

УДК: 630*182.59

Инбридинг как фактор регуляции патогенеза в лесных экосистемах

Арефьев Юрий Фёдорович

Аннотация:

Инбридинг, как процесс спонтанного близкородственного сексуального размножения, обычен в дикой природе. Как целенаправленный процесс, инбридинг используется в селекции растений и животных. В результате инбридинга обычно повышается гомозиготность потомств, поскольку при близкородственном скрещивании возрастает доля идентичных аллелей в геномах последующих потомств. Гомозиготность ведёт к снижению приспособленности, к ослаблению популяций, то есть к инбридинговой депрессии. Цель данной работы – использовать фактор инбридинговой депрессии для подавления популяций патогенных организмов в лесных экосистемах. Инбридинг в лесных экосистемах достигается в результате репродуктивной изоляции патогенных организмов посредством экологических барьеров. Исследования и опытно-производственная апробация результатов исследования проводились в Среднерусской лесостепи. Модельные тест-объекты: сумчатый гриб *Erisiphe alphitoiges*, базидиальные грибы *Heterobasidion annosum* и *Porodaedalea pini*.

Ключевые слова: регуляция, депрессия, приспособленность, лесостепь, популяция

Inbreeding as the regulation factor of pathogenesis in forest ecosystems

Arefjev Yuri Fiodorovitch

Abstract

Inbreeding, as the reproduction from the mating of genetically related parents, is usual in the wild nature. As purposeful process, inbreeding is widely applied in selection of plants and animals. Inbreeding results in increased homozygosity. Homozygosity can increase the chances of offspring being affected by recessive or deleterious traits. The homozygosity of offspring usually raises, because the number of identical alleles in their genomes of the subsequent individuals increases. Homozygosity reduces fitness of population, weakens it, that is causes inbreeding depression. The purpose of the given work – to use the factor of the inbreeding depressions for suppression of pathogenic populations in forest ecosystems. Inbreeding in the ecosystems is reached as a result of reproductive isolation of pathogenic organisms. Inbreeding leads to a decreased fitness of a population. The researches were spent in the Central Russian forest-steppe. Modelling test objects were the economically significant and well-known fungi *Erisiphe alphitoiges*, *Heterobasidion annosum* and *Porodaedalea pini*.

Keywords: regulation, depression, fitness, forest-steppe, population

Введение

Инбридинг, как процесс спонтанного близкородственного сексуального размножения, обычен в дикой природе. Как целенаправленный процесс, инбридинг широко используется в селекции растений и животных. В результате инбридинга обычно повышается гомозиготность потомств, поскольку в результате близкородственного скрещивания возрастает доля идентичных аллелей в геномах последующих потомств. Гомозиготность ведёт к снижению приспособленности (*fitness*) потомств, к ослаблению популяций, то есть к инбридинговой депрессии [1,2,3].

Фактор инбридинговой депрессии использован в данной работе для подавления популяций патогенных грибов в дубовых и сосновых насаждениях Среднерусской лесостепи.

Инбридинг в экосистеме достигается в результате репродуктивной изоляции патогенных организмов в лесных экосистемах посредством экологических барьеров. Систему экологических барьеров обеспечивала мозаичность насаждений.

Многолетние исследования проводились в дубовых и сосновых лесах Среднерусской лесостепи. Модельными объектами исследования были сумчатый гриб *Erisiphe alphitoiges*, базидиальные грибы *Heterobasidion annosum* и *Porodaedalea pini*.

Прикладной аспект исследований: предложенная модель мозаичного насаждения способствует развитию инбридинга в популяциях патогенных организмов, радикально повышает биорезистентность создаваемых насаждений. Эффект инбридинговой депрессии усиливается при формировании биогрупп на основе полусибсов лесообразующих древесных пород.

Цель исследования

Иерархия целей многолетних исследований включала два последовательных этапа: (1) исследовать влияние инбридинга на состояние популяций модельных видов патогенных грибов, (2) трансформировать результаты исследования модельных видов патогенных грибов в систему мозаичных лесных насаждений, устойчивых к чрезмерному размножению и распространению патогенных организмов.

Материалы и методы исследования

Многолетние исследования проводились в дубовых (Шипов лес) и сосновых (Хреновской бор) лесах Среднерусской лесостепи. Модельными видами для исследований были: сумчатый гриб *Erisiphe alphitoides* Griffon &

Maubl. и базидиальные грибы *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. и *Porodaedalea pini* (Brot.) Murrill.

E. alphitoides – возбудитель мучнистой росы дуба черешчатого является инвазионным видом в Среднерусской лесостепи.

Инвазия в Европу северо-американского возбудителя болезни дуба *E. alphitoides* привела к исключительно негативному эффекту – массовому поражению дубовых насаждений. Этот факт свидетельствует о том, что несбалансированное увеличение видового разнообразия в лесных экосистемах может приводить к глубоким нарушениям в системах саморегуляции. Актуальная задача заключается в том, чтобы восстановить интеграционные процессы в дубравных экосистемах, как биотическую основу их оздоровления. Первый этап – исследование зависимости распространения мучнистой росы от площади

Массовое распространение мучнистой росы на дубе черешчатом в России отмечается с 1909 года [2, 3]. Как патоген дуба *E. alphitoides* широко распространён и экономически значим. Особенно сильно поражается самосев дуба черешчатого. Оценка жизнеспособности самосева дуба проводилась по оригинальной 5-балльной шкале (таблица 1).

Таблица 1 – Шкала оценки жизнеспособности самосева дуба

Баллы жизнеспособности	Сохранность самосева на пробной площади, %	Индексы жизнеспособности
4	100	T (total) – полная
3	> 50, ср. 75	H (heavy) – высокая
2	10 – 50, ср. 30	M (moderate) – средняя
1	< 10, ср. 5	L (light) – низкая
0	0	Z (zero) – нулевая

Параметры генеративных органов (частота клейстотетий, диаметр клейстотетий, размеры конидий) патогена определялись по общепринятой методике [7].

Степень развития мицелия *E. alphitoides* определялась визуально. Цепочки конидий на материнских клетках мицелия, характеризующих интенсивность асексуального размножения патогена, состояние аскокарпов, характеризующих развитие сексуального процесса, определялись на опавших, поражённых патогеном листьях дуба. Учёты проводились на пробных площадях размером 50 × 50 м (0,25 га).

Развитие болезни определялось по формуле:

$$D = \frac{\sum(d \times n)100}{d_{\max} \times N} \%,$$

где D – развитие болезни, %, d – поражённость растения (конкретный балл), d_{max} – максимальный балл применённой шкалы, n – число растений конкретного балла, N – общее число учтённых растений.

Число минимально необходимых проб для обеспечения заданной точности исследований, равной 10 % и уровня значимости 0,05 в зависимости от фактических коэффициентов вариации рассчитывалось по формуле [3]:

$$n = \left(\frac{s_x \% \times t}{k} \right)^2,$$

где s_x % – коэффициент вариации, t – критерий Стьюдента, k – точность.

H. annosum – возбудитель корневой гнили сосны обыкновенной, является инвазийным видом для Среднерусской лесостепи. Массовое распространение патогена отмечалось здесь со второй половины 20-го столетия. Данный вид постоянно встречается в сосновых насаждениях и является экономически наиболее значимым.

P. pini – возбудитель стволовой гнили сосны обыкновенной является аборигенным для Среднерусской лесостепи видом. Случаев эпифитотий данного патогена в исследуемом регионе не зарегистрировано. Однако встречаемость вызываемой патогеном ядровой гнили в сосновых насаждениях значительна.

Обилие (*abundance*) спорокарпов *Erisiphe alphitoides*, *Heterobasidion annosum*, *Porodaedalea pini*, как среднее число особей, приходящихся на 100 деревьев, определялось по 5-ти балльной шкале (табл. 2).

Таблица 2 – Шкала оценки обилия спорокарпов патогенных грибов

Баллы	Среднее число особей на 100 деревьев по видам грибов			Уровни обилия
	<i>Erisiphe alphitoides</i>	<i>Heterobasidion annosum</i>	<i>Porodaedalea pini</i>	
4	15 – 25, ср. 20	5 – 6, ср. 5,5	5 – 6, ср. 5,5	Очень высокий уровень
3	9 – 14, ср. 15	3 – 4, ср. 3,5	3 – 4, ср. 3,5	Средний уровень обилия
2	2 – 8, ср. 5	2 – 3, ср. 2,5	2 – 3, ср. 2,5	Низкий уровень обилия
1	< 2, ср. 0,5	< 1, ср. 1	< 1, ср. 1	Единичный уровень
0	0	0	0	Нулевой уровень: спорокарпы патогена не обнаружены.

Примечание. Среднее число базидиокарпов *Heterobasidion annosum* определялось в очагах корневой губки, *Porodaedalea pini* – в сосновых древостоях IV – V классов возраста, *Erisiphe alphitoides* – на 1 см² листовой пластинки поражённых патогеном листьях (в лесной подстилке)

Количественная оценка степени биоразнообразия в лесных экосистемах определялась по формуле:

$$BD = - \sum_{i=1}^n p_i \log_2 p_i ,$$

где: BD (biodiversity) – биоразнообразие, i – элементы биоразнообразия, p_i – вероятность элемента, n – число групп

Статистический анализ. Количественные оценки рассчитывались посредством однофакторного вариантного анализа. Существенность различия средних значений оценивалась посредством χ^2 . Уровень значимости $P \leq 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Инбридинг в популяции Erisiphe alphitoides

Мучнистая роса является основным фактором ослабления и отмирания самосева дуба черешчатого в Среднерусской лесостепи [Арёфьев]. Сравнительная жизнеспособность самосева дуба черешчатого в условиях открытых и экологически изолированных на площади 0,25 га участков исследуемых насаждений представлена в таблице 3.

Таблица 3. Жизнеспособность (V , балл) самосева дуба в условиях открытых и экологически изолированных участках дубовых насаждений

Условия произрастания	Возраст самосева	
	1 год	2 года
Открытые насаждения	1,31±0,02	1,33±0,01
Экологическая изоляция	3,42±0,03	3,56±0,03

Как следует из таблицы 3, жизнеспособность самосева дуба в условиях экологической изоляции более чем в три раза выше, чем в открытых участках дубовых насаждений. Основная причина в том, что в условиях репродуктивной изоляции снижается активность первичной инокуляции и дальнейшее развитие патогена.

Инбридинг, имея генетическую основу, проявляется достаточно чётко фенотипически – в уменьшении размеров особей, в снижении фертильности популяции. Таким образом, фактор инбридинга может быть использовано в качестве фактора превентивной лесозащиты для подавления популяций патогенных организмов.

Ключевые параметры генеративных органов *E. alphitoides* в относительно контрастных условиях – изоляции и открытых насаждений дуба черешчатого – представлены в таблице 4.

Таблица 4. Ключевые параметры генеративных органов *E. alphitoides* в условиях свободной инокуляции и в условиях репродуктивной изоляции субпопуляций патогена

Условия инокуляции	Параметры генеративных органов			
	Частота клейстотеций, n/cm ²	Диаметр клейстотеций, μm	Длина конидий, μm	Ширина конидий, μm
Открытость	64,3 ± 3,2	99,5 ± 5,3	32,7 ± 2,9	18,1 ± 0,9
Изоляция	8,7 ± 0,6	74,4 ± 3,1	24,8 ± 1,6	13,7 ± 0,8

Как следует из таблицы 4, средние значения ключевых параметров (частоты клейстотеций, диаметра клейстотеций, размера конидий) генеративных органов *E. alphitoides* в условиях репродуктивной изоляции значительно меньше, чем в условиях свободной инокуляции хозяйственных растений. В этом проявляется ослабленность субпопуляций патогена в условиях репродуктивной изоляции на относительно малых площадях (0,25 га). Разделение целой популяции на изолированные группы (субпопуляции) ослабляет популяцию, поскольку повышается вероятность скрещивания между особями с идентичными генами.

Развитие мучнистой росы на листьях дуба в результате первичной (сумчатой) и последующих (конидиальных) инокуляций представлено в таблице 5.

Таблица 5 – Развитие мучнистой росы в зависимости от площади компактного произрастания деревьев дуба черешчатого

Площадь компактного произрастания деревьев дуба черешчатого, га	Развитие мучнистой росы, %		Объем выборки, n	Кoeff. вариации, s _x %
	Первичная инокуляция	Конидиальная инокуляция		
< 0,25	32	81	61	39
≈ 0,25	6	14	18	21
> 0,25	46	96	44	33

Примечание. При статистической точности k = 10 %, уровне значимости α = 0,05 (t ≈ 2)

Считается, что одним из [1] наиболее массовым и соответственно вредоносным в настоящее время патогеном дуба черешчатого в порослевых дубравах Среднерусской лесостепи является мучнистая роса (сумчатая стадия *Microsphaera alphitoides*, конидиальная стадия *Oidium dubium*). Но так было не всегда. Патоген был случайно завезён в Западную Европу (сначала в Испанию и южную Францию, затем в Германию) из Северной Америки, но встречался редко [2]. Лишь с 1907 – 1908 гг. мучнистая роса получила чрезвычайно широкое распространение в дубравах всей Германии и прилегающих странах. Наиболее поражаемым мучнистой росой был дуб черешчатый, менее поражались дуб скальный и дуб пушистый (*Quercus pubescens*). Очень редко мицелий мучнистой росы обнаруживался на дубе красном (*Q. rubra*) и дубе болотном (*Q. palustris*). В 1909 году мучнистая роса на дубе черешчатом была впервые обнаружена в России. В настоящее время болезнь распространена в порослевых дубравах Среднерусской лесостепи повсеместно. Особенно вредоносна мучнистая для самосева дуба черешчатого.

Развитие мучнистой росы на листьях дуба в результате первичной (сумчатой) и последующих (конидиальных) инокуляций представлено в таблице 1.

Таким образом, инвазия в Европу северо-американского возбудителя болезни дуба *M. alphitoides* привела к исключительно негативному эффекту – массовому поражению дубовых насаждений. Этот факт свидетельствует о том, что несбалансированное увеличение видового разнообразия в лесных экосистемах может приводить к глубоким нарушениям в системах саморегуляции. Актуальная задача заключается в том, чтобы восстановить интеграционные процессы в дубравных экосистемах, как биотическую основу их оздоровления. Первый этап – исследование зависимости распространения мучнистой росы от площади

*Инбридинг в популяции *Heterobasidion annosum**

Феномен инбридинга в популяции патогена *H. annosum* изучался на объекте Учебно-Опытного лесхоза Воронежского лесотехнического университета в 1936 году (рис. 1).

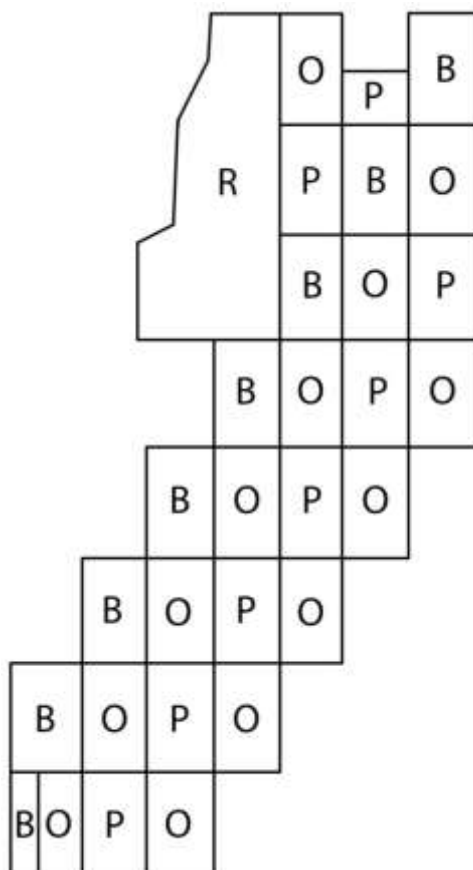


Рис. 1 – Схема сосново-дубово-берёзового насаждения, свободного от корневой губки в условиях эпифитотии *H. annosum*

Р – сосна, О – дуб, В - берёза

*Инбридинг в популяции *Porodaedalea pini**

Сравнительная динамика развития популяции *P. pini* в зависимости от встречаемости инфицированных патогеном деревьев в сосняке разновозрастном представлена на рисунке 2. Протиоположность тенденций динамики обилия базидиокарпов патогена и распространения болезни (ядровой гнили, вызванной *P. pini*, объясняется тем, что постепенная элиминация инфицированных патогеном деревьев ведёт к активизации инбридинга среди

оставшихся инфицированных деревьев асексуальный цикл размножения патогена.

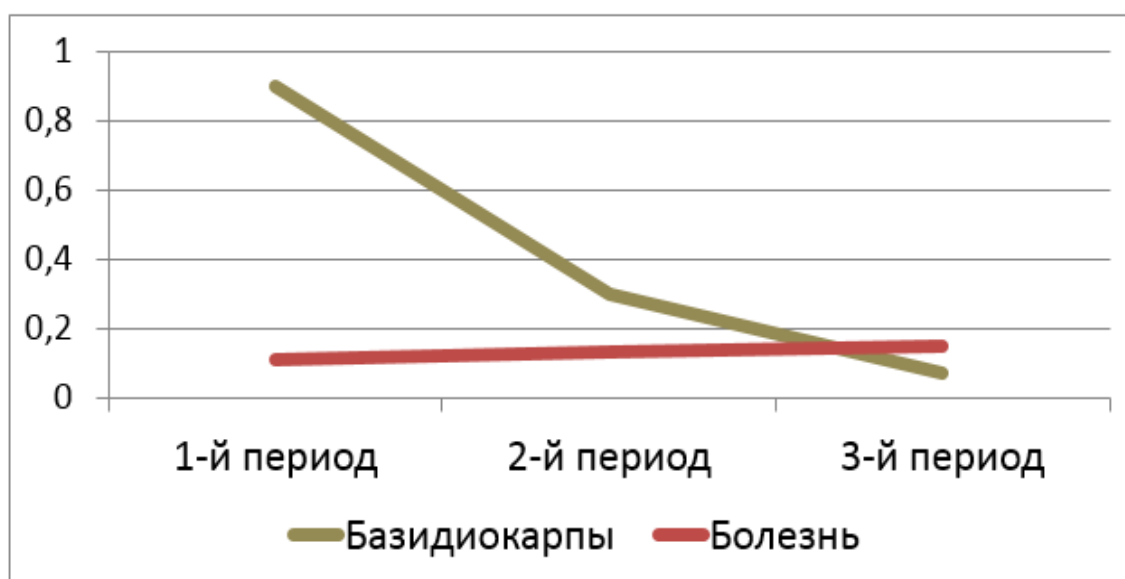


Рис. 2 – Сравнительная динамика обилия базидиокарпов и распространения ядровой гнили в сосняке разнотравном

Инбридинговая депрессия популяций

Роль различных факторов окружающей среды в ограничении грибных популяций была исследована и обсуждалась в отношении различных хозяйных растений [5, 6]. Авторы в целом единодушно отмечали, что изменения, вызванные экологическими факторами, вызывают как физиологические, так и генетические изменения в популяциях биологических видов [2, 4, 5, 7, 8].

Близкородственное размножение в условиях ограниченного пространства ведёт к повышению гомозиготности в популяции патогенных организмов вследствие повышения доли идентичности рецессивных или неблагоприятных аллелей в потомствах патогена. Вероятность идентичности двух неблагоприятных аллелей в потомствах возрастает, приспособленность субпопуляции при этом снижается. Уменьшение гетерогенности в ограниченной по численности группах особей ведёт к ослаблению популяции.

Количественно эффект инбридинговой депрессии может быть выражен посредством определённых коэффициентов. Американского генетика С.Г. Райт [9] предложил в качестве показателя интенсивности инбридинга на генетическом уровне использовать степени возрастания индивидуальной

гомозиготности – долю генов, по которым особь является гомозиготной. Генетическая структура популяций управляет их фенотипическими параметрами. В царстве настоящих грибов эта зависимость проявляется наиболее отчётливо, поскольку изменение генных частот при смене генераций у грибов происходит относительно быстро и адекватно фенотипу потомств.

Практически важно определять фенотипический коэффициент инбридинга. Его выражает снижение репродуктивной силы популяции патогена или по снижению степени развития болезни. Предлагается следующая формула для количественной оценки фенотипического коэффициента инбридинга при формировании насаждений древесных растений:

$$CI_{ph} = \frac{d_1 - d_2}{d_1},$$

где d_1 – развитие болезни в условиях открытых участков насаждений, d_2 – развитие болезни в условиях экологически изолированных участков насаждений.

Таким образом, инбридинг может быть эффективным фактором превентивной защиты насаждений древесных растений от патогенных организмов. Для массового проявления эффекта инбридингового эффекта рекомендуется формировать мозаичные дубово-сосновых или дубово-сосново-берёзовых насаждений.

Прикладной аспект исследований

Эффект инбридинговой депрессии может быть использован в качестве превентивной защиты леса от патогенных организмов.

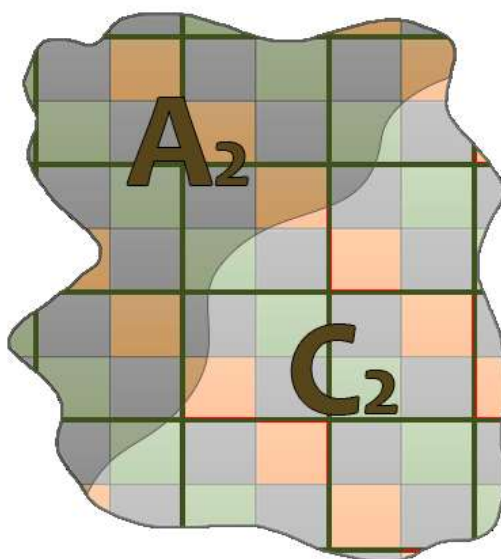


Рис. 3 – Мозаичное дубово-сосново-берёзовое насаждение, составленное из квадрогрупп

A_2 и C_2 – условия произрастания

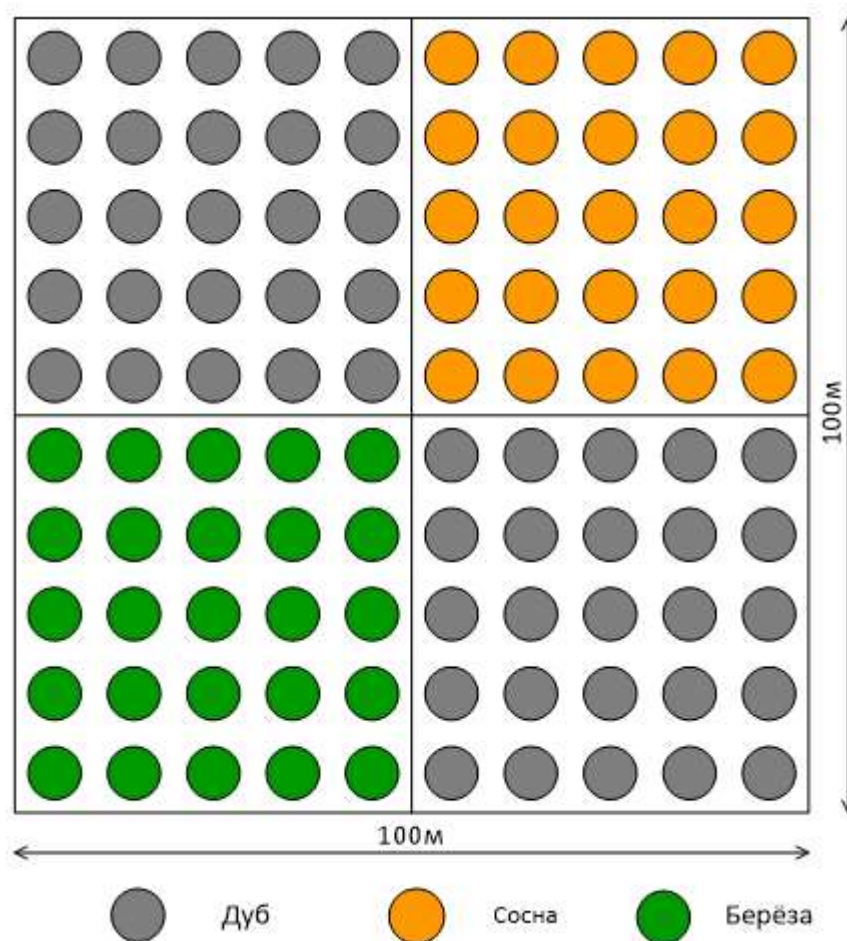


Рис. 4 – Квадрогруппа мозаичного насаждения

В естественных лесах мозаичность формируется на основе различных факторов – почвенных условий, патогенных грибов, дендрофильных насекомых, погодных факторов. В естественных девственных лесах количественные соотношения в биоценозах регулировались автоматически. В мозаичных искусственно созданных лесах формируются условия для автоматической регуляции биотических отношений, поскольку они наиболее близки естественным лесам. В них повышается уровень биоразнообразия, создаются условия для интенсивного инбридинга, а также для аллельного дрейфа, естественного отбора и межвидовой конкуренции. По существу, формируются леса, близкие естественным. В них реализуется принцип свободного выбора Природы.

В искусственно создаваемых насаждениях инбридинговый эффект может быть значительно усилен при формировании насаждений из полусибсовых

био групп [Арефьев], повышающих генетическое разнообразие насаждений [Арефьев].

Заключение

Инбридинг, являясь следствием близкородственного скрещивания биологических видов, ослабляет популяции патогенных организмов. Инбридинговая депрессия может быть использована в качестве регулятора патогенеза в лесных экосистемах. Формирование мозаичных насаждений связано с некоторым усложнением технологии лесокультурных работ, но является эффективным, экологически совершенным способом превентивной лесозащиты.

Список литературы

1. Арефьев, Ю. Ф. Биотическая интеграция в лесных экосистемах Среднерусской лесостепи: проблемы, решения, перспективы / Ю. Ф. Арефьев, В. В. Реуцкая / Воронеж. гос. тех. университет, Воронеж, 2008. – 119 с.
2. Арефьев, Ю. Ф. Патогенез естественной регенерации дубовых лесов и его экологическая регуляция [Текст] / Ю. Ф. Арефьев, Г. А. Бондарева // Лесное хозяйство. № 2, 2009. – С. 45 – 47.
3. Арефьев, Ю. Ф. Инбридинг как фактор регуляции патогенеза в лесных экосистемах / Ю. Ф. Арефьев // Materials of the International research and practice conference “Science and Education 2014”. Volume 13. Belgorod – Sheffield, 2014. – P. 24 – 26.
4. Ли, Ч. Введение в популяционную генетику. М., 1978. – 1978.
5. Arefjew, Ju.F. Genetisch-ökologische Aspekte des Forstschatzes [Text] / Ju.F. Arefjew // Der Wad. – 1995. – № 7. – S. 238 – 239.
6. Arefjew, Ju.F. Symptome der Klimaänderung – ein Beispiel aus Russland [Text] / Ju.F. Arefjew // AFZ Der Wald. – 1999. – № 11. – S. 558 – 560.
7. Giertych, M. & Matyas, C. Genetics of Scots Pine. Developments in plant genetics and breeding. Amsterdam, The Netherlands. – 1991. – 280 pp.
8. Kölling, Ch. Waldumbau unter den Vorzeichen des Klimawandels [Text] / Ch. Kölling, Ch. Ammer // AFZ Der Wald. – 2006. – № 20. – S. 1086 – 1089.
9. Hardy, G. H. Mendelian proportions in a mixed population / G. H. Hardy // Science, 28, 1908. – P. 49 – 50.