

ОСОБЕННОСТИ ГЕНОТИПИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ГЛУТАМАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЖИЗНЕННОГО СОСТОЯНИЯ ДЕРЕВА

© 2022

Дегтярева А.П., Внукова Н.И., Камалова И.И.

Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии
(г. Воронеж, Российская Федерация)

Аннотация. В условиях глобального потепления климата важной задачей является поиск механизмов адаптации лесных древесных растений к изменяющимся условиям среды. В степных районах данный вопрос стоит особенно остро из-за часто повторяющихся засух во время вегетационного сезона. Сосна обыкновенная является одной из основных лесообразующих пород России и имеет важное значение. В статье изучено жизненное состояние насаждения сосны обыкновенной, произрастающей в пессимальной зоне ареала в районе степей, а также проанализирована генотипическая структура локуса глутаматдегидрогеназы. Аллельная форма *Gdh-1*¹ данного фермента является эмбриональным полулеталем для сосны обыкновенной и может выступать молекулярным маркером адаптации данного вида к негативным условиям среды. Известно, что организмы, имеющие в генотипе полулетальные гены, обладают комплексом компенсаторных механизмов, что обуславливает их повышенную устойчивость к неблагоприятным факторам. Изучаемую выборку разделили на две группы по уровню жизненного состояния: сильные и слабые. Установлено, что в группе деревьев, находящихся в лучшем жизненном состоянии, преобладает доля генотипов, содержащих эмбриональный полулеталь сосны обыкновенной (*Gdh-1*¹). Также в группе сильных деревьев аллель, являющийся эмбриональным полулеталем, составляет 79%, а в группе слабых деревьев – 39%, что меньше в 1,9 раз.

Ключевые слова: потепление климата; засуха; степная зона; жизненное состояние дерева; изоферментный анализ; молекулярные маркеры адаптации; глутаматдегидрогеназа; эмбриональный полулетальный аллель.

FEATURES OF THE GENOTYPIC STRUCTURE OF SCOTS PINE GLUTAMATE DEHYDROGENASE DEPENDING ON THE VITAL STATE OF THE TREE

© 2022

Degtyareva A.P., Vnukova N.I., Kamalova I.I.

All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology (Voronezh, Russian Federation)

Abstract. In the context of global warming, an important task is to find mechanisms for forest woody plants adaptation to changing environmental conditions. In steppe regions, this issue is particularly acute due to frequent droughts during the growing season. Scots pine is one of the main forest-forming species in Russia and is of great importance. The paper deals with the vital state of Scots pine plantations growing in the pessimal zone of the range in the steppe region, as well as the genotypic structure of the glutamate dehydrogenase locus. The allelic form of *Gdh-1*¹ of this enzyme is an embryonic semi-lethal for Scots pine and can act as a molecular marker of adaptation of this species to negative environmental conditions. It is known that organisms with semi-lethal genes in their genotype have a complex of compensatory mechanisms, which causes their increased resistance to adverse factors. The study sample was divided into two groups according to the level of living conditions: strong and weak. It was found that in the group of trees in the best vital condition, the proportion of genotypes containing embryonic half-life (*Gdh-1*¹) of scots pine prevails. Also, in the group of strong trees, the allele, which is an embryonic half-fly, is 79%, and in the group of weak trees – 39%, which is 1,9 times less.

Keywords: climate warming; droughts; steppe zone; vital state of tree; isoenzyme analysis; molecular markers of adaptation; glutamate dehydrogenase; embryonic semi-lethal allele.

Введение

На сегодняшний день актуальной задачей является контроль общего состояния и устойчивости лесных насаждений к изменяющимся условиям среды в разных климатических зонах [1].

Особое значение имеет изучение особенностей выращивания леса в степной зоне. Данный вопрос стоит особенно остро на фоне высоких темпов изменяющегося климата в зоне степей, а также сложностей выращивания леса в природно-климатических условиях степной зоны. Это связано с особенностями почв, климата и, главным образом, влагообеспеченностью [2].

Воронежская область расположена на территории двух климатических зон: степной и лесостепной [3]. В лесостепной зоне отмечаются благоприятные природно-климатические условия для развития лесной растительности. В степной зоне наблюдается снижение количества осадков и, как следствие, дефицит влаги. Влажность воздуха является важным фактором развития древесных растений. Средняя температура в степной зоне выше, чем в лесостепной. В результате недостаточного увлажнения и высокой температуры, в степной зоне формируются засухи, происходит торможение развития лесной растительности [4].

Одной из главных лесообразующих пород Воронежской области является сосна обыкновенная. Лесорастительные условия лесостепной зоны являются оптимальными для произрастания высокопродуктивных хвойных лесов. По мере продвижения на юг, к степной зоне, наблюдается ухудшение жизненного состояния деревьев, снижение их биопродуктивности, а также качества семенного материала сосны [5; 6].

Целью исследования является оценка жизненного состояния популяции сосны обыкновенной, произрастающей в степной зоне Воронежской области, поиск молекулярных маркеров устойчивости изучаемого вида к изменяющимся природно-климатическим условиям.

С 1950-х годов изоферментный анализ успешно применяется для генетических исследований, имея ряд преимуществ. Изучая аллельные формы ферментов, можно получить надежную и полную информацию о структуре генофонда и его изменчивости в исследуемой популяции [7]. Наибольший интерес представляет изучение ген-ферментных локусов, являющихся эмбриональными полулеталями. Согласно концепции В.А. Струнникова, полулетальные гены нейтрализуют комплекс компенсаторных генов, который подавляет и компенсирует негативное воздействие полулеталей, за счет чего гомозиготные организмы по эмбриональному полулетальному аллелю отличаются повышением жизнеспособности, улучшением морфологических признаков и имеют повышенные хозяйственно-ценные признаки [8]. Таким образом, эмбриональные полулетальные аллели можно использовать как молекулярные маркеры.

У сосны обыкновенной ген-ферментный локус глутаматдегидрогеназы (GDH) представлен двумя аллельными вариантами. Установлено, что наиболее подвижный при электрофорезе аллель $Gdh-1^1$ является эмбриональным полулеталям [9]. Данный фермент имеет важное значение для роста и развития древесных растений: участвует в метаболизме аминокислот, что оказывает влияние на развитие, продуктивность и устойчивость растений. Таким образом, ген-ферментный локус глутаматдегидрогеназы рассмотрен нами как молекулярный маркер устойчивости сосны обыкновенной к изменяющимся природно-климатическим условиям.

Материалы и методы

Для изучения жизненного состояния сосны обыкновенной в Воронежской области нами отобрана случайная выборка из 30 деревьев, произрастающих в степной зоне (п. Кантемировка). Данная территория характеризуется повышенной относительно многолетней региональной нормы температурой воздуха в весенне-летний период, а также малым количеством осадков, что формирует жесткие гидротермические условия для произрастания сосны обыкновенной [10].

По данным Кантемировского лесничества, изучаемое насаждение, расположенное в п. Кантемировка, заложено в 1999 году на пологих ($1-6^\circ$) склонах южной и западной экспозиций. Открытых водоемов вблизи насаждения нет. Грунтовые воды залегают на глубине около 10–15 м. Почва – черноземы обыкновенные маломощные слабосмытые тяжелосуглинистые. Площадь насаждения 1,85 га.

Общее жизненное состояние (ОЖС) сосны обыкновенной оценивали по методике А.С. Боголюбова

[11]. Критериями оценки ОЖС являются: дефолиация кроны, дехромация хвои, количество новых и старых шишек, прирост верхушечного побега. Каждый показатель оценивали по 5-балльной шкале, где 0-наивысший балл, затем по совокупности баллов определяли класс ОЖС.

Генетическую и аллельную структуры глутаматдегидрогеназы изучали с помощью изоферментного анализа. Разделение белковых экстрактов осуществляли в вертикальном блоке полиакриламидного геля, с последующим гистохимическим окрашиванием фермента [12]. Белковые экстракты получали из индивидуальных эндоспермов. Для характеристики каждого дерева использовано 6–10 семян.

Результаты исследования и их обсуждение

По результатам оценки ОЖС *Pinus sylvestris* L. степной зоны [13] можно выделить две группы растений. Так, среди проанализированной выборки из 30 деревьев питомника Кантемировского лесничества наивысший балл ОЖС (9–10 баллов) имеют 7 деревьев. Они представляют собой ослабленную группу изучаемой популяции. Наименьший балл ОЖС (4–6 баллов) имеют 9 сосен – деревья, находящиеся в хорошем жизненном состоянии.

На основании разделения изучаемой популяции сосны обыкновенной на группы сильных и ослабленных, провели изоферментный анализ в каждой группе деревьев.

По результатам анализа генотипической структуры популяции сосны наблюдаются следующие результаты (рис. 1). В группе с ослабленным жизненным состоянием 57% деревьев являются гомозиготами по медленному аллелю $Gdh-1^2/Gdh-1^2$, а 43% являются гетерозиготами $Gdh-1^1/Gdh-1^2$. В группе с наилучшими признаками жизненного состояния гомозиготами по медленному аллелю являются 45% деревьев, гетерозиготы составляют 33%, а гомозиготы по быстрому аллелю, являющемуся эмбриональным полулеталям $Gdh-1^1/Gdh-1^1$ составляют 22%.

Таким образом, нами отмечено увеличение доли генотипов с полулетальным аллелем в группе деревьев с наилучшими показателями жизненного состояния: 22% гомозигот по эмбриональному полулеталям, в то время как в группе слабых деревьев таких генотипов не зафиксировано.

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что в группе с лучшим жизненным состоянием сосны обыкновенной, происходит увеличение доли организмов, являющихся гомозиготами по быстрому аллелю $Gdh-1^1/Gdh-1^1$ и, соответственно, уменьшение доли гомозигот по медленному аллелю.

Проанализирована частота аллелей глутаматдегидрогеназы в изучаемой выборке сосны обыкновенной (рис. 2). В группе слабых деревьев наибольшую частоту 79% имеет медленный аллель $Gdh-1^2$, быстрый аллель $Gdh-1^1$ встречается в 21% случаев. В группе деревьев с лучшими показателями ОЖС наблюдается несколько другое соотношение между частотами аллелей: частота медленного аллеля составляет 61%, а частота быстрого полулетального аллеля – 39%.

Таким образом, в группе деревьев с лучшим жизненным состоянием эмбриональный полулетальный аллель встречается на 18% чаще, чем в группе с высоким уровнем повреждения.

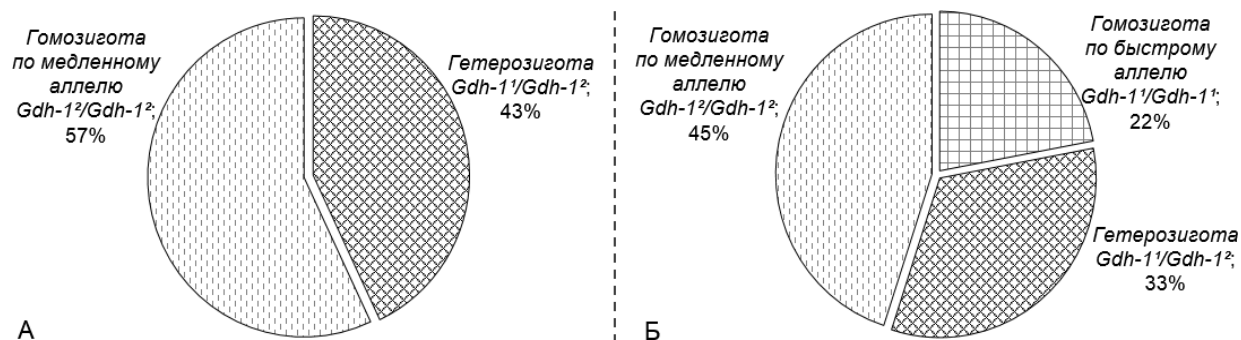


Рисунок 1 – Частота генотипов глутаматдегидрогеназы сосны обыкновенной по группам ОЖС:
А – слабых деревьев, Б – сильных деревьев

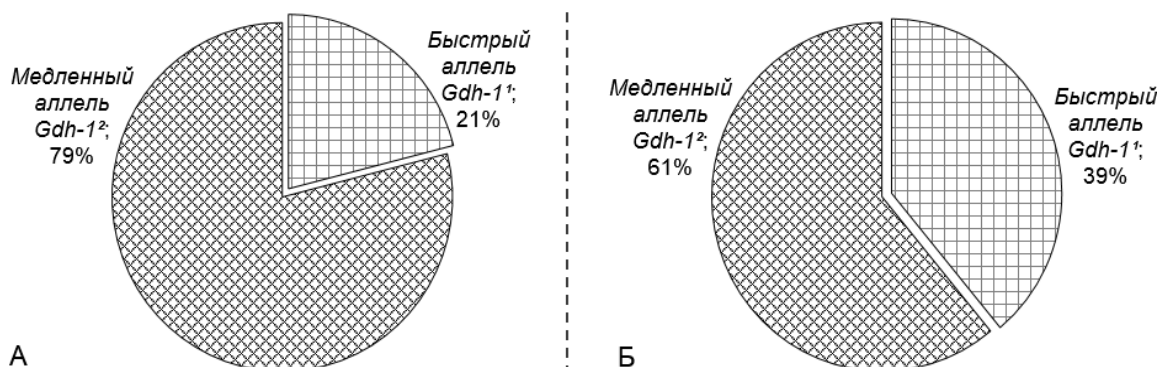


Рисунок 2 – Частоты аллелей локуса глутаматдегидрогеназы сосны обыкновенной по группам ОЖС:
А – слабых деревьев, Б – сильных деревьев

Заключение

Проведя изоферментный анализ локуса глутаматдегидрогеназы сосны обыкновенной и произведя оценку жизненного состояния изучаемой выборки сосны, выявлена следующая закономерность: в группе деревьев, обладающих лучшими показателями жизненного состояния, отмечено увеличение доли деревьев, являющихся гомозиготами по эмбриональному полуплетальному, а также гетерозигот, содержащих полуплетальный аллель, в то время как в группе слабых деревьев гомозигот по эмбриональному полуплетальному не зафиксировано. Такая же тенденция отмечена и в аллельной структуре изученных групп деревьев: среди наиболее сильных сосен доля полуплетального аллеля в 1,9 раз выше, чем в группе ослабленных деревьев.

Таким образом, можно сделать вывод, что в нашем исследовании подтверждается концепция В.А. Струнникова: группа деревьев с высокой долей эмбриональных полуплеталей имеет наиболее высокие признаки жизненного состояния среди изученной популяции. Исходя из этого, глутаматдегидрогеназа может быть рассмотрена как молекулярный маркер устойчивости сосны обыкновенной к негативным условиям среды.

Список литературы:

1. Мохов И.И., Семёнов В.А. Погодно-климатические аномалии в российских регионах и их связь с глобальными изменениями климата // Метеорология и гидрология. 2016. № 2. С. 16–28.
2. Кузнецова Н.Ф. Засухи в лесостепной зоне Центрально-Черноземного региона и критерии оценки их интенсивности // Известия Саратовского университета. Samara Journal of Science. 2022. Vol. 11, iss. 2

Новая серия. Серия Науки о Земле. 2019. Т. 19, № 3. С. 142–148.

3. Паршутин Л.П. О южной границе лесостепи в пределах Воронежской области // Известия Самарского научного центра РАН. 2012. Т. 14, № 1 (6). С. 1634–1637.
4. Дегтярева А.П. Изменение климата в районе степей Центрального Черноземья в весенне-летний период // Global and Regional Research. 2021. Т. 3, № 4. С. 268–273.
5. Кузмичев А.М., Овчаренко А.А. Оценка засухоустойчивости древесных насаждений в среднем Прихоперье // Известия Самарского научного центра РАН. 2012. Т. 14, № 1 (8). С. 1971–1974.
6. Свинцова В.С., Кузнецова Н.Ф., Пардаева Е.Ю. Влияние засухи на генеративную сферу и жизнеспособность пыльцы сосны обыкновенной // Лесоведение. 2014. № 3. С. 49–57.
7. Янбаев Ю.А., Музафарова А.А., Габитова А.А. Изоферментные маркеры и полиакриламидный диск-электрофорез в решении фундаментальных и прикладных задач лесной генетики и селекции: учеб. пособие. Уфа, 2011. 16 с.
8. Струнников В.А. Новая гипотеза гетерозиса и ее научное и практическое значение // Вестник сельскохозяйственной науки. 1983. № 1 (316). С. 34–40.
9. Камалова И.И., Камалов Р.М. Динамика генетической структуры локуса глутаматдегидрогеназы как маркер состояния насаждений сосны обыкновенной // Мониторинг и оценка состояния растительного мира: материалы междунар. науч. конф. Института экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси (22–26 сентября 2008 г., г. Минск). Минск: Право и экономика, 2008. С. 167–168.
10. Serdyukova A.P. The state of Scots pine plantations in the steppe Voronezh Region in drought conditions and under anthropogenic influence // IOP Conference Series:

Earth and Environmental Science. Orenburg, 2021. DOI: 10.1088/1755-1315/817/1/012098.

11. Боголюбов А.С., Буйволлов Ю.А., Кравченко М.В. Оценка жизненного состояния леса по сосне. М.: Эко-система, 1999. 25 с.

12. Гончаренко Г.Г., Падутов В.Е., Потенко В.В. Руководство по исследованию хвойных видов методом

электрофоретического анализа изоферментов. Изд. 2-е перераб. и доп. Гомель: БелНИИЛХ, 1989. 163 с.

13. Сердюкова А.П. Сравнительный анализ признаков жизненного состояния *Pinus sylvestris* L. в условиях антропогенной нагрузки и на экологически благоприятной территории // Международный журнал гуманитарных и естественных наук. 2020. № 8 (47). С. 10–13.

Информация об авторе(-ах):	Information about the author(-s):
<p>Дегтярева Алина Петровна, младший научный сотрудник лаборатории экологической генетики; Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии (г. Воронеж, Российская Федерация). E-mail: ali.serdyukova@yandex.ru.</p> <p>Внукова Наталья Ивановна, научный сотрудник лаборатории биотехнологии; Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии (г. Воронеж, Российская Федерация). E-mail: natalya.vnuckova@yandex.ru.</p> <p>Камалова Ирина Ивановна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией биохимии, молекулярной генетики и физиологии растений; Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии (г. Воронеж, Российская Федерация). E-mail: kamairi@yandex.ru.</p>	<p>Degtyareva Alina Petrovna, junior researcher of Ecological Genetics Laboratory; All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology (Voronezh, Russian Federation). E-mail: ali.serdyukova@yandex.ru.</p> <p>Vnukova Natalya Ivanovna, researcher of Biotechnology Laboratory; All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology (Voronezh, Russian Federation). E-mail: natalya.vnuckova@yandex.ru.</p> <p>Kamalova Irina Ivanovna, candidate of biological sciences, leading researcher, head of Biochemistry, Molecular Genetics and Plant Physiology Laboratory; All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology (Voronezh, Russian Federation). E-mail: kamairi@yandex.ru.</p>

Для цитирования:

Дегтярева А.П., Внукова Н.И., Камалова И.И. Особенности генотипической структуры глутаматдегидрогеназы сосны обыкновенной в зависимости от жизненного состояния дерева // Самарский научный вестник. 2022. Т. 11, № 2. С. 41–44. DOI: 10.55355/snv2022112105.