

УДК 582.475 (476.2):581.15:581.16:575.17

Определение величины необходимого генетического резервата ели европейской (*Picea abies* (L.) Karst) на территории Белоруссии на основе анализа генных маркеров

Г. Г. ГОНЧАРЕНКО, Е. М. СТЕПАНОВА

Введение

Актуальной проблемой, стоящей перед лесной популяционной генетикой, является сохранение генетических ресурсов основных лесообразующих видов, необходимое для проведения селекции видов, управления редкими и находящимися под угрозой исчезновения видами, сохранения наиболее продуктивных и адаптированных к местным условиям популяций (Гончаренко и др., 1989). Принципы и основы сохранения лесных генетических ресурсов разрабатываются с учетом информации, полученной из различных областей лесной генетики, связанных с изучением генетической структуры, систем скрещивания, генного потока. Эти данные являются необходимыми для решения “что и как надо сохранять”, для оценки происходящих генетических изменений и для определения достаточно точных для планов сохранения параметров (Millar, Westfall, 1992). В последние годы в лесных хозяйствах в целях сохранения генофонда хвойных видов создаются плантации из потомства лучших особей, пропагандируется выращивание клональных и прививочных культур. Однако размножение отдельных, пусть даже лучших, генотипов приведет к обеднению генофондов и в конечном итоге к инбридингу и вырождению популяции. Для гарантированного сохранения генетической изменчивости необходимы специальные защитные мероприятия, в частности создание генетических резерватов — участков леса, предназначенных исключительно для охраны генетических ресурсов лесообразующих видов и их использования в лесовосстановлении, селекции и семеноводстве (Мамаев и др., 1988).

Одной из важнейших лесохозяйственных хвойных пород в Белоруссии является ель европейская (*Picea abies* (L.) Karst). Наибольшее распространение на территории республики ель имеет в северной геоботанической подзоне широколиственно-еловых лесов, а с позиции лесосеменного районирования — в Северном лесосеменном подрайоне Белоруссии. Здесь ельники занимают 16,1% лесопокрытой площади и составляют 71,6% от всех еловых лесов республики [Парфенов и др.]. Для сохранения генофонда белорусских еловых насаждений на данной территории необходимо создание генетического резервата, определение площади которого базировалось бы на точных научных данных о генетическом потенциале природных популяций *P. Abies*. Такие данные могут быть получены с помощью электрофоретического анализа изоферментов. В связи с вышесказанным целью нашей работы было определение на основе электрофоретического анализа генных маркеров средней площади генетического резервата ели европейской (*P. Abies*) в Северном лесосеменном подрайоне Белоруссии.

Объект и методы исследования

Определение величины резервата проводилось на основании генетического анализа деревьев *Picea abies* из 9 природных популяций Беларуси (Каменюки, Молчадь, Бельнычи Туров, Ветка, Могилев, Бегомль, Подсвилье и Городок) и 5 популяций Латвии (Салдус, Ранки, Розены, Лигатне и Резекне)

Каждое дерево *Picea abies* было проанализировано по 25 генам посредством метода электрофоретического анализа изоферментов в крахмальном геле, все этапы которого подробно описаны ранее (Гончаренко и др., 1989; Goncharenko et al., 1992; Goncharenko et al., 1993; Гончаренко, Силян, 1997; Гончаренко, 1999; 2002, Гончаренко, Падутов, 2001).

Для широко распространенных видов целью сохранения генетических ресурсов является не просто создание минимальных условий для выживания, а выделение и охрана популяций, обладающих генетическим разнообразием, достаточным для адаптации к негативным последствиям изменений окружающей среды. Таким образом, размер генетических резервов зависит от того, какой параметр генетического разнообразия рассматривается в качестве основного при проведении мероприятий по сохранению генетических ресурсов и какова величина этого параметра.

Если первоочередной задачей является просто сохранение всех аллельных вариантов генов, то величина генетического резервата рассчитывается на основании функции распределения Хастингса и Пиккока (Мамаев и др., 1988):

$$F(n,k) = [1-(1-p)^n]^k,$$

где $F(n,k)$ – вероятность успешного сохранения аллельных вариантов генов, p – частота встречаемости самого редкого аллельного варианта, n – эффективная популяционная численность, k – количество редких аллельных вариантов генов в генофонде вида.

Когда же планируется сохранение соответствующего уровня генетического разнообразия популяций, то при определении величины генетического резервата необходимо учитывать следующее соотношение:

$$N_e = 4N\mu / (1+4N\mu),$$

где N_e – величина параметра ожидаемой гетерозиготности, N – эффективная популяционная численность, μ – мутационная скорость (Crow, Kimura, 1970; Brown, Moran, 1981).

В последние годы был проведен ряд исследований, направленных на оценку темпов мутирования генетического материала древесных хвойных пород на незагрязненных радионуклидами территориях (Goncharenko et al., 1998; Гончаренко и др., 1999). Анализ степени поражения генетического материала ели европейской осуществлялся по большому количеству семян, собранных с модельных деревьев из двух природных популяций: Бегомльского лесхоза Минской области и заповедника «Гауя» на территории Латвии. Мощность экспоненциальной дозы (X) в данных насаждениях соответствовала природному радиационному фону. Исходя из полученных исследователями данных естественный темп мутирования для ели европейской на незагрязненных радионуклидами территориях составил $0,5 \times 10^{-5}$ (Гончаренко и др., 1999).

Результаты и обсуждение

При определении величины генетического резервата были использованы результаты ранее проведенных исследований по изучению генетической структуры и генному потоку для ели европейской на территории Белорусско-Балтийского региона (Goncharenko et al., 1995; Goncharenko et al., 2005; Степанова, Зятьков, 2007). В таблице 1 приведены рассчитанные средние частоты уникальных аллелей ($\bar{p}(l)$), показатели подразделенности (F_{ST}) и генного потока ($N_e m(F)$, $N_e m(p)$) для белорусско-балтийских популяций.

Таблица 1 – Показатели подразделенности и генного потока у *P. abies* в популяциях Белорусско-Балтийского региона

Популяции	F_{ST}	$N_e m(F)$	$\bar{p}(l)$	$N_e m(p)$
Белорусские	0,013	18,98	0,0079	25,25
Белорусско-латвийские	0,019	12,58	0,0122	11,73
Белорусско-эстонские	0,028	8,68	0,0116	12,44

На основании данных из таблицы 1 было установлено, что белорусские популяции интенсивно обмениваются генетическим материалом с балтийскими, но в силу географической удаленности генный поток между белорусскими и эстонскими популяциями происходит слабее, чем между белорусскими и латвийскими (Степанова, Зятьков, 2007). Географическая связанность, низкая подразделенность и интенсивный генный поток, который у хвойных может осуществляться за счет переноса пыльцы и семян, способствуют сглаживанию различий в генетической структуре белорусских и латвийских еловых насаждений. Существует большая вероятность миграции и фиксации в белорусских популяциях латвийских редких и

уникальных аллелей. Появление новых аллелей в природных популяциях *P. abies* может привести к увеличению генетического потенциала, устойчивости и продуктивности последующих поколений леса и существенно повысить возможности генетико-селекционного улучшения искусственных лесных биоценозов в будущем. В связи с вышесказанным целесообразно при создании генетического резервата *P. abies* в Северном подрайоне Белорусского лесосеменного района учитывать мигрантов из близкорасположенных латвийских насаждений и проводить расчет средней площади генетического резервата с учетом аллелофонда и полиморфизма латвийских популяций.

Определение средней площади генетического резервата осуществлялось нами на основании показателей эффективной численности популяции, рассчитанных двумя способами. В первом случае вычисление показателя N_e базировалось на сохранение соответствующего уровня генетического разнообразия популяций и проводилось с учетом параметров гетерозиготности. В таблице 2 представлены показатели эффективной численности и средняя площадь генетического резервата для ели европейской, определенные на основании параметров гетерозиготности для белорусских и белорусско-латвийских популяций.

Таблица 2. Показатели эффективной численности и величина генетического резервата для ели европейской, рассчитанные на основании параметра гетерозиготности

Популяции	N_e	μ	N_e	Средняя площадь генетического резервата, га
Белорусские	0,175	$0,5 \times 10^{-5}$	10610	41
Белорусско-латвийские	0,184	$0,5 \times 10^{-5}$	11275	43,7

Как видно из таблицы 2, показатель наблюдаемой гетерозиготности в белорусских популяциях составил 0.175. Произведя необходимые расчеты, мы получили величину N_e , равную 10610 деревьям.

Средняя площадь генетического резервата для древостоя 6Е.....(6Е2Д2Ос – ельник дубово-кисличный) I класса бонитета с полнотой 0,5 и густотой 258 экз*га составила 38 га. Однако при расчете этой величины не учтен ряд факторов (пожары, ветровалы, гибель деревьев от вредителей), поэтому в реальных условиях ее, вероятно, следует увеличить в 1.5-2 раза для повышения надежности системы. Другими словами, при эксплуатации и любых видах воздействия на популяцию ее минимальный размер не должен уменьшаться более чем до 41 – 82 га. С позиций популяционного подхода при рубках главного пользования в каждом лесном массиве в течение всего оборота рубки должно сохраниться не менее 41 га спелых насаждений ели европейской. Тогда будет сохраняться соответствующий уровень гетерозиготности популяции.

При создании генетического резервата с учетом полиморфизма латвийских популяций его размер увеличивается до 44 – 88 га, так как при добавлении латвийских популяций к белорусским повышается общий уровень гетерозиготности ($N_e=0.184$) и соответственно количество деревьев ($N_e=11275$), необходимое для сохранения имеющейся гетерозиготности.

Второй способ определения эффективной численности основывается на вероятности успешного сохранения всех аллельных вариантов генов. Определенные вторым способом показатели эффективной численности и величина средней площади генетического резервата представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Показатели эффективной численности и величина генетического резервата для ели европейской, рассчитанные на основании вероятности успешного сохранения всех аллельных вариантов генов

Популяции	p	K	N_e (эффект. численность деревьев)	Средняя площадь генетического резервата, га
Белорусские	0,001	88000	7710	29,8
Белорусско-латвийские	0,001	128000	8055	31,2

Частоты аллелей в популяции распределены в интервале (0,1). Очевидно, сохранение часто встречающихся аллелей ($p=0,01$), определяющих полиморфизм популяции, не составит труда, так как они будут присутствовать даже в небольшой совокупности деревьев (Мамаев и др., 1988). Для определения объема выборки из n деревьев, в которой будет довольно полно представлен аллелофонд популяции (с 99% вероятностью сохранения всех редких аллелей) нами были определены наименьшие частоты редких аллелей (p) в белорусских и белорусско-латвийских популяциях. И для белорусских, и для белорусско-латвийских популяций минимальное найденное значение p составило 0,001. Количество редких аллелей в белорусских популяциях составило 88000 (в Беларуси 26,5% общей выборки аллелей составляют редкие, среднее число аллелей на локус (A) 3,32, количество генов в геноме 100000), а в белорусско-латвийском массиве $k=128000$ (35,4% от общей выборки – редкие аллели, $A=3,72$, количество генов в геноме 100000). Произведя необходимые расчеты, нами были получены величины n соответственно для белорусского массива – 15420, для белорусско-латвийского – 16110.

Однако так как частоты аллелей рассчитывались из количества геномов, а не деревьев, то полученные значения n – это необходимое количество геномов. Для получения эффективной численности деревьев показатели n необходимо сократить вдвое. Таким образом, для того, чтобы с 99%- вероятностью сохранить все аллельные варианты генов в популяции *P. abies* на территории Беларуси при рубках главного пользования необходимо оставить 7710 деревьев или примерно 29,8 га спелых насаждений ели европейской (древостой 6Е2Д2Ос, I класса бонитета, с полнотой 0,5 и густотой 258 экз*га), с учетом аллелофонда латвийских популяций – 8055 деревьев или 31,2 га спелых насаждений.

Заключение

В результате проведенного исследования были рассчитаны эффективная численность деревьев, а также средняя площадь генетического резервата, необходимая для сохранения имеющейся на сегодняшний день генетической изменчивости и аллельного разнообразия ели европейской в Северном подрайоне Белорусского лесосеменного района. Также было установлено, что при создании генетического резервата в данном подрайоне необходимо учитывать мигрантов из близкорасположенных латвийских насаждений и проводить расчет средней площади генетического резервата с учетом аллелофонда и полиморфизма латвийских популяций. Определено, что при эксплуатации и любых видах воздействия на популяцию *P. abies* ее минимальный размер не должен уменьшаться более чем до 30-41га, с учетом латвийских популяций – 31-44 га.

Работа выполняется в рамках программы ГПОФИ “Ресурсы растительного и животного мира” Национальной АН Беларуси. Авторы выражают благодарность лесным генетикам Гомеля и Риги, которые оказывали содействие в ходе генетических исследований.

Abstract. Effective number of trees and also the average area genetic reserve necessary for preservation of genetic variability of the common spruce in Northern sub district of Belarus forest seed area is considered in the paper. It is established that estimating the genetic reserve in the given sub district it is necessary to take into account the migrants from Latvian plantings next to the area and the polymorphism of the Latvian populations.

Литература

1. Гончаренко, Г.Г. Руководство по исследованию хвойных видов методом электрофоретического анализа изоферментов / Г.Г. Гончаренко, В.Е. Падутов, В.В. Потенко. – Гос. ком. СССР по лесу. Гомель: Полеспечать, 1989. – 164 с.
2. Millar, C.I. Allozyme markers in forest genetic conservation / C.I. Millar, R.D. Westfall // New Forests. – 1992. – V. 6. – P. 347-371.
3. Мамаев, С.А. О популяционном подходе в лесоводстве / С.А. Мамаев, Л.Ф.Семериков, А.К. Махнев // Лесоведение. – 1988. – № 1. – С. 3 – 9.

4. Goncharenko, G.G. Population structure, gene diversity, and differentiation in natural populations of Cedar pines (*Pinus subsect. Cembrae*, Pinacea) in the USSR / G.G. Goncharenko, V.E. Padutov, A.E. Silin // *Plant Syst. & Evol.* – 1992. – V. 182. – P. 121-134.

5. Парфенов, В.И. Особенности биоразнообразия еловых лесов беловежской пуши, Березинского биосферного и Припятского заповедников / В. И. Парфеновх [и др.] // [Электронный ресурс]. – 2006. – Режим доступа: http://bp21.org.by/ru/books/gef_bp10.html. – Дата доступа: 12.03.2007.

6. Goncharenko, G. G. Allozyme variation in natural populations of Eurasian pines. I. Population structure, genetic variation and differentiation in *Pinus pumila* (Pall.) Regel from Chukotsk and Sakhalin / G.G. Goncharenko, V.E. Padutov, A.E. Silin // *Silvae Genet.* – 1993. – V. 42. – P. 237-246.

7. Гончаренко, Г.Г. Популяционная и эволюционная генетика сосен Восточной Европы и Сибири / Гончаренко Г.Г., Силин. – Минск: Тэхналогія, 1997. – 192с.

8. Гончаренко, Г.Г. Геносистематика и эволюционная филогения основных лесобразующих хвойных Палеарктики: монография / Г.Г. Гончаренко. – Мн.: Тэхналогія, 1999. – 188 с.

9. Гончаренко, Г.Г. Методический подход к исследованию популяционно-генетических ресурсов хвойных / Г.Г. Гончаренко // *Известия Гомельского государственного университета имени Ф. Скорины.* – 2002. – № 4 (13). – С. 134 -146.

10. Гончаренко, Г.Г. Популяционная и эволюционная генетика елей Палеарктики: монография / Г.Г. Гончаренко, В.Е. Падутов. – Гомель: ИЛ НАН Беларуси, 2001. – 188 с.

11. Crow, J.F. An introduction to population genetics theory / J.F. Crow, M. Kimura // New York: Harper and Row, 1970. – 591pp.

12. Brown, A.H.D., Moran G.F. Isozymes and the genetic resources of forest trees / A.H.D. Brown, G.F. Moran // *Proc. Symp. Is. North Am. For. Trees and For. Ins.* / M.T.Conkle (tech. coord.).-Berkeley, 1981. – P. 1-10.

13. Goncharenko, G.G. Genetic consequences of the Chernobyl accident. In Ipatyev V. et al. Forest and Chernobyl: forest ecosystems after the Chernobyl nuclear power plant accident 1986-1994 / G.G. Goncharenko, A.E. Silin, L.V. Khotylyeva, V.E. Padutov, A.E. Padutov // *Journal of Environmental radioactivity.* – 1998. – Vol. 42. – P. 19-38.

14. Гончаренко, Г.Г. Состояние генофонда основных лесобразующих пород на загрязненной радионуклидами территории / Г.Г. Гончаренко // *Лес. Человек. Чернобыль: монография* / В.А. Ипатьев [и др.]; под редакцией В.А. Ипатьева. – Гомель: ИЛ НАН Беларуси., 1999. –Гл. 2. – С. 29-67.

15. Goncharenko, G.G. Genetic structure, diversity and differentiation of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) in natural populations of Latvia / G.G. Goncharenko, I.V. Zadeika, J.J. Birgelis // *Forest Ecology and Management.* – 1995. – Vol. 72. – P. 31-38.

16. Goncharenko, G.G. On genetic variability in Estonian and Byelorussian natural population of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) / G.G. Goncharenko, M. Kurm, U. Tamm, T. Maaten, J. Birgelis, L. Shevtcova // *Baltic Forestry.* – 2005. – №11. P. 9-19.

17. Степанова, Е.М. Генный поток у ели европейской (*Picea abies* (L.) Karst) в еловых насаждениях Белорусско-Балтийского региона / Е.М.Степанова, С.А. Зятков // *Известия Гомельского государственного университета имени Ф. Скорины.* – 2007. – № 1 (40). – С. 34 -40.