



УДК 630\*165

## ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ СОСНОВЫХ НАСАЖДЕНИЙ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА «БЕЛОВЕЖСКАЯ ПУЩА»

**А. И. Сидор<sup>1</sup>, А. И. Ковалевич<sup>1</sup>, Д. И. Каган<sup>1</sup>, А. В. Бурый<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> ГНУ «Институт леса НАН Беларуси», Гомель, Беларусь,

<sup>2</sup> ГПУ «Национальный парк «Беловежская пуща», Каменюки, Беларусь  
e-mail: pinselekt@gmail.com<sup>1</sup>, npbpby@rambler.ru<sup>2</sup>

*Проведена генетическая оценка сосняков в предварительно отобранных семи насаждениях естественного происхождения и несомкнувшихся культурах, а также 50 плюсовых деревьев сосны обыкновенной. Изученная выборка сосны обыкновенной составила более 600 деревьев.*

*На основе использования изоферментного и RAPD-анализа установлено, что сосновая формация исследуемого региона характеризуется высоким генетическим потенциалом. Выявлен уровень генетического разнообразия, соответствующий верхнему пределу генетической изменчивости для белорусских сосняков. Полученные значения частот встречаемости аллельных вариантов изоферментных генов и генетической дистанции Nei для всех исследованных насаждений свидетельствуют о сходстве их генетических структур.*

Генетическая изменчивость является основой способности живых организмов адаптироваться к изменениям со стороны окружающей среды через естественный отбор. Особи каждого вида содержат тысячи генов, и комбинации этих генов могут варьировать от одной местности к другой, от популяции к популяции и от растения к растению. Эти комбинации генов наследуются в последующих поколениях и в ходе перекрестных скрещиваний формируют определенную генетическую структуру популяций, позволяющую видам адаптироваться к условиям окружающей среды. Популяции с низким уровнем генетической изменчивости более восприимчивы к изменению климата, заболеваниям, антропогенному и техногенному воздействию. Неспособность адаптироваться к изменениям окружающей среды увеличивает риск обеднения генофонда. Все более усиливающаяся опасность деградации окружающей среды привела к осознанию необходимости сохранения генетических ресурсов не только хозяйственно-важных, но также редких и находящихся под угрозой исчезновения видов.

При сохранении генетических ресурсов, по мнению большинства исследователей, главная цель – сохранить как можно больше генетической изменчивости, которая найдена у изучаемого вида, поскольку генетическое разнообразие является базисным компонентом биоразнообразия,

а генетические ресурсы являются потенциальным источником полезных генетических признаков.

Древостои (особенно старовозрастные) Беловежской пуши представляют собой остатки наиболее ценных и уникальных сообществ – последних в структуре европейских равнинных лесов, сформированных в процессе естественной эволюции. Здесь насчитывается более 1500 деревьев-великанов, средний возраст древостоев на отдельных участках составляет 200-250 лет. Более 70 тыс. га территории национального парка являются объектом всемирного наследия ЮНЕСКО. Это единственная природная территория в умеренной климатической зоне Европейского континента, с площадью несколько десятков тысяч гектаров естественных смешанных хвойно-широколиственных лесов первобытного характера.

Эволюционно-адаптированные к определенным условиям местопроизрастания популяции древесных видов Беловежской пуши являются важнейшим источником генетических ресурсов для лесовосстановительных работ в Республике Беларусь и Европы в целом.

Целью работы являлось изучить генетический потенциал сосновой формации Национального парка «Беловежская пуца» с использованием молекулярно-генетических методов.

Генетическую оценку сосняков проводили в предварительно отобранных семи насаждениях естественного происхождения и несомкнувшихся культурах. Дополнительно были проанализированы плюсовые деревья сосны обыкновенной, произрастающие на территории пуши. В целом, изученная выборка сосны обыкновенной составила более 600 деревьев.

Оценку генетического потенциала сосны обыкновенной проводили изоферментным и RAPD-методом. Экспериментальным материалом являлись диплоидные ткани почек или хвоя соответственно [1,2,3].

Гомогенизацию, выделение и гистохимическое окрашивание изоферментов осуществлено по стандартным методикам. Электрофоретическое фракционирование проводили в 13-14% крахмальном геле с использованием трех буферных систем: трис-ЭДТА-боратной (pH 8,6), трис-цитратной (pH 6,2) и трис-цитрат/NaOH-боратной (pH 8,65). Анализ проведен на основе одиннадцати ген-ферментных систем (аспартатаминотрансфераза, алкогольдегидрогеназа, глутаматдегидрогеназа, глюкозофосфатизомераза, диафораза, изоцитратдегидрогеназа, лейцинаминопептидаза, малатдегидрогеназа, флюоресцентная эстераза, фосфоглюкомутаза, б-фосфоглюконатдегидрогеназа), которые кодируются 20 изоферментными локусами (*Aat-1, -2, -3; Adh-1, -2; Dia-1, -2; Fe; Gdh; Gpi; Idh; Lap-1, -2; Mdh-1, -2, -3; 6-Pgd-1, -2; Pgm-1, -2*). Получение препаратов ДНК, амплификацию, электрофоретическое разделение и выявление ампликонов выполнено по стандартным методикам. Для анализа RAPD-локусов было использовано пять праймеров:

*Oligo 6* (CACGGCGAGT), *Oligo 8* (CGCCCCCATT), *Oligo 16* (GCCCTCGTC), *Oligo 85* (ATCGGTCGGTA), *Oligo 98* (GGGTAACGCC).

При проведении сравнительного анализа исследованных насаждений был использован ряд статистических показателей, описывающих уровень генетической изменчивости насаждений. Статистическая обработка данных осуществлена с помощью компьютерных программ *BIOSYS-1*, *POPGENE Version 1.32*, *Statistica 6.0*.

В ходе проведения генетического анализа нами были установлены генотипы всех изученных деревьев по 20 изоферментным генам и рассчитаны аллельные частоты для исследованных насаждений *P. sylvestris*. В исследованных древостоях НП «Беловежская пуца» было выявлено 65 аллелей, все проанализированные локусы оказались полиморфными. Наибольший уровень гетерозиготности обнаружен для 10 локусов: *Fe*, *Gdh*, *Aat-2*, *Aat-3*, *Adh-1*, *Adh-2*, *Dia-1*, *6-Pgd-1*, *6-Pgd-2* и *Mdh-3*, поскольку для них показатель  $H_e$  в среднем по всем древостоям превышал 20%. Локусы *Gpi*, *Pgm-1*, *Lap-1* и *Lap-2* обладали средним уровнем изменчивости, так как значение средней ожидаемой гетерозиготности составляло от 5 до 20%. В группу с низким уровнем изменчивости вошли 6 генов (*Aat-1*, *Dia-2*, *Idh*, *Mdh-1*, *Mdh-2*, *Pgm-2*), для которых среднее значение  $H_e$  не превысило 5%.

На основе полученных аллельных частот для всех исследованных насаждений были рассчитаны основные показатели генетического разнообразия.

Установлено, что доля полиморфных локусов в насаждениях сосны обыкновенной в НП «Беловежская пуца» по 95% критерию варьирует от 0,550 до 0,700, по 99% критерию – от 0,750 до 0,950. Число аллелей на локус ( $A$ ) изменяется от 2,550 до 3,000,  $A_{1\%}$  – от 2,300 до 2,650. Параметры средней ожидаемой ( $H_e$ ) и средней наблюдаемой ( $H_o$ ) гетерозиготности равны 24,2-26,6% и 25,8-28,0% соответственно. Необходимо отметить, что средние значения  $H_e$  и  $H_o$ , выявленные в насаждениях сосны обыкновенной пуци (26,0 и 27,6% соответственно), являются одними из самых высоких, установленных для сосняков естественного происхождения Беларуси, что свидетельствует о большом запасе генетической изменчивости у сосны обыкновенной в НП «Беловежская пуца». Полученные результаты можно объяснить тем, что структура сосновой формации, как и других лесообразователей пуци, формировалась в условиях ограниченной лесохозяйственной деятельности на протяжении длительного периода времени (более 600 лет). Это позволило сохранить ценный генофонд вида, представленный наиболее гетерозиготными особями. На это указывает также и реализация высокого генетического потенциала старовозрастных сосняков НП «Беловежская пуца» в потомстве. Так, например, насаждение из Пашуковского лесничества возрастом 40 лет (лесной квартал 889 / таксационный выдел 13) ( $H_e=25,6\%$ ,  $H_o=28,0\%$ ) и 7-летние культуры Королево-Мостовского лесничества ( $H_e=25,3\%$ ,  $H_o=27,5\%$ ) не имеют

существенных различий по уровню генетической изменчивости по сравнению с более старыми насаждениями.

Все исследованные насаждения сосны обыкновенной НП «Беловежская пуца» характеризуются сходной генетической структурой, поскольку генетическая дистанция Nei между ними варьирует от 0,003 до 0,007, в то время как максимальное значение генетической дистанции, выявленное для популяций сосны из Беларуси, равно 0,016.

В насаждениях сосны обыкновенной Пашуковского лесничества (лесной квартал 881 / таксационный выдел 6; лесной квартал 851 / 3) было выделено 50 плюсовых деревьев, также проанализированных по 20 изоферментным генам. Наиболее гетерозиготными среди них оказалось 10% деревьев, у которых более 40% генов находятся в полиморфном состоянии. К наименее гетерозиготным относилось 16% деревьев, у которых от 10 до 15% локусов являются полиморфными. У остальных 74% деревьев количество полиморфных генов составляет от 20 до 35%. В среднем, наблюдаемая гетерозиготность для исследованных плюсовых деревьев составляет 26,2%, что несколько выше, чем для сосновой формации Беларуси.

На основе полученных генотипов были рассчитаны аллельные частоты для группы плюсовых деревьев сосны обыкновенной и плюсовых насаждений, в которых они были отобраны.

Проведенный генетический анализ показывает, что плюсовые деревья, отобранные в насаждениях сосны обыкновенной НП «Беловежская пуца», также характеризуются высоким уровнем генетической изменчивости по сравнению с усредненными данными для насаждений естественного происхождения Беларуси.

RAPD-анализ насаждений сосны обыкновенной Пашуковского и Никорского лесничеств также выявил высокий уровень генетической изменчивости сосновой формации НП «Беловежская пуца» ( $P_{99}=0,750-0,900$ ,  $A=1,650-1,850$ ,  $0,318-0,340$ ).

Таким образом, в ходе изучения генетической структуры насаждений сосны обыкновенной НП «Беловежская пуца» на основе использования изоферментного и RAPD-анализа установлено, что сосновая формация исследуемого региона характеризуется высоким генетическим потенциалом, сформировавшимся в условиях ограниченной лесохозяйственной деятельности на протяжении длительного периода времени и реализуемого в потомстве как при естественном лесовозобновлении, так и при искусственном лесовосстановлении. В проанализированных сосновых насаждениях НП «Беловежская пуца» выявлен уровень генетического разнообразия, соответствующий верхнему пределу генетической изменчивости для белорусских сосняков. Полученные значения частот встречаемости аллельных вариантов изоферментных генов и генетической дистанции Nei для всех исследованных насаждений свидетельствуют о сходстве их генетических структур.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Падутов, В. Е. Методы молекулярно-генетического анализа / В. Е. Падутов, О. Ю. Баранов, Е. В. Воропаев. – Мн.: Юнипол, 2007. – 176 с.
2. Дорохов, Д. Б. Быстрая и экономичная технология RAPD анализа растительных геномов / Д. Б. Дорохов, Э. Клоке // Генетика. – 1997. – Т. 33, № 4 – С. 443–450.
3. Использование ПЦР-анализа в генетико-селекционных исследованиях: Научно-методическое руководство / Под. ред. Ю. М. Сиволапа.– Киев: Аграрная наука, 1998. – 156 с.



*Научное электронное издание*

**Лесное хозяйство:  
практика, наука, образование**

*Международная научно-практическая конференция,  
посвященная 15-летию открытия специальности «Лесное хозяйство»  
в учреждении образования «Гомельский государственный университет  
имени Франциска Скорины»*

*(Гомель, 4–5 октября 2018 года)*

Сборник материалов

Подписано к использованию 28.11.2018.

Объем издания 5,9 Мб.

Издатель и полиграфическое исполнение:  
учреждение образования  
«Гомельский государственный университет имени Франциска Скорины».  
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя, распространителя  
печатных изданий № 3/1452 от 17.04.2017.  
Специальное разрешение (лицензия) № 02330 / 450 от 18.12.2013.  
Ул. Советская, 104, 246019, Гомель.

<http://www.gsu.by>