Морфологическая и генетическая изменчивость видов рода *Betula* (Betulaceae) в бассейне Нижней Лены (Якутия, Северо-Восточная Сибирь)

Избекова Настя,

МБОУ «1 Хомустахская средняя общеобразовательная школа им. Д.Ф.Алексеева» МО «Намский улус» РС(Я), 9 класс

Ключевые слова: *Betula,* Якутия, гибридизация, гибридные индексы, ITS-region rDNA В Якутии березовые леса являются одной из наиболее распространенных лиственных

формаций. Они выполняют важнейшие биосферные (выделение кислорода, продукция органических веществ), природостабилизирующие (противоэрозионные, водо-, почво-, мерзлотозащитные, санитарно-гигиенические), социальные (рекреационные, лечебно- оздоровительные) функции. Велика роль березы в быту в качестве поделочной, строительной, топливной древесины и источника лекарственного сырья.

Березовые леса Якутии до сих пор изучены недостаточно. Всего в Якутии 6 видов берез [4,9]. Они в районах совмещения своих ареалов формируют разнообразные межвидовые гибриды, выявить которые морфологическими методами крайне сложно. Нами была выдвинута гипотеза о том, что в бассейне Нижней Лены произрастает много различных внутриродовых гибридов берез, и что процесс гибридизации существенно повышает их внешний полиморфизм. В связи с этим целью наших исследований явилось изучение морфологической изменчивости видов рода *Betula* (Betulaceae) и выявление гибридов в бассейне Нижней Лены. Нами ставились следующие задачи: 1) ознакомиться с литературой, посвященной березам, и их изменчивости и гибридизации, провести полевые экспедиции для сбора материалов; 2) выявить размах изменчивости морфологических признаков у видов рода *Betula,* а также по внешним признакам выявить гибриды*;* 3) проанализировать нуклеотидный полиморфизм ITS-региона рибосомального ДНК видов и гибридов, подтвердить или опровергнуть выявленные нами гибриды.

Подобное изучение изменчивости видов рода *Betula* и их гибридных форм на основании изучения нуклеотидных последовательностей фрагментов ДНК нашим консультантом А.П. Ефимовой и нами проводятся впервые для Якутии. Выявленные гибриды и морфологический полиморфизм берез дадут возможность более объективно судить о них и в будущем позволят привести в порядок их систематику. Проведенные исследования позволят также понять, как более эффективно использовать полезные качества берез и их гибридов: как использовать в озеленении населенных пунктов, как использовать древесину для изготовления мебели, фанеры и различных поделок. Возможно, у гибридов древесина будет иметь более декоративные свойства, например, почти, как карельская береза. Проведенная работа также позволит рекомендовать меры по возобновлению и улучшению состояния березовых лесов, их охране и рациональному использованию.

Климат исследованной области резкоконтинентальный, с холодной продолжительной зимой и коротким прохладным летом. Среднемесячная температура воздуха в январе -40 (44)

°С, в июле – +16 (18)°С. Характерны резкие перепады суточных температур: поздние весенние заморозки случаются до 11 июня, первые осенние заморозки возможны с 21 августа. Среднегодовое количество осадков – 300-350 мм. На плакорах широко распространен ледовый комплекс с повторножильными льдами, термокарстовыми явлениями. Глубина сезонного протаивания почвы в пойме составляет 1-1,5 м [1].

Методы исследования включали полевые и камеральные работы. Полевые работы включали сбор материала для ДНК-анализа, составление гербария видов и гибридов берез, геоботаническое описание мест сбора по В.Н. Сукачеву, С.В. Зонну [8]. Для выделения ДНК с 2-летних побегов берез собирались молодые неповрежденные листья и сушились в силикагеле в специальных пакетиках. К каждому образцу прилагалась этикетка с номером. В камеральных условиях проведена оценка морфологических признаков с использованием бинокуляра. Изучение вариабельности морфологических признаков осуществляли по

гербарным образцам методом гибридных индексов [3,10,2], который позволяет определить состав популяции и степень проявления в потомстве таксономических характеристик видов. Провели оценку морфометрических и качественных признаков методом гибридных индексов и составили таблицу оценочных показателей, определяющих степень проявления морфологических признаков *B. pendula, B. nana* и их предполагаемых гибридов. Для этого мы выбрали 15 признаков: жизненная форма, цвет и отслаиваемость бересты, почки и т.д. Степень выраженности каждого из 15 признаков определялась оценочными показателями от

0 до 4. Признаки, оцененные показателем 0, соответствовали «чистым», или типичным растениям *B. pendula*, признаки, оцененные показателем 4, - *B. nana*. Показатели от 1 до 3 характеризовали проявление смешанных или промежуточных признаков обоих видов. При суммировании оценочных показателей (по 15 пунктам = признакам) индивидуально по каждому растению получали значение гибридного индекса. Исходя из принятой нами оценочной системы, величина гибридного индекса *B. nana* должна составлять 60 единицы, а

*B. pendula* – 0.

Семейство Betulaceae объединяет 150 видов летнезеленых деревьев и кустарников из 6 родов, распространенных преимущественно в умеренных зонах Северного полушария. На территории Якутии произрастают 6 видов *Betula*: *B. pendula* Roth., *B. alba* (*B. pubescens* Ehrh.), *B. lanata* Regel. (*B. ermanii* Cham.), *B. fruticosa* Pall., *B. nana* L., *B. divaricata* Ledeb.

Анализ фрагмента ITS-региона берез (длина фрагментов 564 нуклеотида) проводился для 6 чистых видов и предполагаемых гибридов. Ядерная ДНК выделена с использованием модифицированного CTAB протокола. Для оценки таксономических различий видов и выявления гибридов выбран регион ITS (внутренние транскрибируемые спейсеры), включающий межгенные спейсеры ITS1 и ITS2 и ген ядерной рибосомальной ДНК. Ядерные последовательности ITS зарекомендовали себя как наиболее востребованные маркеры для видоидентификации и филогенетики растений благодаря ряду преимуществ, среди которых высокая вариабельность, консервативная протяженность, высокая копийность, а также двуродительское наследование, обеспечивающее идентификацию недавно возникших гибридов [11,7,15,6]. Секвенирование ITS фрагментов проводили в ЗАО «Евроген». Сиквенсы были попарно выравнены в программе BioEdit.

В мировой практике анализ спейсеров ITS-региона рибосомальной ДНК довольно активно применяется для систематики и филогении ив [14,13]. В целом применение ITS рДНК оказалось более эффективным, поскольку во многих случаях удается выявить видоспецифичные нуклеотиды, родственные связи и гибридогенность образцов. Впервые для России молекулярно-генетические исследования ив, основанные на сравнении нуклеотидных последовательностей с применением ITS-региона рДНК были проведены В.Ю. Баркаловым, М.М. Козыренко для сибирских и дальневосточных видов [12].

Во время наших экспедиций мы обнаружили 5 видов берез, из них 2 древовидных (березы повислая и белая) и 3 кустарниковых (березы карликовая, кустарниковая, растопыренная). Кроме того, нашли много переходных форм между ними. В 2015 г. ученым- ботаником А.П. Ефимовой, моим консультантом, были найдены ниже по р. Лене на острове Аграфена и в устье р. Ундулунг странные темнокорые формы берез. Была гипотеза о том, что это – гибриды местных берез. Мы провели морфологические работы с гербарием с использованием бинокуляра и провели измерения.

Проведенные исследования показали, что березы очень изменчивы и, кажется, среди них много гибридов. Виды и гибриды имеют ряд заметных морфологических различий между собой, а между ними существует зона переходных популяций. По нашим исследованиям в условиях бассейна Нижней Лены нет растений, которые по всем 15 признакам имели бы показатель 0 (типичный для чистого *B. pendula*) или 60 (типичный для чистого *B. nana*). Таким образом, определение гибридного индекса наглядно демонстрирует изменение изученных признаков у гибридов.

На наш взгляд, крайне высокая изменчивость берез, по-видимому, связана с гибридизацией. Выявлять гибриды необходимо с помощью генетических методов, для этого

мы собрали образцы для ДНК-анализа и отправили в Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова в г. Москву. Полученные сиквенсы показывают близость *B. lanata, B. divaricata и*

*B. fruticosa. B. lanata* имеет 4 аутопаморфных замены, *B. divaricata* – 2 видоспецифичных делеции и 1 замену, кроме того, эти два вида объединяет 1 делеция. *B. fruticosa* сближает с ними 3 аналогичные замены (табл. 1). Эти молекулярно-генетические исследования позволят нам определить виды и гибриды берез, так как часто морфологически отличить их не удается.

Таблица 1. Точечные мутации у исследованных видов *Betula*

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Положение | *B. divaricata* | *B. lanata* | *B. fruticosa* | *B. pubescens**B. pendula,**B. platyphylla,**B. nana* |
| 8 (ITS6) | G\* | G | G | T |
| 14 (ITS6) | -\* | G | G | G |
| 15 (ITS6) | -\* | A | A | A |
| 31 (ITS6) | C | T\* | C | C |
| 51 (ITS6) | C | C | C | T |
| 88 (ITS6) | T | T | T | С |
| 472 (ITS9) | T | A\* | T | T |
| 499 (ITS9) | A\* | C | C | C |
| 502 (ITS9) | C | T\* | C | C |
| 521 (ITS9) | C | T\* | C | C |
| 552 (ITS9) | - | - | T | T |

Примечание: \* - видоспецифичные замены

Исследования берез показали, что они отличаются высокой изменчивостью, что главным образом, связано также с внутриродовой гибридизацией. По всей видимости, спонтанные скрещивания происходят регулярно между всеми видами берез, произрастающими на территории нашего района. Расшифровка фрагментов ITS-региона и сравнительно-морфологический анализ предварительно свидетельствуют о наиболее широком распространении гибридов *B. divaricata* х *pendula, B. nana* х *pendula.* В табл. 2 приводятся видоспецифичные мутации, маркирующие гибрид *B. pubescens* × *B. divaricata.* Обнаруженные А.П. Ефимовой на острове Аграфена и в устье р. Ундулунг странные темнокорые формы берез оказались именно этим гибридом.

Таблица 2. Точечные мутации в регионе ITS рДНК у видов *B. pubescens, B. divaricata*

и их гибридов

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| *B. pubescens* | *B. pubescens × B. divaricata* | *B.**divaricata* |
|  |
| T | G\* | G\* |
| C | C | T\* |
| T | T | C\* |
| T | T | A\* |

Примечание. \* - видоспецифичные замены

Таким образом, проведенные исследования показали, что в бассейне Нижней Лены березы отличаются крайне высокой изменчивостью, что, по-видимому, связано с гибридизацией. На наш взгляд, здесь происходят разнообразные скрещивания между различными видами берез, что вносит значительную путаницу в их систематику. Расшифровка фрагментов ITS-региона рДНК и сравнительно-морфологический анализ предварительно свидетельствуют о наиболее широком распространении гибридов *B. divaricata* х *pendula, B. nana* х *В. pendula.* Доказано, что обнаруженные на острове Аграфена и в устье р. Ундулунг странные темнокорые формы берез оказались гибридом *B. pubescens ×*

*B. divaricata.* Проведен гибридологический анализ наиболее часто встречающихся гибридов берез методом гибридных индексов. Мы будем еще много лет работать, чтоб прийти к окончательным результатам.

Выражаем огромную благодарность нашему научному консультанту Ефимовой Айталине Павловне за оказанную помощь.

Литература:

1. Атлас сельского хозяйства Якутской АССР.- М.: ГУГК, 1989. – 115с.
2. Ветчинникова Л.В. Береза: вопросы изменчивости (морфо-физиологические и биохимические аспекты) / Л.В. Ветчинникова; Отв. ред. А.Ф. Титов. – М.: Наука, 2004.

– 183 с.

1. Данченко А.М. Популяционная изменчивость березы. – Новосибирск, 1990. – 205 с.
2. Ефимова А.П., Шурдук И.Ф. Из каких деревьев состоят леса Якутии // Вечен ли лес на вечной мерзлоте. Как организовать общественный мониторинг в лесах мерзлотной зоны /Пособие для руководителей школьных лесничеств и экологических объединений граждан (Под ред.: П.А. Тимофеева, А.П. Исаева, Л.Г. Михалевой. – Якутск: Якутский госуниверситет им. М.К. Аммосова, 1999. – 17-31с.
3. Матвеева Т.В., Павлова О.А., Богомаз Д.И., Демкович А.Е., Лутова Л.А. Молекулярные маркеры для видоидентификации и филогенетики растений // Экологическая генетика.

– 2011. – Т. IX. - №1. – С. 32-43.

1. Полякова Т.А., Шатохина А.В. Филогенетические взаимоотношения российских видов рода *Spiraea* L. (Rosaceae Juss.) по морфологическим и молекулярным данным // 50 лет без К.И. Мейера: XIII Моск. совещ. по филогении растений: Матер. межд. конф. (Москва, 2-6 февр. 2015 г.). – М.: МАКС Пресс, 2015. – С. 263-265.
2. Рыжова Н.Н., Бурляева М.О., Кочиева Е.А., Вишнякова М.А. Использование ITS- последовательностей для оценки таксономических отношений у представителей трибы *Viciae* (Adans.) Bronn Сем. Fabaceae Lindl. // Экологическая генетика. – 2007. – Т.V. -

№3. – С. 5-14.

1. Сукачев В. Н., Зонн С. В. Методические указания к изучению типов леса. – М.: Изд-во АН СССР. 1961. – 144 с.
2. Тимофеев П.А. Деревья и кустарники Якутии / П.А. Тимофеев; отв. ред. канд.с.-х. наук А.П. Исаев. – Якутск: Бичик, 2003. – С. 16.
3. Шемберг М.А. Береза каменная (систематика, география, изменчивость). – Новосибирск: Наука, 1986.
4. Baldwin, B.G., Sanderson, M.J., Porter, J.M., Wojciechowski, M.F., Campbell, C.S., Donoghue, M.J. The ITS region of nuclear ribosomal DNA: A valuable source of evidence on angiosperm phylogeny // Ann. Missouri Bot. Gard. – 1995. – 82. – P. 247-277.
5. Barkalov V.Y., Kozyrenko M.M. Phylogenetic Analysis of the Far Eastern *Salix* (Salicaceae) Based on Sequence Data from Chloroplast DNA Regions and ITS of Nuclear Ribosomal

DNA // Botanica Pacifica. A journal of plant science and conservation. – 2014. – 3(1). – P. 3- 19

1. Hardig T.M., Brunsfeld S.J., Fritz R.S., Morgan M., Orians C.M. Morphological and molecular evidence for hybridization and introgression in a willow (Salix) hybrid zone // Mol. Ecol. – 2000. – 9. – P. 9-24.
2. Mosseler A. Hybrid performance and species crossability relationships in willows (*Salix*). Canadian Journal of Botany. – 1990. – 68: 2329-2338.
3. Polyakova T.A. 2014. Nuclear ribosomal DNA ITS region variability in the genus *Spiraea* from Asian Russia // Molecular Phylogenetics: Contributions to the 4th Moscow International Conference “Molecular Phylogenetics” (Moscow, Russia, Sept. 23-26, 2014). – Moscow: TORUS PRESS. – P. 58.