

**АНАЛИЗ ВАРИАЦИИ ЧИСЛА КОПИЙ РДНК У ДЕРЕВЬЕВ  
*BETULA PENDULA* VAR. *PENDULA* И *CARELICA***

Карельская береза (*Betula pendula* Roth. var. *carelica* Mercl.) – ценный представитель рода *Betula*. Деревья данной породы обладают фенотипической особенностью – узорчатым рисунком древесины, что позволяет использовать ее в качестве сырья для отделки мебели и внутренних помещений зданий, производства изделий различных форм и сувениров [1]. Создание плантационных культур карельской березы путем использования посадочного материала семенного происхождения является низкоэффективным, что связано со сложным механизмом наследования данного признака в потомстве, выражающимся в получении широкого спектра фенотипов, имеющих не только узорчатую и безузорчатую текстуру древесины, но также различающихся и по интенсивности проявления рисунка, его структуры, типу габитуса деревьев, и пр. [1]. В то же время, размножение деревьев карельской березы путем клонирования в условиях *in vitro*, сужает спектр используемого генетического полиморфизма *B. pendula* var. *carelica*, и значительно ограничивает возможности для проведения селекционных мероприятий, направленных на получение новых форм и фенотипов. Исходя из вышесказанного, установление наследственных механизмов формирования особенностей текстуры древесины, и создание методических подходов к ранней диагностике узорчатых фенотипов карельской березы, является актуальным, имеет важную фундаментальную и практическую значимость [2].

Одним из методологических подходов к решению данного вопроса является использования ДНК-маркеров, и в частности метода анализа изменчивости числа копий (CNV) генов, оказывающее влияние на проявление различных фенотипических признаков. Наиболее удобным объектом исследования CNV у эукариотических организмов являются рибосомные гены, что связано с их мультикопийностью, и как следствие высоким уровнем вариабельности данного признака. Кроме того, выявленный нами ранее высокий уровень консерватизма среди копий генов рДНК берез, обуславливает однородность протекания процессов амплификации и, как следствие, обеспечивает высокую воспроизводимость результатов количественной оценки [3]. Еще од-

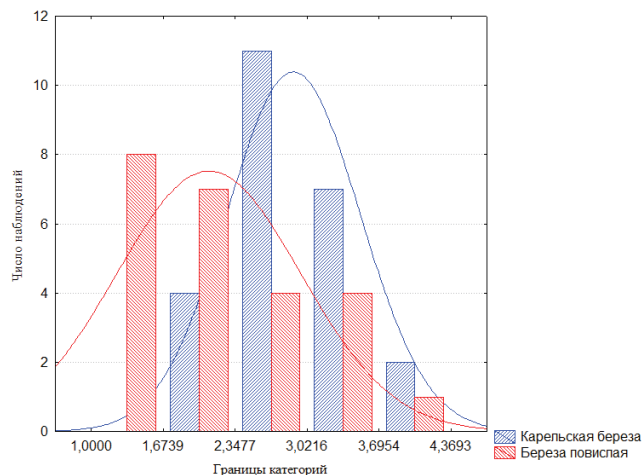
ним аспектом, связанным с рДНК, является формирование на ее основе экстрахромосомных элементов, количественное содержание которых, также может быть использовано в качестве молекулярного маркера.

Целью данной работы является проведение сравнительной оценки уровня копийности рДНК в геноме деревьев карельской березы и березы повислой.

Для получения препаратов суммарной ДНК нами был собран экспериментальный материал (листья) карельской березы (24 дерева) и березы повислой (24 дерева). Насаждения (Коллекционные культуры карельской березы Корневской экспериментальной лесной базы Института леса НАН Беларуси и смешанный сосново-березовый древостой, соответственно) в которых собирался материал являлись смежными, характеризовались сходной возрастной структурой и одинаковыми почвенно-гидрологическими условиями. Количественный молекулярно-генетический анализ выполняли согласно стандартным методикам [4]. В качестве диагностического маркера использовали locus рДНК, содержащий 3' участок гена 18S рРНК - ВТС1 - ген 5.8S рРНК - ВТС2 - 3' участок гена 28S рРНК, амплифицируемый с помощью универсальных праймеров ITS1/ITS4 [4]. Нормализацию результатов количественных данных проводили по отношению гена актина, с использованием праймеров АСТФ/АСТР [4].

На основании полученных результатов было установлено, что значение нормализованного показателя  $\Delta C_{t_{рДНК}}$  карельской березы изменялось от 1,74 до 4,21 при средней  $2,88 \pm 0,38$ . В то же время для березы повислой диапазон значений находился в пределах 1,00 – 4,40, а средняя величина не превысила  $2,10 \pm 0,73$ . Изучение характера распределения значений нормализованного показателя  $\Delta C_{t_{рДНК}}$  показало, что оно в обоих случаях имеет ассиметричный характер (рисунок 1). Исходя из критерия Шапиро-Уилка, полученные значения соответствия полученных данных нормальному распределению для карельской березы составили  $p=0,94$ , и  $p=0,13$  для березы повислой (пороговое значение принято  $p=0,05$ ). Кроме того, на основании проведенного однофакторного дисперсионного анализа показано, что выявляемые различия значений нормализованного показателя  $\Delta C_{t_{рДНК}}$  между выборками являются статистически значимыми ( $P=0,001$ ).

Полученные нами результаты указывают, что в целом, карельская береза характеризуется более высокими показателями копийности локусов рДНК по сравнению с березой повислой.



**Рисунок 1 – Распределение значений нормализованного показателя  $\Delta C_{p\text{днк}}$  среди образцов карельской березы и березы повислой**

В то же время, наличие выраженной индивидуальной изменчивости среди деревьев не позволяет использовать напрямую данный показатель для проведения ранней диагностики признака узорчатости. Кроме того, остается не выясненной природа (структурная или функциональная) данных различий, что требует дополнительных исследований структурных и функциональных особенностей рДНК берез.

*Исследование выполнено при поддержке гранта БРФФИ Б20М-060.*

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ветчинникова Л.В. Карельская береза: биологические особенности, динамика ресурсов и воспроизводство // Л.В. Ветчинникова, А.Ф. Титов, Т.Ю. Кузнецова. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2013. 312 с.
2. Новицкая Л.Л. Карельская береза: механизмы роста и развития структурных аномалий// Л.Л. Новицкая. Петрозаводск, 2008. 144 с.
3. Кирьянов, П.С. Структурная организация генов 18S и 28S рибосомной РНК карельской березы / П.С. Кирьянов, О.Ю. Баранов // Молекулярная и прикладная генетика: сб.науч.тр./ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси; редкол.: А.В. Кильчевский (гл. ред.) [и др.]. Минск: Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, 2020. Т.28. С. 36–46.
4. Падутов, В.Е. Методы молекулярно-генетического анализа / В.Е. Падутов, О.Ю. Баранов, Е.В. Воропаев. Мн.: Юнипол, 2007. 176 с.