NETWORK ver. 4.6.1.2 (метод Reduced Median, RM) (Bandelt et al., 1999).

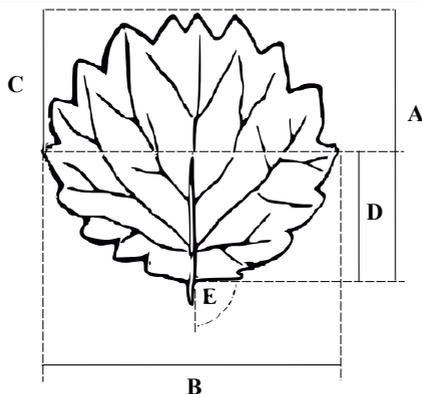


Рис. 1. Фенотипические параметры ЛП.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования установлено, что большая часть морфологических признаков ЛП в популяциях березы карликовой варьирует на среднем и высоком уровнях изменчивости (табл. 2). Высоко изменчивыми являются такие фенотипические параметры как площадь ЛП, длина и ширина, то есть признаки, характеризующие размеры листа. Такая вариабельность является следствием влияния экологических факторов и указывает на адаптационные возможности вида. Более стабильные признаки включают индексы и углы отхождения первой жилки и основания ЛП, то есть признаки, характеризующие форму.

Таблица 2. Показатели изменчивости параметров ЛП

Показатель	Хср	m	min	max	σ	CV, %
Площадь ЛП, см ²	1.35	0.08	0.42	3.43	0.71	52.15
L ЛП до черешка, см	1.19	0.04	0.66	2.17	0.31	25.79
L верх/тах шир, см	0.58	0.03	0.33	1.03	0.16	26.85
Макс. ширина ЛП, см	1.35	0.02	0.72	2.33	0.37	27.75
Угол у основания ЛП, град.	85.68	0.04	59.42	121.25	12.70	14.82
Угол отхождения 1 жилки, град.	45.16	1.35	30.85	60.46	5.89	13.04
L от самой широкой части ЛП до основания, см	0.62	0.03	0.33	1.14	0.16	26.72
Индекс формы	0.96	0.02	0.68	1.33	0.14	14.50
Индекс ЛП	0.90	0.01	0.71	1.34	0.11	12.39

Высокая вариабельность параметров ЛП отмечается как на внутрипопуляционном, так и на межпопуляционном уровне (Рис. 2). Популяция Серебрянский камень характеризуется некоторой статичностью изученных параметров, что связано с экологическими условиями произрастания в горной тундре. Такие фенотипические параметры ЛП как индексы и углы отхождения первой жилки и основания ЛП являются более стабильными на межпопуляционном уровне и, следовательно, могут быть использованы как диагностические признаки для поиска и идентификации гибридов *B. nana*.

На основании проведенного рестриктоного анализа регионов *trnS-trnG*, *trnL-trnF* хпДНК в исследованных популяциях *B. nana* выявлено 7 гаплотипов. В таблице 3 приведены показатели генетической изменчивости популяций.

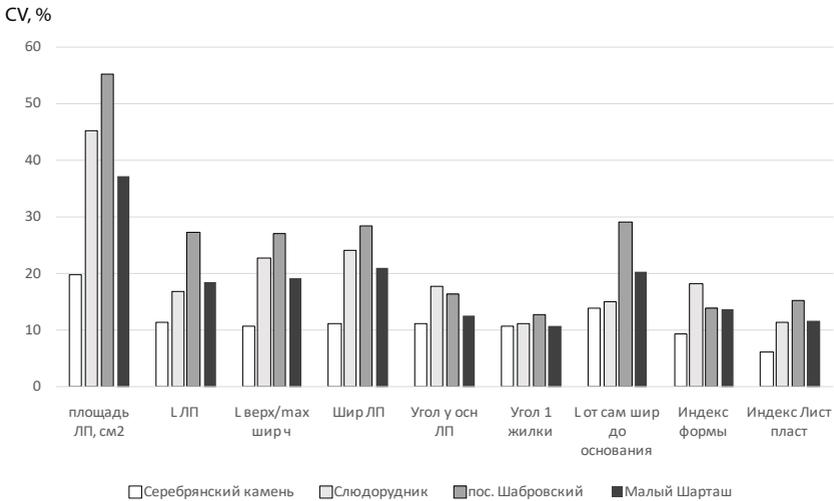


Рисунок 2. Коэффициент вариации фенотипических параметров ЛП

Таблица 3. Характеристики генетического полиморфизма регионов *trnS-trnG*, *trnL-trnF* по данным рестриктоного анализа

Популяции	N	H	He	F
Серебрянский камень	14	Г1, n:2, Г2, n:1, Г6, n:9, Г7, n:2	0.58	0.58
Слюдорудник	16	Г1, n:11, Г4, n:3, Г2, n:2	0.32	0.43
пос. Шабровский	16	Г1, n:6, Г5, n:8, Г2, n:2	0.63	0.33
Малый Шарташ	20	Г3, n:20	0.00	0.71

Примечание: N – размер выборки, H - гаплотипы, He – генетическое ранобразие, F – индекс фиксации Райта.

По результатам иерархического анализа ANOVA, большая часть генетической изменчивости (61%) исследованных межгенных спейсеров хпДНК приходится на межпопуляционную изменчивость, внутрипопуляционная изменчивость составила 39%. Наибольшим генетическим разнообразием характеризуются популяции Серебрянского камня и п. Шабровский. Генетические дистанции между популяциями варьируют в пределах $F_{ST} = 0.33-0.71$. Высокий индекс дифференциации свидетельствует о сниженном потоке генов между популяциями (Хедрик, 2003), что, вероятно, обусловлено как географическим расстоянием, так и отсутствием рек вблизи болотных популяций. Генеалогическая сеть гаплотипов (рис. 3) позволяет предположить, что гаплотип 1 может являться предковым исходя из его центрального положения и высокой частоты (41% всей выборки).

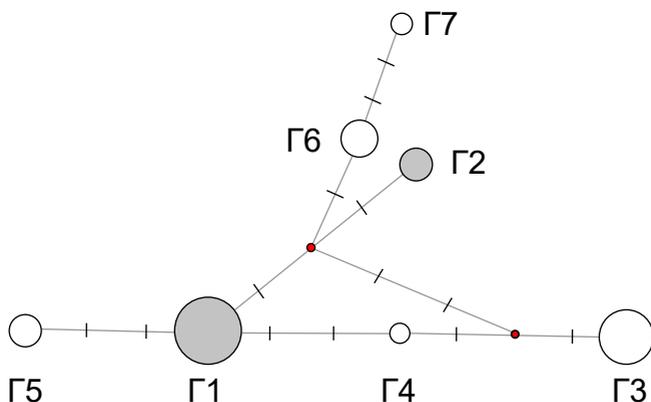


Рисунок 3. Генеалогическая сеть, демонстрирующая взаимоотношения между исследованными образцами *V. papa* на основе матрицы генетических дистанций Nei по данным рестриктового анализа регионов *trnS-trnG*, *trnL-trnF* хпДНК. Общие гаплотипы выделены серым.

ВЫВОДЫ

1. Наиболее стабильными признаками ЛП *V. papa* являются индекс формы, индекс ЛП, угол отхождения первой жилки, угол основания ЛП, данные признаки могут быть использованы для выявления гибридных форм березы карликовой. Признаки, характеризующие размеры ЛП у данного вида, являются высоко изменчивыми.
2. Регионы *trnS-trnG*, *trnL-trnF* хпДНК у березы карликовой являются полиморфными и могут быть использованы для изучения генетической структуры популяций данного вида. Высокий индекс межпопуляционной дифференциации, свидетельствует

о сниженном потоке генов между популяциями, что, вероятно, обусловлено экологической приуроченностью *B. nana*, а также географическими дистанциями между популяциями. Генеалогическая сеть позволяет предположить существование одного предкового гаплотипа. Требуется дополнительно изучить изменчивость данных регионов хпДНК у *B. pubescens*, произрастающей совместно с *B. nana*, чтобы сделать вывод о возможности использования этого маркера для поиска гибридов *B. nana* × *B. pubescens*.

3. Закономерности, выявленные в данной работе, необходимо верифицировать за счет увеличения числа исследуемых популяций.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Скворцов А.К. Новая система рода *Betula* L. – береза // Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отдел биологический. 2002. Т. 107. № 5. С. 73–76.
- Хедрик Ф. Генетика популяций. М.: Техносфера, 2003. 592 с.
- Anamthawat-Jonsson K., Thorsson T., Temsch E. M., Greilhuber J. Icelandic Birch Polyploids – The Case of a Perfect Fit in Genome Size // Journal of Botany. 2010. Vol. 2010. P. 1–9.
- Ashburner K., McAllister H.A. The Genus *Betula*: A Taxonomic Revision of Birches. London: Kew Publishing, 2016. 432 pp.
- Bandelt H.J., Forster P., Rohl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies // Molecular Biology and Evolution. 1999. Vol. 16. P. 37–48.
- Jadwiszczak K., Banaszek A., Jablonska E., Sozinov O.V. Chloroplast DNA variation of *Betula humilis* Schrk. in Poland and Belarus // Tree Genetics and Genomes. 2012. Vol 8. 1017–1030.
- Maliouchenko O., Palme A.E., Buonamici A., Vendramin G.G. et al. Comparative phylogeography and population structure of European *Betula* species, with particular focus on *B. pendula* and *B. pubescens* // Journal of Biogeography. 2007. Vol. 34. P. 1601–1610.
- Medvedeva S., Cherepanova O., Tolkach O., Ponomarev V., Malosieva G. *trnL-trnfF* cpDNA polymorphism in some representatives of the genus *Betula* // BIO Web of Conferences. 2021. P. 35.
- Palme A.E., Palsson Q. Su, S., Lascoux M. Extensive sharing of chloroplast haplotypes among European birches indicates hybridization among *Betula pendula*, *B. pubescens* and *B. nana* // Molecular Ecology. 2004. Vol. 13. 167–178.
- Schneider S, Lischer H. Arlequin, version 3.5: an integrated software package for population genetics data analysis. Berne: University of Berne, 2009. P. 1–145.

Thorsson A.Th., Palsson S., Sigurgeirsson A., Anamthawat-Jonsson K.
Morphological variation among *Betula nana* (diploid), *B. pubescens*
(tetraploid) and their triploid hybrids in Iceland // *Annals of Botany*.
2007. Vol. 99. № 6. 1183–1193.

УДК 574 (061.3)

Э 40

ИЭРиЖ
ИНСТИТУТ ЭКОЛОГИИ
РАСТЕНИЙ И ЖИВОТНЫХ



**Совет молодых
учёных ИЭРиЖ**

Экология: факты, гипотезы, модели. Материалы конф. молодых Э 40 ученых, 17–21 апреля 2023 г. / ИЭРиЖ УрО РАН — Екатеринбург: ООО Универсальная Типография «Альфа Принт», 2023. — 284 с.

В сборнике опубликованы материалы Всероссийской конференции молодых ученых «Экология: факты, гипотезы, модели», посвященной 90-летию со дня рождения профессора С.Г. Шиятова. Конференция проходила с 17 по 21 апреля 2023 г. на базе Института экологии растений и животных УрО РАН. Организаторами мероприятия выступили ИЭРиЖ УрО РАН, Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина и Информационный центр по атомной энергии.

Работы участников конференции молодых ученых были представлены в форме устных и постерных докладов в рамках традиционного курса научных работ. Представленные исследования были посвящены проблемам дендрохронологии и структуре сообществ в контексте климатогенной и антропогенной динамики, многоуровневому изучению биоразнообразия, анализу ископаемых остатков и экологических закономерностей эволюции, выявлению механизмов инвазии чужеродных видов, а также популяционным аспектам экотоксикологии.

В оформлении обложки использована фотография фотоконкурса конференции Болдырева Степана Леонидовича.

ISBN 978-5-9076897-0-8



9 785907 680708

© Авторы, 2023

© ИЭРиЖ УрО РАН, 2023

© ООО Универсальная Типография