

УДК 575.17:582.632.2

О. А. Ковалевич, аспирант (ГНУ «Институт леса НАН Беларуси»);  
Д. И. Каган, научный сотрудник (ГНУ «Институт леса НАН Беларуси»)

### ГЕНОГЕОГРАФИЯ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО НА ОСНОВЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО АНАЛИЗА ХЛОРОПЛАСТНОЙ ДНК

Объектом исследования является дуб черешчатый (*Quercus robur L.*). В ходе работы проведен молекулярно-генетический анализ дубрав центральной и юго-восточной части Беларуси. Популяции дуба черешчатого представлены тремя вариантами гаплотипов.

The pedunculate oak (*Quercus robur L.*) has been the subject of the current research. During the research work molecular genetic analysis of oak stands from centers and southeast part of Belarus was carried out. Investigated populations of pedunculate oak was represented by three variants of haplotype.

**Введение.** Особое место среди древесных пород занимает дуб. Он ценен не только своей древесиной, имеющей очень широкое применение в народном хозяйстве, но и другими частями дерева: корой, содержащей дубильные вещества, листьями и желудями, идущими на корм дубовому шелкопряду и животным.

Дубовые насаждения имеют большое природоохранное значение. Дуб занимает первое место в полезном лесоразведении; в связи с высокой кислородной продуктивностью он превосходит другие породы по влиянию на оздоровление окружающей среды. Старые деревья дуба отличаются высокими эстетическими качествами.

Замечательные свойства дуба, его значение в жизни человека издавна привлекали к нему большое внимание [1].

Сегодня остро стоит вопрос восстановления дубовых насаждений, сохранения их биологического и генетического разнообразия. Дуб является одной из древесных пород, требующих к себе особого отношения со стороны лесоводов. К сожалению, внимание к посадкам дуба ослабевает после передачи их в покрытую лесом площадь. Основными трудностями в выращивании дубрав являются биологические особенности вида. Негативное влияние на устойчивость дубовых насаждений оказывают неблагоприятные климатические факторы. Усыхание дубрав в последние десятилетия первоначально было обусловлено экстремальными метеорологическими условиями. Массовое усыхание деревьев вызывает гибель целых насаждений дуба черешчатого. Это может негативно отразиться на генетической структуре популяций, привести к потере адаптивной способности [2].

На лесовосстановлении дубрав отрицательно сказывается нехватка семенного материала вследствие периодичности плодоношения плакорных насаждений дуба. Это вынуждает использовать желуди из пойменных типов леса для создания лесных культур в суходольных условиях. Несоответствие условий произраста-

ния высаживаемого потомства и материнских насаждений может привести к снижению продуктивности, качества стволов и устойчивости будущих лесов [3].

Важнейшей задачей является сохранение и воспроизводство древостоев дуба черешчатого.

Современный научный и производственный опыт убедительно свидетельствует, что успешное решение данных проблем невозможно без всестороннего исследования лесоводственно-экологических и генетических аспектов.

**Основная часть.** Для исследования были выбраны естественные насаждения дуба черешчатого, произрастающие преимущественно в центральной и юго-восточной части Беларуси. Всего отобрано и проанализировано 35 насаждений дуба черешчатого (Гомельского (Буда-Кошелевский лесхоз, Василевичский лесхоз, Ветковский спецлесхоз, Гомельский лесхоз, Ельский лесхоз, Житковичский лесхоз, Жлобинский лесхоз, Калинковичский лесхоз, Комаринский лесхоз, Лельчицкий лесхоз, Наровлянский лесхоз, Петриковский лесхоз, Милошевский лесхоз, Речицкий лесхоз, Рогачевский лесхоз, Светлогорский лесхоз, Чечерский спецлесхоз), Могилевского (Осиповичский лесхоз, Костюковичский лесхоз, Могилевский лесхоз, Бельничский лесхоз, Быховский лесхоз), Минского (Столбцовский лесхоз, Борисовский лесхоз, Сторобинский лесхоз, Логойский лесхоз, Молодечненский лесхоз), Витебского (Глубокский лесхоз, Дисненский лесхоз) и Брестского (Лунинецкий лесхоз) ГПЛХО).

В качестве экспериментального материала были использованы почки, листья, древесина. Сбор экспериментального материала производился с деревьев, отстоящих друг от друга на расстоянии не менее 50 м.

В настоящее время при молекулярно-генетических исследованиях дуба черешчатого особую популярность приобрели методы, основанные на изучении локусов хлДНК. Это обусловлено такими особенностями хлоропластного генома дуба, как: 1) наследование осуществляется только по материнской линии, что зна-

чительно сокращает величину генного потока для данного типа маркеров и придает полиморфизму хлДНК большую структурированность по сравнению с ядерным полиморфизмом; 2) хлоропластная ДНК характеризуется отсутствием рекомбинации генов и, следовательно, низкой скоростью изменений, возникающих в процессе эволюции [4]. Вышеперечисленные свойства локусов хлоропластной ДНК дуба сделали их удобным инструментом для проведения исследований в области географии *sp. Quercus*.

Для изучения разнообразия дубрав Беларуси по их происхождению использовался микросателлитный анализ (SSRP) хлоропластной ДНК. Сочетание аллелей исследованных локусов хлДНК было представлено в виде различных вариантов гаплотипов [5].

Препараты суммарной ДНК были получены при помощи СТАВ-метода [6].

В ходе исследования были изучены микросателлитные локусы, характеризующиеся мононуклеотидными повторами. Структуры

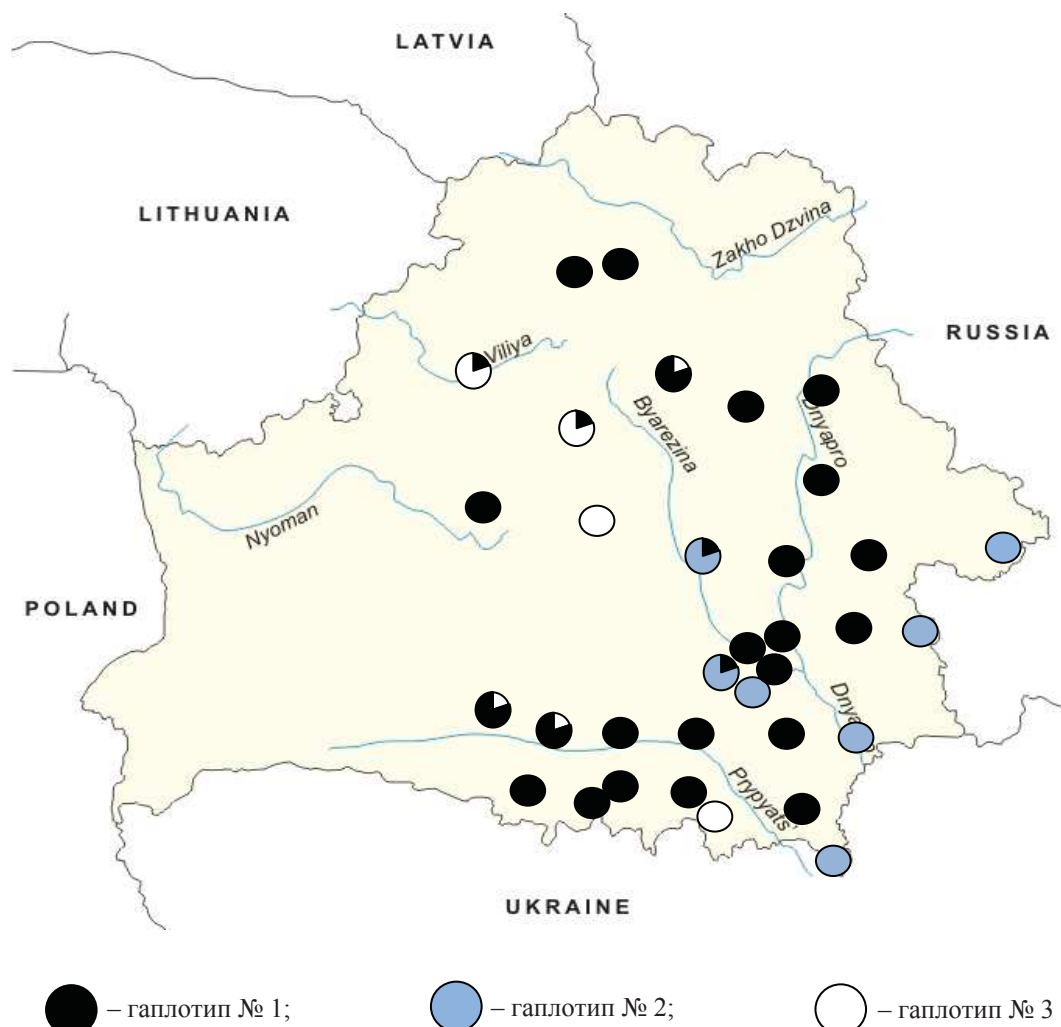
праймеров, фланкирующих микросателлитные повторы хлДНК приведены в работе [7].

Аmplификацию ДНК проводили, основываясь на методе полимеразной цепной реакции [8, 9], согласно методике, описанной в работе [6].

Электрофоретическое фракционирование продуктов амплификации проводили с использованием генетического анализатора ABI PRISM 310 (Applied Biosystems) согласно инструкции фирмы-производителя.

В ходе исследования было проведено генотипирование природных насаждений дуба черешчатого на основании использования микросателлитных локусов хлоропластной ДНК. В 35 проанализированных насаждениях дуба было выявлено три гаплотипа. Для каждого составлен генетический портрет.

Анализ географии дуба черешчатого показал, что распределение гаплотипов дуба по территории Беларуси носит неслучайный характер. Большинство проанализированных насаждений относятся к одному гаплотипу, обозначенному на рисунке черным цветом.



Гаплотипы дуба черешчатого Беларуси, установленные на основании использования микросателлитного анализа хлоропластной ДНК

Насаждения данного гаплотипа занимают в основном Гомельскую, Могилевскую и Витебскую области. Второй гаплотип, обозначенный на рисунке серым цветом, сконцентрирован преимущественно в северо-западной и центральной частях страны. В ряде случаев обнаружены насаждения, где одновременно произрастают деревья обеих материнских линий. Можно предположить, что на территории Беларуси произошло соприкосновение двух путей расселения дуба черешчатого.

Третий гаплотип, обозначенный на рисунке белым цветом, имеет ярко выраженную приуроченность к юго-востоку и объединяет все насаждения, расположенные в бассейне р. Сож. Вероятнее всего, их возникновение можно объяснить заносом желудей с территории России по течению реки, что согласуется с гипотезой распространения дуба вдоль пойм рек. Также к данному гаплотипу относятся насаждения, произрастающие в пойме Березины.

Полученные результаты представляют собой не только научный интерес, так как позволяют восстановить и проследить историю расселения вида в постледниковый период, но и большое практическое значение. В соответствии с программой «Сохранение генетических ресурсов и развитие селекционного семеноводства Беларуси на период до 2015 года» на территории РБ выделено 2 лесосеменных района: Белорусский (Витебская, Гродненская, Минская, Могилевская области и Барановичский район Брестской области) и Полесский (Гомельская и Брестская области за исключением Барановичского района), каждый из которых в свою очередь состоит из двух подрайонов. Лесосеменной район должен представлять собой территорию со сравнительно однородными условиями и генотипическим составом популяций. Однако проведенный анализ показал, что насаждения, произрастающие в исследованной части ареала и входящие в состав одного района, относятся к различным гаплотипам. Так, например, на территории Восточного подрайона Полесского лесосеменного района произрастают насаждения гаплотипа № 1 (большинство популяций), гаплотипа № 2 (Комаринский, Гомельский, Ветковский и Василевичский лесхозы) и гаплотипа № 3 (Наровлянский и Житковичский лесхозы). Аналогичная картина – наличие всех трех гаплотипов – наблюдается и в Белорусском лесосеменном районе. Все это дает основание на разделение существующих на сегодняшний день лесосеменных районов и подрайонов на соответствующие определенным гаплотипам территории.

**Заключение.** На основании SSRP-анализа хлоропластной ДНК установлено, что природ-

ные насаждения дуба черешчатого в Беларуси относятся к трем гаплотипам и характеризуются различным генетическим происхождением. Полученные данные свидетельствуют о необходимости использования посадочного материала местного происхождения при проведении лесовосстановительных мероприятий. Создание лесосеменных плантаций необходимо осуществлять под конкретные условия местопроизрастаний и соответствующим материалом с учетом специфики внутри- и межпопуляционной дифференциации. В случае использования инорайонного семенного материала необходимо проведение его обязательной генетической оценки, учитывающей происхождение родительской популяции и запас генетической изменчивости.

### Литература

1. Лосицкий, К. Б. Дуб. / К. Б. Лосицкий. – М.: Лесная пром-сть, 1981. – 101 с. – (Б-ка «Древесные породы»)
2. Зорин, В. П. Воспроизводство и повышение продуктивности дубрав / В. П. Зорин // Дуб – порода третьего тысячелетия: сб. науч. тр. / Институт леса НАН Беларуси; редкол.: В. Ф. Багинский [и др.]. – Гомель, 1998 – С. 5–9
3. Шутяев, А. М. Биоразнообразие дуба черешчатого и его использование в селекции и лесоразведении / А. М. Шутяев. – Воронеж, 2000. – 336 с.
4. Which DNA Marker for Which Purpose. Final Compendium of the Research Project Development, optimization and validation of molecular tools for assessment of biodiversity in forest trees in the European Union / URL; E.M. Gillet (lead.); DGXII Biotechnology FW IV Research Programme Molecular Tools for Biodiversity. – Frankfurt, 1999. – 253 p.
5. Chloroplast DNA variation in European white oaks. Phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations / R. J. Petit [et al.] // Forest Ecology and Management. – 2002. – Vol. 156. – P. 5–26.
6. Падутов, В. Е. Методы молекулярно-генетического анализа / В. Е. Падутов, О. Ю. Баранов, Е. В. Воропаев. – Минск: Юнипол, 2007. – 176 с.
7. A set of primers for the amplification of chloroplast mikrosatellites in *Quercus* / M. F. Deguilloux [et al.] // Mol. Ecol. Notes. – 2003. – V. 3. – P. 24–27.
8. Использование ПЦР-анализа в генетико-селекционных исследованиях: научно-методическое руководство / под ред. Ю. М. Сиволапа. – Київ: Аграрна наука, 1998. – 156 с.
9. Newton, C. R. PCR (Introduction to Biotechniques Series) / C. R. Newton, A. Graham. – New York: Springer Verlag, 1997. – 235 p.

Поступила 14.04.2010