

УДК 575.13:575.17:630*165

Д. И. КАГАН, А. И. СИДОР, Т. С. МАРКЕВИЧ

**ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ *PICEA ABIES* (L.) KARST. В БЕЛАРУСИ
(ПО ДАННЫМ ПОЛИМОРФИЗМА МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК)**

(Представлено академиком В. И. Парфеновым)

Институт леса НАН Беларуси, Гомель

Поступило 02.07.2014

Введение. Естественное становление и развитие ареала ели европейской (*Picea abies* (L.) Karst.) связано с геологической и палеогеографической историей вида. В настоящее время на формирование популяционной структуры данного вида, помимо природно-экологических, оказывают влияние и антропогенные факторы, которые не только вызывают изменение границ произрастания *P. abies*, но и определяют современную и будущую популяционную динамику [1]. При этом одним из недостаточно исследованных процессов на территории Беларуси, связанных с изменением растительного покрова, является миграционный. Установление особенностей распространения *P. abies* позволит более обоснованно и эффективно подойти к проблеме воспроизводства, рационального использования и лесовосстановления еловых насаждений.

Результаты исследований по изучению филогении рода *Picea* с использованием нуклеотидных последовательностей хлоропластного, митохондриального и ядерного геномов показали, что в древности *P. abies* на территории Европы была представлена сплошным ареалом, разделившись в доледниковый период, вследствие увеличения сезонной амплитуды температур и засушливости климата, на южную и бореальную области произрастания [2]. В дальнейшем распространение *P. abies* на территорию Беларуси происходило со стороны двух центров: Северо-Балтийского (тупочешуйчатые формы) и Карпатского (острочешуйчатые формы) [3]. В настоящее время это находит свое отражение на уровне формового разнообразия фитоценозов: в направлении с севера на юг долевое участие тупочешуйчатых форм в еловой формации Беларуси уменьшается, а острочешуйчатых увеличивается. Наиболее часто такие «исторические» особенности насаждений и их изменения во времени можно определить при наличии семеносящих особей вида (по генеративным органам). Однако *P. abies*, «несущая информацию» из различных исторических регионов, может иметь отличия и на молекулярно-генетическом уровне [4; 5]. Изучение процессов формирования генетической структуры вида в настоящее время проводится не только на основе морфологических признаков, но и при использовании ДНК-маркеров. У голосеменных наиболее удобными для данных целей являются локусы, локализованные в митохондриальной ДНК, что обусловлено их относительным постоянством (вследствие низкого уровня рекомбинации) и путем передачи наследственной информации только по материнской линии [6].

Цель работы – анализ гаплотипов митохондриальной ДНК *P. abies* для установления географической локализации зоны миграционных потоков данного вида на территории Беларуси.

Материалы и методы исследований. Сбор экспериментального материала проведен в 37 еловых насаждениях естественного происхождения в пределах всех областей Беларуси.

Выделение ДНК выполнено модифицированным СТАВ-методом из хвои и/или почек от 10–15 деревьев из каждого насаждения [7]. Генетический анализ осуществлен по митохондриальному локусу *mt15-D02* (номер в GenBank AY897577) с использованием праймеров со следующими нуклеотидными последовательностями F: 5'-TATCTGACTTGCCTTATC-3' и R: 5'-ATCCGAATACATACACC-3'. Выбор локуса *mt15-D02* объясняется тем, что обнаруженный для него полиморфизм позволяет отразить особенности расселения *P. abies*, начиная с постледникового периода [4; 5; 8].

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) проведена в соответствии со следующими условиями: длительная денатурация – 10 мин, 94 °С; 40 циклов – денатурация 1 мин, 94 °С, отжиг 1 мин, 54 °С, элонгация 2 мин, 72 °С; длительная элонгация – 10 мин, 72 °С.

Электрофоретическое фракционирование продуктов амплификации выполнено в электрофоретических камерах с использованием 2 %-ных агарозных гелей с последующим окрашиванием в растворе этидия бромида [7].

Результаты и их обсуждение. В работах зарубежных исследователей показано, что выявляемая по локусу *mt15-D02* амплифицируемая зона размером 1249 п. н. (п. н. – пар нуклеотидов) соответствует карпатскому митотипу, 1117 п. н. – альпийскому, 753 п. н. – бореальному [5]. Распространение карпатского и альпийского митотипов отражает южные постледниковые миграционные потоки *P. abies*, происходящие соответственно из Карпатского и Альпийского рефугиумов, бореального – северный миграционный поток с территории Русской равнины (Северо-Центральная часть России).

Для всей совокупности проанализированных нами деревьев *P. abies*, произрастающих на территории Беларуси, были обнаружены два размерных варианта (аллеля) амплифицируемых ПЦР-продуктов: 1249 п. н. и 753 п. н. (номер в GenBank HM047107). Выявленный полиморфизм митохондриальной ДНК *P. abies* свидетельствует о том, что в исследуемых ельниках произрастают особи вида различного исторического происхождения, в частности, карпатского и бореального.

Установлено, что на большей части Беларуси в насаждениях *P. abies* встречается бореальный митотип (таблица). Его удельная доля в составе практически всех ельников пяти областей (Витебская, Могилевская, Минская, Гомельская и Гродненская) составила 100 %, и лишь в одном на территории Гродненской области (Волковысский лесхоз) была равна 80 %. В свою очередь, карпатский митотип обнаружен только в насаждениях Брестской области и в одном Гродненской области. Его частота встречаемости снижается в северо-восточном направлении от 100 % (островные насаждения юго-запада Беларуси) до 20 % (популяции южной границы бореальной области сплошного распространения *P. abies*).

Если проследить распространение митотипов в зависимости от ареалогических зон произрастания *P. abies* в пределах страны [9], то видно, что для основной (центральной) и средней зон характерно распространение бореального митотипа. В периферийной (граница сплошного произрастания *P. abies*) и краевой (область островного произрастания *P. abies*) – встречаются оба митотипа. При этом в восточной части этих зон (Гомельская область) обнаружен только бореальный митотип, а в западной (Брестская область) – преимущественно карпатский. Установленная нами географическая локализация карпатского и бореального митотипов *P. abies* на территории Беларуси свидетельствует о том, что контакт двух постледниковых миграционных потоков вида произошел в юго-западной части страны (рисунок).

Впервые с использованием ДНК-маркеров (локус *mt15-D02*) нами получены результаты о месте перекрытия миграционных потоков *P. abies* на территории Беларуси, дополнившие опубликованные ранее сведения о существовании такой зоны в западной части Украины и примыкающей к ней территории Польши [8]. Наши данные подтверждают результаты спорово-пыльцевого анализа, свидетельствующие о том, что в среднем голоцене на территории Полесской низменности (Беларусь и Украина) и Мазовецко-Подлясской низменности (Польша) произошло перекрытие карпатского и бореального миграционных потоков *P. abies* [10; 11]. В то же время полученные нами данные опровергают точку зрения некоторых ученых, основанную на результатах палинологических исследований, об отсутствии миграции *P. abies* из Карпат в Беларусь [12].

Установленное нами географическое распределение митотипов *P. abies* в Беларуси позволило уточнить и обобщить имеющиеся в литературе сведения о миграции вида, полученные на основании эколого-фитоценологических и палеогеографических исследований. Так, ранее показано, что распространение бореального происхождения *P. abies* происходило в среднем голоцене в направлении восток → Центральная Европа → юго-запад Европы [10], охватывающем, по нашим данным, практически всю территорию изученного в данном исследовании региона.

Реконструкция исторических возможных путей распространения *P. abies* карпатского происхождения на территорию Беларуси [9; 11] показала, что наиболее вероятным является юго-запад-

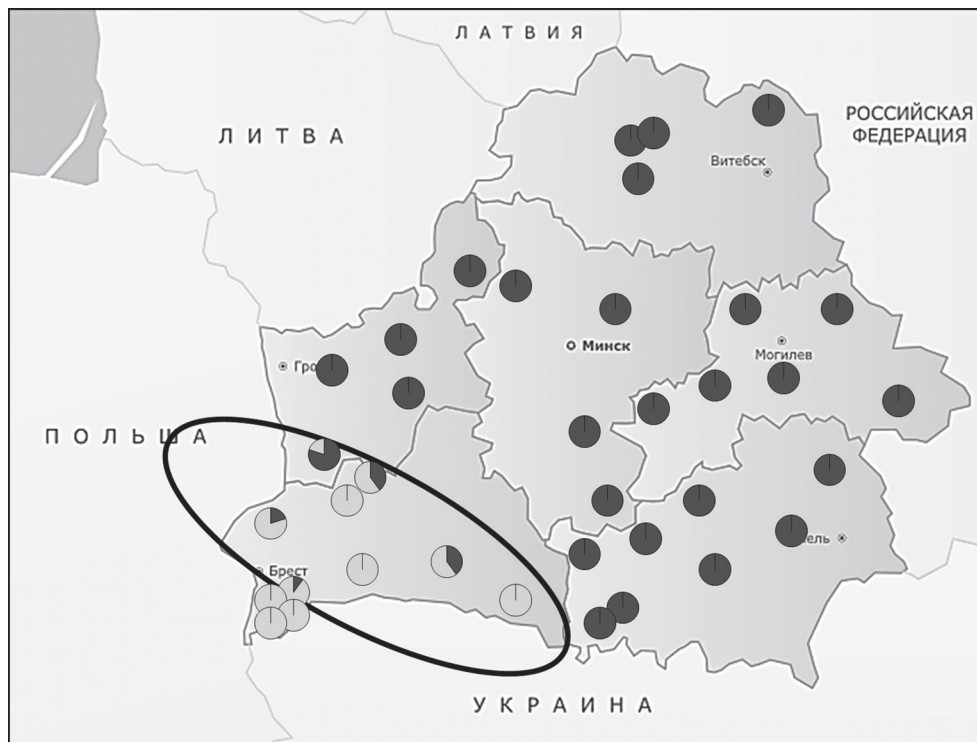
Частота встречаемости митотипов *Picea abies* (L.) Karst. (локус *mt15-D02*)

Лесхоз, лесничество	Возраст, лет	Состав насаждения	Частота встречаемости митотипов <i>mt15-D02</i> , %	
			1249 г. н. э.	753 г. н. э.
<i>Брестская область</i>				
Брестский, Меднянское	110	4Е3С2Олч1Д	100	0
Брестский, Каменецкое	80	6Е4С	80	20
Малоритский, Малоритское	75	7Е2Ос1Олч	100	0
Малоритский, Пожежинское	90	6Е3Ос1Б	90	10
Малоритский, Великоритское	115	9С1Е+Б	100	0
Пружанский, Ружанское	100	9Е1С+Б,Д,Е	60	40
Пружанский, Березковское	–	–	100	0
Дрогичинский, Антопольское	75	8Е1Б1Олч+Д	100	0
Пинский, Бродницкое	75	6Е2С1Б1Ос	60	40
Столинский, Столинское	30	8Е2Б+Д,С	100	0
<i>Гродненская область</i>				
Щучинский, Дембровское	90	8Е2Ос	0	100
Волковысский, Волковыское	95	9Е1С+Б,Д,Е	20	80
Лидский, Лидское	90	5Е4С1Ос	0	100
Дятловский, Гезгаловское	80	8Е2С	0	100
Сморгонский, Сморгонское	75	8Е1Ос1Б	0	100
<i>Минская область</i>				
Молодечненский, Молодечненское	70	8Е1С1Б	0	100
Любанский, Сосновское	80	7Е1С1Ос1Б	0	100
Слуцкий, Жилин-Бродское	60	7Е1С2Б+Ос	0	100
Логойский, Каменское	90	8Е2С	0	100
<i>Гомельская область</i>				
НП «Припятский», Симоничское	80	6Е3С1Б	0	100
Лельчицкий, Замошское	65	7Е1Б2Ос	0	100
Житковичский, Милевичское	70	5Е2С2Ос1Б	0	100
Петриковский, Лучицкое	65	5Е5С	0	100
Октябрьский, Шкавское	–	–	0	100
Калинковичский, Клинское	85	6Е1С2Олч1Б	0	100
Речицкий, Бело-Болотское	95	6Е2С2Д+Ос	0	100
Чечерский, Чечерское	60	8Е2С	0	100
<i>Могилевская область</i>				
Жорновская ЭЛБ ИЛ НАН Беларуси	70	5Е3Б2Ос+Г,Д	0	100
Кличевский, Кличевское	60	6Е2С2Б+Ос,Д	0	100
Бельничский, Кругловичское	65	7Е1С1Б1Ос+Д	0	100
Быховский, Ворониновское	100	6Е4С+Б,Ос	0	100
Горецкий, Темнолесское	55	8Е2Д+С,Ос	0	100
Костюковичский, Костюковичское	–	–	0	100
<i>Витебская область</i>				
Полоцкий, Полоцкое	70	4Е3С3Б+Ос	0	100
Полоцкий, Туровлянское	75	9Е1Олч+С,Б	0	100
Ушачский, Плинское	55	9Е1Б+Е,Ос,С	0	100
Городокский, Езерищенское	60	7Е1Б2Ос+Олч	0	100

ный миграционный путь, который имел направление из Восточных Карпат через Волыно-Подольскую возвышенность в Полесье. По В. Зерницкой [11], юго-западное ответвление пути (в сторону Беловежской пуши) также осуществлялось и через Люблинскую возвышенность.

Распространение многих горных карпатских видов в восточном направлении также происходило еще и по западному миграционному пути, исходящему из альпийско-судето-западнокарпатского центра двумя потоками через Северо-Германскую и Польскую низменности [9]. Подобное проникновение *P. abies* на территорию Беларуси является маловероятным, несмотря на ее произрастание по всей судетско-карпатской дуге. Во-первых, в проанализированных нами ель-

никах не был выявлен альпийский митотип, который обнаружен в насаждениях *P. abies* на близлежащих к западу от Беларуси территориях, что, по мнению некоторых авторов, связано не с естественной миграцией, а с искусственным лесовосстановлением [5]. Во-вторых, результаты палинологических исследований *P. abies* на территории Польши показали, что после последнего оледенения популяции *P. abies*, происходящие из Карпатского рефугиума, сначала мигрировали на север в сторону Волыни и южного Полесья, а затем в юго-западном направлении на территорию Мазовецко-Подлясской низменности (Польша) [10]. След такой миграции *P. abies* из Карпат на север сохранился до настоящего времени в Полесье в виде произрастающих здесь остроносчатых форм *P. abies*, характерных для природных популяций Восточных Карпат [13].



Распространение митотипов *Picea abies* (L.) Karst. в Беларуси (локус *mt15-D02*); митотип: черный цвет – бореальный; серый цвет – карпатский

Что касается современного распространения карпатского митотипа *P. abies* в Беларуси, то оно осуществляется, по нашему мнению, согласно выявленным В. И. Парфеновым северо-восточному и юго-западному регрессивным миграционным путям [9]. Возможность современной миграции генетического материала *P. abies* из Польши и его включения в состав еловой формации юго-западной части Беларуси представляется нам маловероятной, вследствие уже изложенных выше результатов об отсутствии альпийского митотипа в составе проанализированных нами еловых насаждений, в том числе и подростка.

Следует отметить, что установленное нами распределение бореального и карпатского митотипов дополняет общую картину о происхождении *P. abies* в Европе. Так, в странах, расположенных на севере и северо-востоке от Беларуси (Латвия, Норвегия, Швеция, Финляндия, Эстония, северо-запад России), обнаружен только бореальный митотип [8; 14]. На территории Польши встречаются все три митотипа – бореальный, карпатский и альпийский [5], а в странах Юго-Восточной и Центральной Европы (Австрия, Германия, Румыния, Украина) выявлены карпатский и альпийский митотипы [4; 8].

Заключение. Генетический анализ митохондриальной ДНК (локус *mt15-D02*) *P. abies* показал, что в составе еловой формации Беларуси встречаются бореальный и карпатский митотипы. Первый из них обнаружен практически на всей территории страны, и его удельная доля в составе ельников центральной и средней зон ареала *P. abies* составляет 100 %. Второй концентрируется в юго-западной части Беларуси. При этом его частота встречаемости снижается в северо-вос-

точном направлении от 100 % (островные ельники краевой зоны) до 20 % (популяции периферийной зоны).

Показано, что распространение карпатского происхождения *P. abies* на территорию Беларуси осуществлялось по юго-западному миграционному пути, а проникновение по западному миграционному пути являлось маловероятным. Установлено, что юго-запад Беларуси является частью гибридной зоны, которая была сформирована в результате перекрытия путей миграции *P. abies* южного и северного происхождения. Полученные нами результаты с использованием ДНК-маркеров согласуются с ранее проведенными эколого-фитоценоотическими исследованиями, основанными на изучении остро- и тупочешуйчатых форм *P. abies*.

Работа выполнена в рамках проекта № Б14М-127 Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований и задания 06 Государственной программы «Создание Национального банка генетических ресурсов растений для выведения новых сортов и гибридов сельскохозяйственных культур, сохранения и обогащения культурной и природной флоры Беларуси».

Литература

1. Парфенов В. И., Блажевич Р. Ю. // Докл. АН СССР. 1978. Т. 22, № 11. С. 1030–1032.
2. Lockwood J. D., Aleksić J. M., Zou J. et al. // Mol. Phyl. Evol. 2013. Vol. 69. P. 717–727.
3. Юркевич И. Д., Голод Д. С., Парфенов В. И. Типы и ассоциации еловых лесов (по исследованиям в БССР). Минск, 1971.
4. Maghuly F., Nittinger F., Pinsker W. et al. // Tree Genet. Genomes. 2006. Vol. 3. P. 199–206.
5. Litkowiec M., Dering M., Lewandowski A. // Dendrology. 2009. Vol. 61. P. 65–71.
6. Duminil J. // Molecular Plant Taxonomy: Methods and Protocols. New York, 2014. P. 121–140.
7. Падутов В. Е., Баранов О. Ю., Воронаев Е. В. Методы молекулярно-генетического анализа. Минск, 2007.
8. Dering M., Mistorny A., Lewandowski A., Korczyk A. // Eur. J. Forest Res. 2012. Vol. 131. P. 381–387.
9. Парфенов В. И. Обусловленность распространения и адаптация видов растений на границах ареалов. Минск, 1980.
10. Boratyński A. // Biology and Ecology of Norway Spruce. Poznan, 2007. P. 37–47.
11. Зерницкая В. П. // Палеогеография Белорусского Полесья в позднеледниковье и голоцене (по данным спорово-пыльцевого анализа): автореф. дис. ... канд. геогр. наук. Минск, 1991.
12. Latalowa M., Van der Knaap W. O. // Quat. Sci. Rev. 2006. Vol. 25. P. 2780–2805.
13. Юркевич И. Д., Парфенов В. И. // Бюл. ГБС АН СССР. 1967. Вып. 64. С. 41–48.
14. Sahid Md. H. // Mitochondrial DNA phylogeography of Norway spruce (*Picea abies*) in Northern Europe: student thesis. Uppsala, 2012.

D. I. KAGAN, A. I. SIDOR, T. S. MARKEVICH

quercus-belarus@mail.ru

GENETIC STRUCTURE OF POPULATIONS OF *PICEA ABIES* (L.) KARST. IN BELARUS (ACCORDING TO MITOCHONDRIAL DNA POLYMORPHISM)

Summary

The results of the genetic structure's study of the spruce formation of Belarus is according to mitochondrial DNA polymorphism (locus *mt15-D02*). The formation of the genetic structure of plants with particularly *Picea abies* (L.) Karst. is various due to their historical origin – Carpathian and Boreal. It's revealed that Boreal mitotype occurs almost throughout the territory of Belarus, while the Carpathian is concentrated in the south-western part. Firstly, using DNA markers it's shown the existence of the overlapping area of migration flows *P. abies* in the south-west of the country. The most probable way of their distribution on the territory of Belarus is in the postglacial period, as well as modern trends in migration in the investigated region.