

ГЕНЕТИКА И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

GENETICS AND MOLECULAR BIOLOGY

УДК 575.13:575.17:582.632.2:630*165.3

ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО (*QUERCUS ROBUR* L.) В БЕЛАРУСИ ПО ДАННЫМ АНАЛИЗА ХЛОРОПЛАСТНОЙ ДНК

В. Е. ПАДУТОВ¹⁾

¹⁾Институт леса НАН Беларуси, ул. Пролетарская, 71, 246050, г. Гомель, Беларусь

Дуб черешчатый (*Quercus robur* L.) – один из основных лесообразующих видов Республики Беларусь, популяционно-генетическая структура которого сформировалась под влиянием различных миграционных потоков. Для геногеографического исследования использованы 6 локусов хлоропластной ДНК ($\mu dt1$, $\mu dt3$, $\mu dt4$, $\mu cd4$, $\mu cd5$ и $\mu kk4$), материал для их анализа отобран в 100 дубравах (2325 образцов). Выявлены 18 аллельных вариантов, образующих 17 различных сочетаний (гаплотипов), 5 из которых являются доминирующими (присутствуют в 85 % исследованных насаждений, доля встречаемости варьирует от 7 до 48 %), остальные 12 – редкими (представлены в 15 % дубрав, встречаемость составляет от 1 до 3 %). Филогенетические деревья, построенные с помощью метода ближайшего соседа и метода максимального правдоподобия, показывают наличие двух групп (ветвей) гаплотипов: к одной относятся 8 вариантов, включая 2 доминирующих гаплотипа, к другой – 9 вариантов, в том числе 3 доминирующих гаплотипа. Результаты анализа хлоропластной ДНК методом PCR-RFLP свидетельствуют, что дуб черешчатый в Беларуси имеет балканское происхождение. Гаплотип № 1 ($\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{123}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$) встречается в республике практически повсеместно, за исключением юго-запада и северо-востока, тогда как гаплотип № 8 ($\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{121}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$) в основном локализуется именно на юго-западе и северо-востоке. Гаплотипы № 3 ($\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{120}$, $\mu dt4^{141}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{75}$, $\mu kk4^{109}$) и № 7 ($\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{122}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$) преимущественно распространены на западе страны, а гаплотип № 2 ($\mu dt1^{90}$, $\mu dt3^{120}$, $\mu dt4^{141}$, $\mu cd4^{95}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$) характерен для юго-востока.

Ключевые слова: дуб черешчатый; *Quercus robur* L.; микросателлитный анализ; хлоропластная ДНК.

Образец цитирования:

Падутув ВЕ. Популяционно-генетическая структура дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) в Беларуси по данным анализа хлоропластной ДНК. Журнал Белорусского государственного университета. Биология. 2021;3:59–70.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-3-59-70>

For citation:

Padutov VE. Population genetic structure of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) in Belarus according to the analysis of chloroplast DNA. Journal of the Belarusian State University. Biology. 2021;3:59–70. Russian.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-3-59-70>

Автор:

Владимир Евгеньевич Падутув – член-корреспондент НАН Беларуси, доктор биологических наук, доцент; заведующий научно-исследовательским отделом генетики, селекции и биотехнологии.

Author:

Vladimir E. Padutov, corresponding member of the National Academy of Sciences of Belarus, doctor of science (biology), docent; head of the research department of genetics, breeding and biotechnology.
forestgen@mail.ru





POPULATION GENETIC STRUCTURE OF PEDUNCULATE OAK (*QUERCUS ROBUR* L.) IN BELARUS ACCORDING TO THE ANALYSIS OF CHLOROPLAST DNA

V. E. PADUTOV^a

^aForest Institute, National Academy of Sciences of Belarus,
71 Praletarskaja Street, Homiel 246050, Belarus

Pedunculate oak (*Quercus robur* L.) is one of the main forest forming species in the Republic of Belarus. Its population genetic structure was formed under the influence of various migration processes. Six chloroplast DNA loci ($\mu dt1$, $\mu dt3$, $\mu dt4$, $\mu cd4$, $\mu cd5$ and $\mu kk4$) were used for the genogeographic study. The material for the analysis was collected in 100 oak forest stands (2325 samples); 18 allelic variants were identified, which are grouped into 17 different combinations (haplotypes). Five of them are widespread (the proportion of occurrence varies from 7 to 48 %, totalling 85 %). The remaining 12 are rare (the proportion of occurrence varies from 1 to 3 %, totalling 15 %). Phylogenetic trees constructed using the nearest neighbour and maximum likelihood methods show the presence of two groups (branches) of haplotypes. One of it comprises 8 variants including 2 dominant haplotypes and the other comprises 9 variants including 3 dominant haplotypes. PCR-RFLP analysis of chloroplast DNA showed that the pedunculate oak in Belarus originates from the Balkan refugium. Haplotype No. 1 ($\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{123}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$) is found almost everywhere in Belarus with the exception of the southwest and northeast, while haplotype No. 8 ($\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{121}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$) is mainly localised in the southwest and northeast. Haplotypes No. 3 ($\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{120}$, $\mu dt4^{141}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{75}$, $\mu kk4^{109}$) and No. 7 ($\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{122}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$) predominantly found in the west of the country. Haplotype No. 2 ($\mu dt1^{90}$, $\mu dt3^{120}$, $\mu dt4^{141}$, $\mu cd4^{95}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$) is typical for the southeast.

Keywords: pedunculate oak; *Quercus robur* L.; microsatellite analysis; chloroplast DNA.

Введение

Дуб черешчатый (*Quercus robur* L.) – одна из основных лесообразующих пород Республики Беларусь. По состоянию на 1 января 2021 г. площадь дубрав, которые играют важную роль в развитии экономики страны и сохранении экологического равновесия в регионе, составляет 283 тыс. га с запасом древесины на корню 53,85 млн м³ [1]. Несмотря на небольшую долю участия дубрав в лесном фонде Министерства лесного хозяйства Республики Беларусь (3,4 % от лесопокрытой площади), именно они являются основой для формирования названий геоботанических подзон, таких как дубово-темнохвойные леса, грабово-дубово-темнохвойные леса, широколиственно-сосновые леса (ранее – еловые дубравы, елово-грабовые дубравы и грабовые дубравы соответственно).

Характерная черта дуба черешчатого – высокий уровень внутривидового формового разнообразия, в частности по форме кроны (овальная, округлая, метловидная и др.) и листьев (цельнокрайние, глубоколопастные, иволистные и т. д.), характеру коры (ребристая, широко трещиноватая, пластинчатая и пр.), фенологическим особенностям (рано- и позднораспускающаяся формы) и иным параметрам [2–4]. Данный вид может произрастать в различных типах местообитаний. Широкий географический и особенно экологический ареал распространения дуба черешчатого способствует его высокой фенотипической (модификационной) и генотипической пластичности. Результаты изучения многочисленных географических культур убедительно показали существование у дуба черешчатого наследственно обусловленных внутривидовых подразделений – климатипов, эдафотипов, географических рас и др. Некоторые формы, например рано- и позднораспускающаяся, определяют вариabельность стратегии воспроизводства популяции в зависимости от конкретных погодных условий. Такие типы дубрав, как суходольные (плакорные) и пойменные, демонстрируют высокую экологическую пластичность вида.

Изучение европейских дубрав с использованием хлоропластной ДНК (хпДНК), результатам которого даже был посвящен специальный выпуск журнала *Forest Ecology and Management*, показало их значительную разнородность по генетическому происхождению вследствие распространения из разных рефугиумов ледникового периода [5–9]. На территории Европы в последний ледниковый период род *Quercus* сохранился в нескольких разных регионах (Пиренейском, Апеннинском, Балканском), что привело к внутривидовой генетической разнородности. Послеледниковое распространение миграционных потоков дуба черешчатого в северном направлении и обмен генетическим материалом между представителями разных рефугиумов при перекрестном скрещивании вызывали постепенную гибридизацию геномов.



Беларусь по своему географическому расположению не изолирована крупными преградами, поэтому можно предположить, что и в нашей стране будет наблюдаться та же тенденция, которая прослеживается в других государствах. Проведенный гено- и филогеографический анализ дубовой формации в Польше и странах Прибалтики позволил выявить ее историческую связь с насаждениями Центральной и Южной Европы, а также Балканского полуострова [9; 10]. Северную часть Польши занимают апеннинская и пиренейская гаплогруппы (по-видимому, распространявшиеся с территории Германии вдоль побережья Балтийского моря), в то время как образцы в центральной и южной частях Польши представляют линию Балкан [11]. Превалирование в Польше гаплогрупп балканского происхождения было подтверждено позднее на более обширном материале. В результате установлено, что представители балканского происхождения составляют приблизительно 65 %, апеннинского – более 20 %, а пиренейского (иберийского) – около 10 % проанализированных особей [12]. По данным литовских исследователей [13], дубравы Литвы можно разделить на три группы, одна из которых мигрировала из Италии, а две другие – с территории Балкан, но из разных рефугиумов.

Раздельное существование в период последнего оледенения, распространение из разных рефугиумов и миграционные особенности становления современного ареала дуба черешчатого обуславливают различия и специфику векторов естественного отбора в каждой популяции. Цель настоящей работы состоит в геногеографическом анализе древостоев дуба черешчатого на территории Беларуси, выявлении отдельных популяций и изучении действующих в них микроэволюционных факторов.

Материалы и методы исследования

Исследования выполнялись в средневозрастных, припевающих, спелых и перестойных дубовых древостоях естественного происхождения Брестской, Витебской, Гомельской, Гродненской, Минской и Могилёвской областей. Для проведения генетического анализа в 100 выделах, представляющих наиболее репрезентативные типы дубрав, были взяты популяционные выборки. Каждая из них включала 15–30 деревьев, расположенных на расстоянии не менее 50 м друг от друга. В качестве экспериментального материала использовались побеги или древесина (2325 образцов).

Выделение ДНК проводили модифицированным СТАВ-методом [14]. Полученные препараты ДНК растворяли в 100 мкл бидистиллированной воды для последующего хранения при –4 °С.

Для изучения хпДНК использовали микросателлитный (SSRP) анализ по 6 локусам [15] с применением следующих пар праймеров:

- $\mu dt1$ – F: 5'-ATCTTACASTAAGCTCGGAA-3', R: 5'-TTCAATAACTTGTTGATCC-3';
- $\mu dt3$ – F: 5'-TGTTAGTAATCCTTTCGTT-3', R: 5'-AGGTATAAAGTCTAAGGTAA-3';
- $\mu dt4$ – F: 5'-GATAATATAAAGAGTCAAAT-3', R: 5'-CCGAAAGGTCCTATACCTCG-3';
- $\mu cd4$ – F: 5'-TTATTTGTTTTTGGTTTCACC-3', R: 5'-TTTCCCATAGAGAGTCTGTAT-3';
- $\mu cd5$ – F: 5'-CCCCCGGATCTCTGTCA-3', R: 5'-TAATAAACGAGAATCACATAA-3';
- $\mu kk4$ – F: 5'-TTGTTTACCTATAATTGGAGC-3', R: 5'-TAGCGGATCGGTTCAAAACTT-3'.

Полимеразную цепную реакцию выполняли по программе: длительная денатурация (3 мин, 94 °С); 30 циклов – денатурация (30 с, 94 °С), отжиг (25 с, 72 °С), элонгация (25 с, 72 °С); длительная элонгация (7 мин, 72 °С); охлаждение реакционной смеси (5 мин, 4 °С). Электрофоретическое фракционирование продуктов амплификации осуществляли на генетическом анализаторе ABI Prism 310 (*Applied Biosystems*, США) в соответствии с прилагаемой производителем инструкцией.

Анализ методом PCR-RFLP проводили по 4 локусам с применением следующих пар праймеров:

- CD_1 – F: 5'-CCAGTTCAAATCTGGGTGTC-3', R: 5'-GGGATTGTAGTTCAATTGGT-3';
- D_2T_1 – F: 5'-ACCAATTGAACATAATCCC-3', R: 5'-CTACCACTGAGTTAAAAGGG-3';
- AS – F: 5'-ACTTCTGGTTCCGGCGAACGAA-3', R: 5'-AACCACCTCGGCCATCTCTCCTA-3';
- T_2F – F: 5'-CATTACAAATGCGATGCTCT-3', R: 5'-ATTTGAACTGGTGACACGAG-3'.

Полимеразную цепную реакцию выполняли по программе: длительная денатурация (3 мин, 94 °С); 40 циклов – денатурация (25 с, 94 °С), отжиг (20 с, температура отжига соответствует температуре плавления праймера), элонгация (25 с, 72 °С); длительная элонгация (5 мин, 72 °С); охлаждение реакционной смеси (5 мин, 4 °С). Амплифицированные фрагменты генов подвергали рестрикции с применением рестриктаз *TaqI* и *HinfI*. Для рестрикционного анализа использовали смесь следующего состава: 10-кратный рестрикционный буфер – 2 мкл, дистиллированная вода – 15 мкл, продукт амплификации – 10 мкл, раствор рестриктазы – 1 мкл. Далее рестрикционную смесь инкубировали при 37 °С на протяжении 16 ч. Реакцию останавливали денатурированием фермента при 70 °С в течение 15 мин. Электрофоретическое разделение продуктов проводили в 2 % агарозном геле. Для визуализации продуктов гибридизации гели окрашивали раствором бромистого этидия с последующим просмотром в УФ-свете.

Статистическую обработку данных выполняли с помощью компьютерных программ *Microsoft Excel*, *Statistica 6.0* и *DARwin5*.



Результаты и их обсуждение

Анализ хпДНК с использованием микросателлитных праймеров выявил 18 аллельных вариантов – $\mu dt1^{88}$, $\mu dt1^{89}$, $\mu dt1^{90}$, $\mu dt3^{120}$, $\mu dt3^{121}$, $\mu dt3^{122}$, $\mu dt3^{123}$, $\mu dt3^{124}$, $\mu dt4^{141}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu dt4^{143}$, $\mu cd4^{93}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd4^{95}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu cd5^{75}$, $\mu kk4^{109}$, $\mu kk4^{110}$, количество которых по локусам варьирует от 2 до 5. На территории Беларуси для дуба черешчатого обнаружены 17 различных сочетаний аллелей (гаплотипов) по 6 локусам хпДНК (табл. 1). Учитывая, что наследование данного типа ДНК происходит только от материнского дерева к потомкам, выявленные гаплотипы можно рассматривать в качестве маркеров отдельных генетических линий для дальнейшего анализа и установления наличия либо отсутствия генетического родства между деревьями.

Таблица 1

Генетические портреты гаплотипов

Table 1

Genetic portraits of haplotypes	
Гаплотип	Сочетание аллелей
1	$\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{123}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$
2	$\mu dt1^{90}$, $\mu dt3^{120}$, $\mu dt4^{141}$, $\mu cd4^{95}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$
3	$\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{120}$, $\mu dt4^{141}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{75}$, $\mu kk4^{109}$
4	$\mu dt1^{88}$, $\mu dt3^{123}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$
5	$\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{121}$, $\mu dt4^{143}$, $\mu cd4^{93}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{110}$
6	$\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{122}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu cd4^{95}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$
7	$\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{122}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$
8	$\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{121}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$
9	$\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{121}$, $\mu dt4^{143}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$
10	$\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{120}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{75}$, $\mu kk4^{109}$
11	$\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{124}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$
12	$\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{123}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{75}$, $\mu kk4^{109}$
13	$\mu dt1^{90}$, $\mu dt3^{120}$, $\mu dt4^{141}$, $\mu cd4^{95}$, $\mu cd5^{75}$, $\mu kk4^{109}$
14	$\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{120}$, $\mu dt4^{141}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$
15	$\mu dt1^{89}$, $\mu dt3^{121}$, $\mu dt4^{143}$, $\mu cd4^{95}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{110}$
16	$\mu dt1^{88}$, $\mu dt3^{122}$, $\mu dt4^{142}$, $\mu cd4^{95}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$
17	$\mu dt1^{90}$, $\mu dt3^{120}$, $\mu dt4^{141}$, $\mu cd4^{94}$, $\mu cd5^{74}$, $\mu kk4^{109}$

Примечание. Нумерация гаплотипов дана в порядке очередности их обнаружения в дубравах Беларуси.

Установлено, что 5 гаплотипов – № 1, 2, 3, 7 и 8 – являются доминирующими, их долевое участие в составе дубрав варьирует от 7 до 48 % (табл. 2), при этом они выявлены в 85 % насаждений. Представленность остальных 12 гаплотипов, встречающихся на ограниченных территориях в пределах одного или нескольких районов, варьирует от 1 до 3 % (см. табл. 2), они обнаружены только в 15 % проанализированных дубрав.

Таблица 2

Долевое участие гаплотипов дуба черешчатого на территории Беларуси, %

Table 2

Fractional participation of pedunculate oak haplotypes on the territory of Belarus, %																	
Гаплотип	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Доля участия	48	7	11	3	1	2	10	9	1	1	1	1	1	1	1	1	1



С использованием дистанционного (метод ближайшего соседа) и дискретного (метод максимального правдоподобия) методов были построены два филогенетических дерева выявленных гаплотипов хпДНК дуба черешчатого (рис. 1). Установлено, что гаплотипы формируют две группы (ветви). К первой из них относятся 8 вариантов, в том числе 2 доминирующих гаплотипа – № 7 и 8. Вторая ветвь состоит из 9 вариантов, 3 из которых – № 1, 2 и 3 – являются доминирующими гаплотипами.

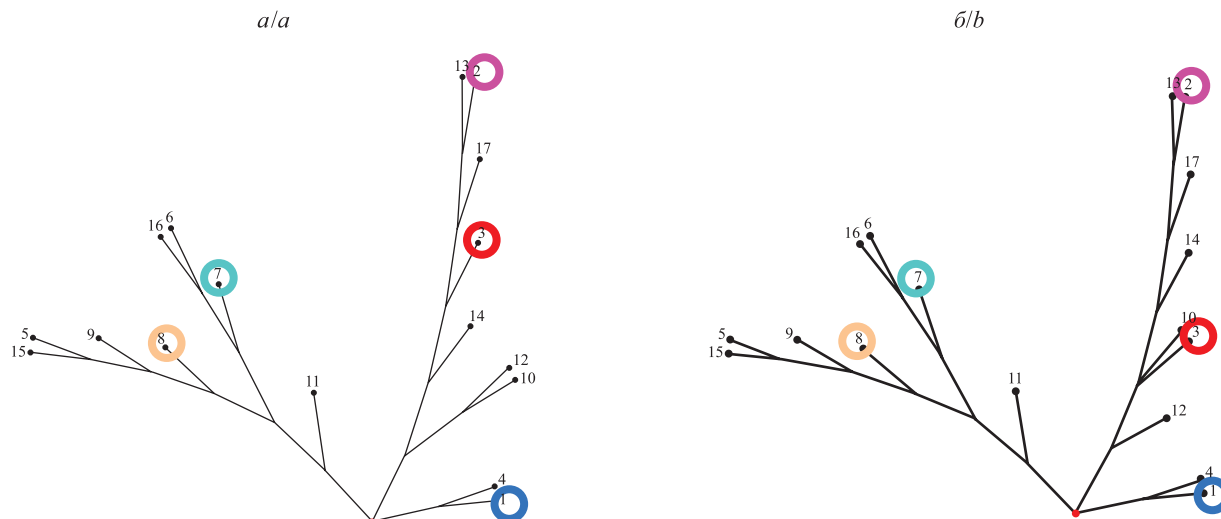


Рис. 1. Филогенетическое дерево гаплотипов дуба черешчатого, выявленных на территории Беларуси:
а – на основании метода ближайшего соседа; б – на основании метода максимального правдоподобия

Fig. 1. Phylogenetic tree of pedunculate oak haplotypes identified in Belarus:

a – based on the nearest neighbour method; b – based on the method of maximum likelihood

Учитывая расположение редких гаплотипов на филогенетическом дереве, их встречаемость в единичных районах, а также отсутствие у хпДНК явления генетической рекомбинации, можно предположить, что они образовались из доминирующих гаплотипов в результате мутаций. На рис. 2 представлены карты распространения доминирующих гаплотипов и их производных (редких гаплотипов). Хорошо видно, что встречаемость доминирующих гаплотипов варьирует в зависимости от регионов. Гаплотип № 1 встречается практически повсеместно, за исключением юго-запада и северо-востока республики. Гаплотип № 8, наоборот, в основном локализуется на юго-западе и северо-востоке. Четкой региональной приуроченностью отличается гаплотип № 2, который характерен для юго-востока Беларуси. Гаплотипы № 3 и 7 преимущественно распространены на западе страны, хотя отдельные микропопуляции, где присутствуют эти гаплотипы, выявлены и в восточных районах.

Для сопоставления данных по Беларуси с результатами обширного исследования по изучению гаплотипов дуба на всей территории Европы [5; 6] был проведен анализ хпДНК дуба черешчатого методом PCR-RFLP с использованием маркеров, описанных в этих работах. Для каждого гаплотипа было проанализировано по 5 индивидов. Данный метод имеет меньшую разрешающую способность по сравнению с проведенным SSRP-анализом, и в исследованных образцах было обнаружено только 3 гаплотипа. Они относились к одной группе происхождения – А (балканская линия), которая характерна для восточной части Европы. На территории Польши и Литвы также в основном встречаются гаплотипы этой линии [11–13]. Гаплотипы апеннинской линии (группа происхождения С) в Польше выявлены только на севере, вдоль побережья [11], а в Литве – на востоке [13]. В западной части Латвии, в Курземе на границе с Литвой, также был обнаружен гаплотип апеннинской линии, тогда как в восточной части Латвии доминируют гаплотипы балканского происхождения [16].

Миграции играли важную роль на всех этапах истории вида. Это касается и периода произрастания дуба черешчатого на территории Беларуси. Хотя большинство генетически родственных популяций находятся в непосредственной близости друг от друга, наблюдается географическая изоляция некоторых из этих популяций от остальных. Крайним примером являются древостои, имеющие единое генетическое происхождение, но удаленные друг от друга на расстояние до 300 км, как в случае дубрав из Дятловичского и Верхнедвинского или Пинского и Хойникского лесхозов, у деревьев которых выявлен один и тот же гаплотип (№ 7).

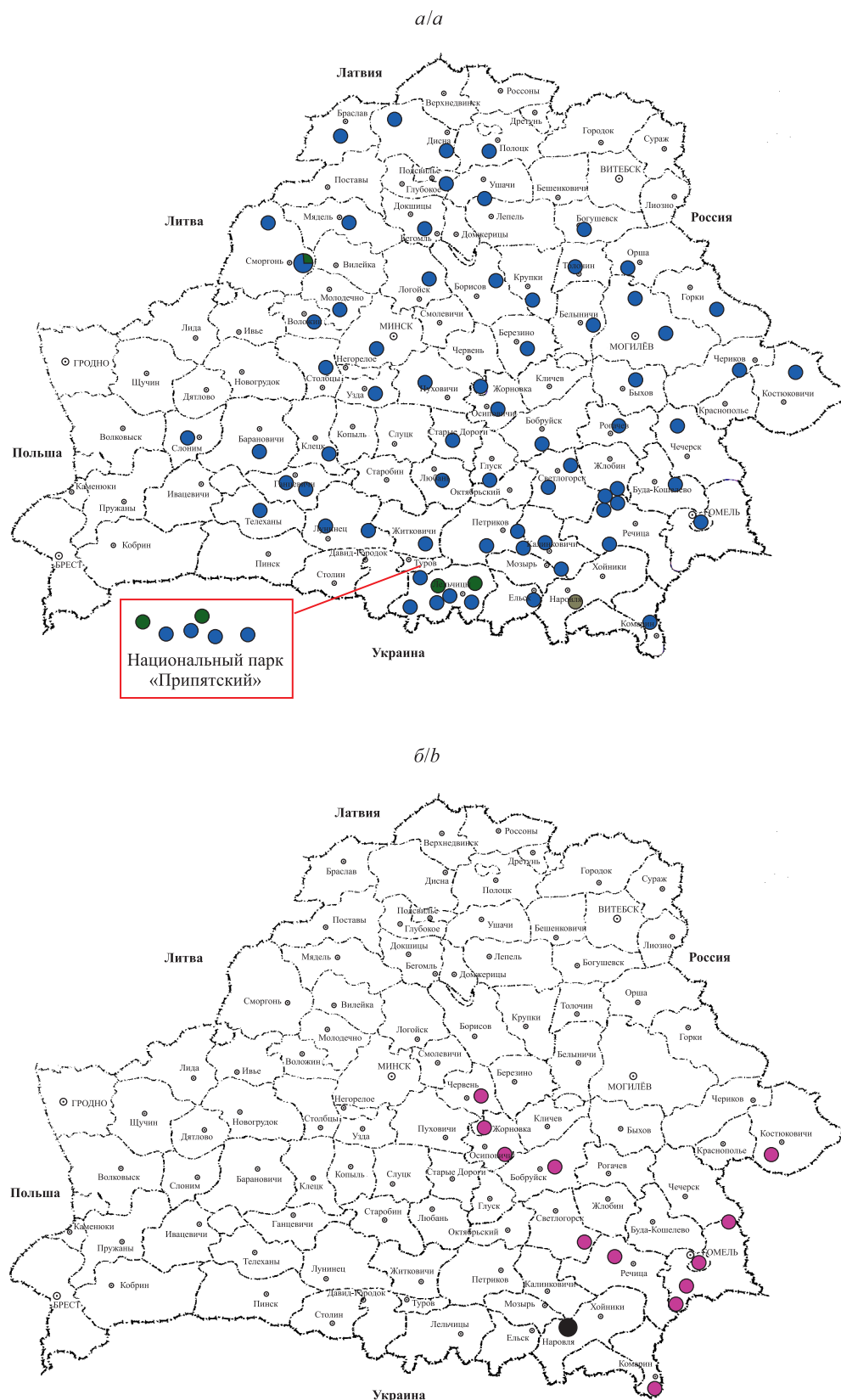


Рис. 2. Карта локализации гаплотипов дуба черешчатого (начало):
a – гаплотип № 1 и его производные; б – гаплотип № 2 и его производные

Fig. 2. Localisation map of pedunculate oak haplotypes (beginning):
a – haplotype No. 1 and its derivatives; b – haplotype No. 2 and its derivatives

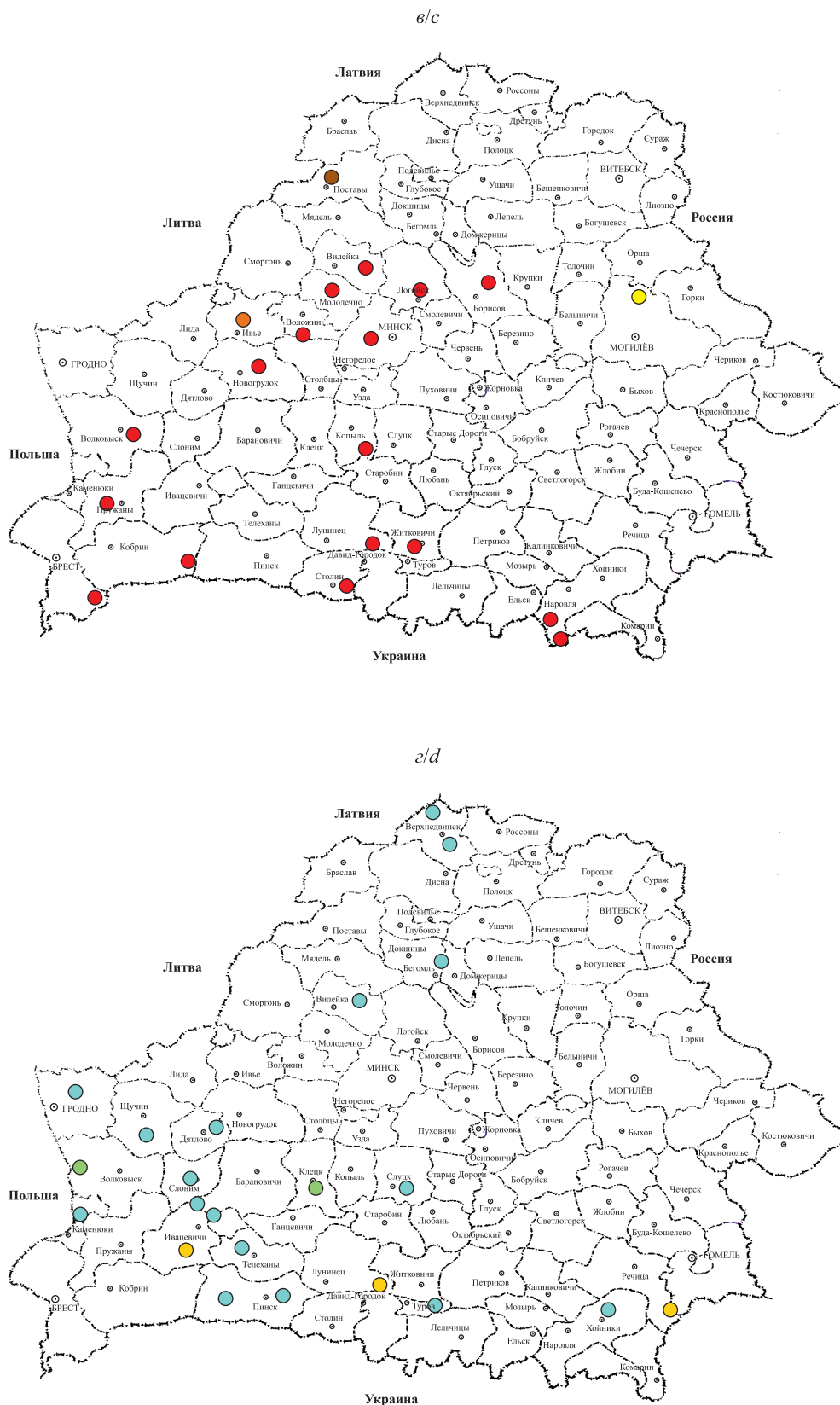


Рис. 2. Карта локализации гаплотипов дуба черешчатого (продолжение):
в – гаплотип № 3 и его производные; г – гаплотип № 7 и его производные

Fig. 2. Localisation map of pedunculate oak haplotypes (continuation):
с – haplotype No. 3 and its derivatives; д – haplotype No. 7 and its derivatives

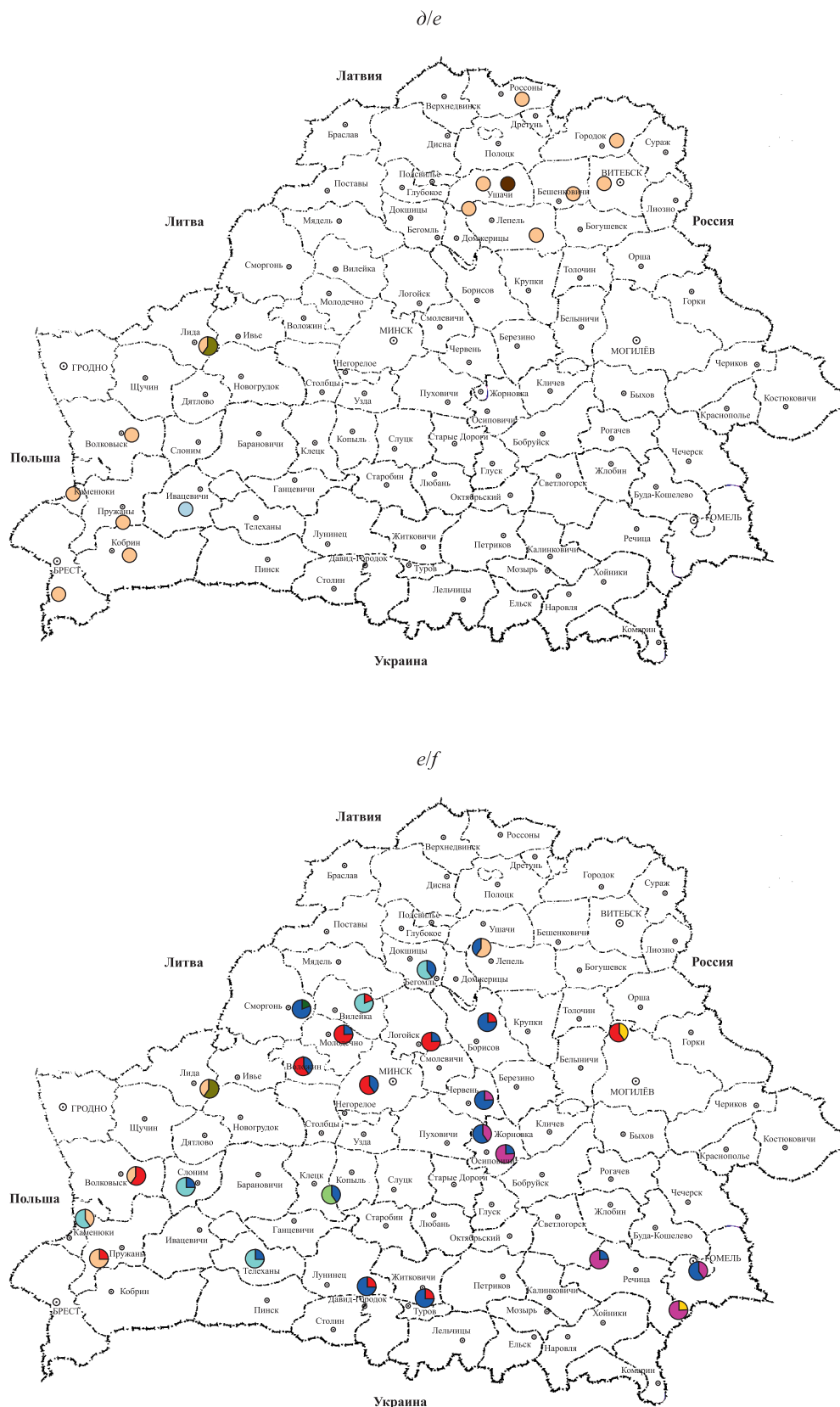


Рис. 2. Карта локализации гаплотипов дуба черешчатого (окончание):
d – гаплотип № 8 и его производные; *e* – карта дубрав с несколькими гаплотипами

Fig. 2. Localisation map of pedunculate oak haplotypes (ending):
e – haplotype No. 8 and its derivatives; *f* – map of oak forests with several haplotypes



Наличие подобных популяций (микрораспространений), изолированных от области основного распространения гаплотипов, может быть результатом миграций популяций на новые территории. Однако, учитывая, что скорость миграции дуба, по разным данным, составляет от 5 до 300 м в год [17–22], такая миграция, например, на восток от Пинского до Хойникского лесхоза должна продолжаться 1000–60 000 лет. Сомнительно, чтобы относительно небольшая часть популяций продвигалась на значительные расстояния в течение длительного времени, причем по территориям, где произрастают дубравы другого происхождения. По-видимому, в атлантический период (8000–5000 лет до н. э.), который был наиболее теплым и влажным в голоцене, гаплотип № 7 имел более широкую область распространения, чем в настоящее время, и занимал значительную часть Беларуси не только на западе, но и в центре и на востоке страны. Таким образом, выявленные изолированные микрораспространения, которые представлены гаплотипом № 7, являются остатками некогда более широко распространенной популяции.

Независимо от того, появились ли микрораспространения, географически удаленные от основного ареала встречаемости гаплотипа, в результате миграции в настоящее время или миграции, происходившей в прошлом, их наличие свидетельствует о значительных колебаниях численности популяций. Такие колебания численности могут иметь кратковременный характер (вследствие регулярно происходивших усыханий дубрав, как это описано для XX в. [23; 24]) или занимать длительный период (исходя из палеоботанических данных [20; 25–27]).

В местах контакта популяций различного генетического происхождения возникают зоны гибридизации, что обеспечивает возможность скрещивания представителей различных генетических линий и образования новых вариантов генотипов по локусам ядерной ДНК вследствие генетической рекомбинации. Вероятность межпопуляционной гибридизации наиболее велика в дубравах, где на площади одного и того же выдела совместно произрастают представители более чем одной генетической линии. Такие дубравы были выявлены в различных регионах Беларуси (см. рис. 2, е).

К факторам, приводящим к микроэволюционным процессам у дуба черешчатого, относятся не только изоляция и популяционные волны, но и мутационный процесс. Как было сказано выше, в Беларуси у данного вида, кроме доминирующих, имеются 12 редких гаплотипов. Мутантные аллели выявлены в 5 из 6 локусов. В эту группу были включены варианты, обнаруженные только у редких гаплотипов: аллель 88 локуса *mdt1* выявлен в гаплотипах № 4 (Лельчицкий лесхоз, Национальный парк «Припятский», Сморгонский лесхоз) и № 16 (Волковысский лесхоз); аллель 93 локуса *mdc4* – в гаплотипе № 5 (Ивацевичский лесхоз); аллель 110 локуса *mkk4* – в гаплотипах № 5 (Ивацевичский лесхоз) и № 15 (Ушачский лесхоз); аллель 124 локуса *mdt3* – в гаплотипе № 11 (Клецкий лесхоз); аллель 143 локуса *mdt4* – в гаплотипах № 5 (Ивацевичский лесхоз), № 9 (Лидский лесхоз) и № 15 (Ушачский лесхоз).

Хотя выявлены 5 мутантных аллелей, самих мутационных событий, которые привели к образованию 12 редких гаплотипов, было гораздо больше, поскольку, в отличие от ядерной ДНК, у хлДНК отсутствует явление генетической рекомбинации, и, следовательно, новые гаплотипы могут возникать только в результате мутаций. Некоторые редкие аллели встречаются у разных гаплотипов. К примеру, аллель 143 локуса *mdt4* выявлен в 3 гаплотипах. Данный аллель можно рассматривать либо как результат единичного мутационного события с последующим распространением в разные регионы страны, либо как результат нескольких аналогичных мутационных событий, произошедших в разных местах. Гаплотипы № 5, 9 и 15, для которых характерен аллель 143 локуса *mdt4*, географически удалены друг от друга (Ивацевичский лесхоз Брестской области, Лидский лесхоз Гродненской области, Ушачский лесхоз Витебской области соответственно), что говорит о правдоподобности второго предположения. С другой стороны, все они являются производными от гаплотипа № 8 и находятся в зоне его распространения, что косвенно подтверждает первую гипотезу. Однако даже если аллель 143 локуса *mdt4* и образовался в результате одного мутационного события, то сами гаплотипы отличаются друг от друга по аллелям других локусов: гаплотипы № 5 и 9 – по 2 локусам, гаплотипы № 5 и 15 – по 1 локусу, гаплотипы № 9 и 15 – по 2 локусам. Это говорит о том, что образование указанных 3 гаплотипов явилось результатом нескольких мутаций, если брать за точку отсчета родоначальный гаплотип № 8.

Следует отметить два момента. Во-первых, редкие гаплотипы выявлены на юге, западе и севере страны, т. е. в тех местах, где дубравы произрастают наиболее длительное время. Во-вторых, наблюдаются разные этапы изменения ареалов распространения гаплотипов. Например, гаплотип № 10 обнаружен только на территории Могилёвского лесхоза в одном древостое, в котором также был представлен и родоначальный для него гаплотип № 3, что говорит о крайне ограниченном распространении редкого варианта. В то же время гаплотип № 4 встречается на более обширной территории, он выявлен в ряде дубрав двух соседних районов – Житковичского и Хойникского. Учитывая, что доля встречаемости этого гаплотипа наибольшая среди редких вариантов (3 %), то, по-видимому, можно предположить возникновение новой популяции, расширяющей свой ареал. Интересная ситуация сложилась



в отношении гаплотипа № 6, являющегося производным от широко распространенного гаплотипа № 7. Рассматриваемый редкий вариант был выявлен на юге Беларуси в трех удаленных между собой дубравах – на западе (Ивацевичский лесхоз), в центре (Лунинецкий лесхоз) и на востоке (Речицкий лесхоз) Полесья. При этом только на одной пробной площади все проанализированные деревья принадлежали к гаплотипу № 6, в остальных случаях совместно произрастали деревья с разными гаплотипами. Это позволяет предположить, что гаплотип № 6 ранее мог быть распространен на большей территории, чем в настоящее время.

Таким образом, значительное количество редких гаплотипов, каждый из которых возник в результате одного или нескольких мутационных событий, их происхождение от разных доминирующих гаплотипов и присутствие в удаленных друг от друга географических регионах страны позволяют говорить о достаточно высоком уровне спонтанного мутагенеза, происходящего в белорусских популяциях дуба черешчатого. Эти данные косвенно подтверждаются результатами исследования дубов в Польше [12], в ходе которого у дуба черешчатого по 14 микросателлитным локусам хпДНК выявлено больше гаплотипов (67), чем у дуба скального (47). Кроме того, при анализе нескольких тысяч дубов лишь 17 гаплотипов обнаружены у довольно большого количества деревьев (13 и более), а остальные гаплотипы были представлены только у единичных особей.

Заключение

Для изучения геногеографической структуры популяций дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) на территории Беларуси использованы 6 микросателлитных локусов хпДНК – *mdt1*, *mdt3*, *mdt4*, *ucd4*, *ucd5* и *ukk4*. Выявлены 17 различных гаплотипов, 5 из которых являются доминирующими, а 12 – редкими. Анализ хпДНК методом PCR-RFLP показал, что дуб черешчатый в Беларуси – представитель группы балканского происхождения. Установлено, что распространение гаплотипов по территории страны имеет региональные особенности. Наиболее часто, практически повсеместно, за исключением юго-запада и северо-востока республики, встречается гаплотип № 1. Достаточно широко, в основном на западе страны, представлены гаплотипы № 3 и 7. Гаплотип № 8 главным образом распространен на юго-западе и северо-востоке, а гаплотип № 2 – только на юго-востоке. Совокупность таких микроэволюционных факторов, как миграция, изоляция и мутагенез, обуславливает высокий уровень генетического и формового разнообразия дуба черешчатого. Это позволяет предположить наличие достаточно большого генетического потенциала вида и его способности адаптироваться к изменяющимся условиям среды.

Библиографические ссылки

1. Государственный лесной кадастр Республики Беларусь по состоянию на 01.01.2021 г. [Интернет; процитировано 10 апреля 2021 г.]. Минск: Белгослес; 2021. 88 с. Доступно по: <https://belgosles.by/wp-content/uploads/2021/04/кадастр-РБ-на-1.01.21-1.pdf>.
2. Плетминцева ТИ. *Селекция позднораспускающихся разновидностей дуба черешчатого для массового выращивания*. Москва: ЦНИИТЭИлеспром; 1966. 44 с. (Лесное хозяйство).
3. Селочник НН, Кондрашова НК. Общая оценка состояния древостоев по данным рекогносцировочного и детального лесопатологических обследований. В: Орлов АЯ, Осипов ВВ, редакторы. *Состояние дубрав лесостепи*. Москва: Наука; 1989. с. 138–153.
4. Шутяев АМ. *Биоразнообразие дуба черешчатого и его использование в селекции и лесоразведении*. Воронеж: Истоки; 2000. 336 с.
5. Petit RJ, Csaikl UM, Bordács S, Burg K, Coart E, Cottrell J, et al. Chloroplast DNA variation in European white oaks: phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations. *Forest Ecology and Management*. 2002;156(1–3):5–26. DOI: 10.1016/S0378-1127(01)00645-4.
6. Petit RJ, Brewer S, Bordács S, Burg K, Cheddadi R, Coart E, et al. Identification of refugia and post-glacial colonisation routes of European white oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence. *Forest Ecology and Management*. 2002;156(1–3):49–74. DOI: 10.1016/S0378-1127(01)00634-X.
7. Kremer A, Kleinschmit J, Cottrell J, Cundall EP, Deans JD, Ducousso A, et al. Is there a correlation between chloroplast and nuclear divergence, or what are the roles of history and selection on genetic diversity in European oaks? *Forest Ecology and Management*. 2002;156(1–3):75–87. DOI: 10.1016/S0378-1127(01)00635-1.
8. Olalde M, Herrán A, Espinel S, Goicoechea PG. White oaks phylogeography in the Iberian Peninsula. *Forest Ecology and Management*. 2002;156(1–3):89–102. DOI: 10.1016/S0378-1127(01)00636-3.
9. Csaikl UM, Glaz I, Baliuckas V, Petit RJ, Jensen JS. Chloroplast DNA variation of white oak in the Baltic countries and Poland. *Forest Ecology and Management*. 2002;156(1–3):211–222. DOI: 10.1016/S0378-1127(01)00644-2.
10. Glaz I. Genetic cartography of oaks in Poland using PCR-RFLP markers of the chloroplast DNA. *Glasnik za šumske pokuse: annales experimentis silvarum culturae provehendis*. 2000;37:481–487.
11. Dering M, Lewandowski A, Ufnalski K, Kedzierska A. How far to the east was the migration of white oaks from the Iberian refugium? *Silva Fennica*. 2008;42(3):327–335. DOI: 10.14214/sf.240.



12. Chmielewski M, Meyza K, Chybicki IJ, Dzialuk A, Litkowiec M, Burczyk J. Chloroplast microsatellites as a tool for phylogeographic studies: the case of white oaks in Poland. *iForest – Biogeosciences and Forestry*. 2015;8(6):765–771. DOI: 10.3832/for1597-008.
13. Pliūra A, Rungis D, Baliuckas V. Population structure of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) in Lithuania based on analysis of chloroplast DNA haplotypes and adaptive traits. *Baltic Forestry*. 2009;15(1):2–12.
14. Падутов ВЕ, Баранов ОЮ, Воропаев ЕВ. *Методы молекулярно-генетического анализа*. Минск: Юнипол; 2007. 176 с.
15. Deguilloux MF, Pemonge MH, Bertel L, Kremer A, Petit RJ. Checking the geographical origin of oak wood: molecular and statistical tools. *Molecular Ecology*. 2003;12(6):1629–1636. DOI: 10.1046/j.1365-294X.2003.01836.x.
16. Падутов ВЕ, Баранов ОЮ, Каган ДИ, Ковалевич ОА, Вейнберга ИГ, Бауманис И и др. Анализ генетической структуры и происхождения дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) в Беларуси и Латвии (с целью уточнения лесосеменного районирования). В: *Беларусь – Европейский союз. Каталог Белорусской инновационной недели; 4–5 ноября 2011 г.; Минск, Беларусь*. Минск: [б. и.]; 2011. с. 17–18.
17. Величко АА, Климанов ВА. Климатические условия Северного полушария 5–6 тысяч лет назад. *Известия АН СССР. Серия географическая*. 1990;5:38–52.
18. Попадюк РВ, Чистякова АА, Чумаченко СИ, Евстигнеев ОИ, Заугольнова ЛБ, Истомина ИИ и др. *Восточноевропейские широколиственные леса*. Смирнова ОВ, редактор. Москва: Наука; 1994. 364 с.
19. Денисов АК. Последлениковая динамика северной границы ареала дуба черешчатого в СССР и филогенез дубрав Севера. *Лесоведение*. 1980;1:3–11.
20. Серебрянный ЛР. Динамика распространения некоторых древесных пород на северо-западе СССР в последлениковое время. В: *Палинология голоцена*. Москва: Наука; 1971. с. 5–17.
21. Удра ИФ. *Расселение растений и вопросы палео- и биогеографии*. Киев: Наукова думка; 1988. 200 с.
22. Huntley B, Birks HJB. *An atlas of past and present pollen maps for Europe: 0–13 000 years ago*. Cambridge: Cambridge University Press; 1983. 668 p.
23. Гримашевич ВВ, Маховик ИВ, Левенкова ОВ. Пойменные дубравы Республики Беларусь и их состояние. В: *Проблемы лесоведения и лесоводства. Выпуск 67*. Гомель: Институт леса НАН Беларуси; 2007. с. 37–49.
24. Юркевич ИД. *Дубравы Белорусской ССР и их восстановление*. 2-е издание. Минск: Издательство Академии наук БССР; 1960. 268 с.
25. Хотинский НА. *Голоцен Северной Евразии: опыт трансконтинентальной корреляции этапов развития растительности и климата. К X конгрессу INQUA; 1977; Великобритания*. Москва: Наука; 1977. 200 с.
26. Серебрянная ТА. Влияние человека на растительность Среднерусской возвышенности (по палинологическим данным). В: Динесман ЛГ, редактор. *Антропогенные факторы в истории развития современных экосистем*. Москва: Наука; 1981. с. 52–60 (Современные проблемы биосферы).
27. Хотинский НА. Голоценовые хроносрезы: дискуссионные проблемы палеогеографии голоцена. В: Величко АА, Спаская ИИ, Хотинский НА, редакторы. *Развитие природы территории СССР в позднем плейстоцене и голоцене = Evolution of the environment at the USSR territory during late Pleistocene and Holocene*. Москва: Наука; 1982. с. 142–147.

References

1. [The state forest cadastre of the Republic of Belarus as of 01.01.2021] [Internet; cited 2021 April 10]. Minsk: Belgosles; 2021. 88 p. Available from: <https://belgosles.by/wp-content/uploads/2021/04/кадастр-РБ-на-1.01.21-1.pdf>. Russian.
2. Pletmintseva TI. *Selektsiya pozdnoraspuskayushchikhsya raznovidnostei duba chereschatogo dlya massovogo vyrashchivaniya* [Selection of late blooming varieties of pedunculate oak for mass cultivation]. Moscow: TsNIITEIlesprom; 1966. 44 p. (Lesnoe khozyaistvo). Russian.
3. Selochnik NN, Kondrashova NK. [General assessment of forest stands state according to the reconnaissance and detailed forest pathology surveys]. In: Orlov AYa, Osipov VV, editors. *Sostoyaniye dubrav lesostepi* [State of the oak forests of the forest-steppe]. Moscow: Nauka; 1989. p. 138–153. Russian.
4. Shutyaev AM. *Bioraznoobrazie duba chereschatogo i ego ispol'zovanie v selektsii i lesorazvedenii* [Biodiversity of pedunculate oak and its use in breeding and forestry]. Voronezh: Istoki; 2000. 336 p. Russian.
5. Petit RJ, Csaikl UM, Bordács S, Burg K, Coart E, Cottrell J, et al. Chloroplast DNA variation in European white oaks: phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations. *Forest Ecology and Management*. 2002;156(1–3):5–26. DOI: 10.1016/S0378-1127(01)00645-4.
6. Petit RJ, Brewer S, Bordács S, Burg K, Cheddadi R, Coart E, et al. Identification of refugia and post-glacial colonisation routes of European white oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence. *Forest Ecology and Management*. 2002;156(1–3):49–74. DOI: 10.1016/S0378-1127(01)00634-X.
7. Kremer A, Kleinschmit J, Cottrell J, Cundall EP, Deans JD, Ducouso A, et al. Is there a correlation between chloroplastic and nuclear divergence, or what are the roles of history and selection on genetic diversity in European oaks? *Forest Ecology and Management*. 2002;156(1–3):75–87. DOI: 10.1016/S0378-1127(01)00635-1.
8. Olalde M, Herrán A, Espinel S, Goicoechea PG. White oaks phylogeography in the Iberian Peninsula. *Forest Ecology and Management*. 2002;156(1–3):89–102. DOI: 10.1016/S0378-1127(01)00636-3.
9. Csaikl UM, Glaz I, Baliuckas V, Petit RJ, Jensen JS. Chloroplast DNA variation of white oak in the Baltic countries and Poland. *Forest Ecology and Management*. 2002;156(1–3):211–222. DOI: 10.1016/S0378-1127(01)00644-2.
10. Glaz I. Genetic cartography of oaks in Poland using PCR-RFLP markers of the chloroplast DNA. *Glasnik za šumske pokuse: annales experimentis silvarum culturae provehendis*. 2000;37:481–487.
11. Dering M, Lewandowski A, Ufnalski K, Kedzierska A. How far to the east was the migration of white oaks from the Iberian refugium? *Silva Fennica*. 2008;42(3):327–335. DOI: 10.14214/sf.240.
12. Chmielewski M, Meyza K, Chybicki IJ, Dzialuk A, Litkowiec M, Burczyk J. Chloroplast microsatellites as a tool for phylogeographic studies: the case of white oaks in Poland. *iForest – Biogeosciences and Forestry*. 2015;8(6):765–771. DOI: 10.3832/for1597-008.



13. Pliūra A, Rungis D, Baliuckas V. Population structure of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) in Lithuania based on analysis of chloroplast DNA haplotypes and adaptive traits. *Baltic Forestry*. 2009;15(1):2–12.
14. Padutov VE, Baranov OYu, Voropaev EV. *Metody molekulyarno-geneticheskogo analiza* [Methods of molecular genetic analysis]. Minsk: Yunipol; 2007. 176 p. Russian.
15. Deguilloux MF, Pemonge MH, Bertel L, Kremer A, Petit RJ. Checking the geographical origin of oak wood: molecular and statistical tools. *Molecular Ecology*. 2003;12(6):1629–1636. DOI: 10.1046/j.1365-294X.2003.01836.x.
16. Padutov VE, Baranov OYu, Kagan DI, Kovalevich OA, Veinberga IG, Baumanis I, et al. [Analysis of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) genetic structure and origin in Belarus and Latvia (in order to clarify the forest seed zoning)]. In: *Belarus' – Evropeiskii soyuz. Katalog Belorusskoi innovatsionnoi nedeli; 4–5 noyabrya 2011 g.; Minsk, Belarus'* [Belarus – European Union. Catalog of the Belarusian Innovation Week; 2011 November 4–5; Minsk, Belarus]. Minsk: [s. n.]; 2011. p. 17–18. Russian.
17. Velichko AA, Klimanov VA. [Climatic conditions of the Northern hemisphere 5–6 thousand years ago]. *Izvestiya AN SSSR. Seriya geograficheskaya*. 1990;5:38–52. Russian.
18. Popadyuk RV, Chistyakova AA, Chumachenko SI, Evstigneev OI, Zaugol'nova LB, Istomina II, et al. *Vostochnoevropeiskie shirokolistvennye lesa* [East European hardwood broadleaf forests]. Smirnova OV, editor. Moscow: Nauka; 1994. 364 p. Russian.
19. Denisov AK. [Postglacial dynamics of the northern border of the pedunculate oak range in the USSR and phylogenesis of the oak forests of the North]. *Lesovedenie*. 1980;1:3–11. Russian.
20. Serebryanny LR. [The dynamics of some tree species distribution in the northwest of the USSR in the postglacial time]. In: *Palinologiya golotsena* [Palynology of the Holocene]. Moscow: Nauka; 1971. p. 5–17. Russian.
21. Udra IF. *Rasselenie rastenii i voprosy paleo- i biogeografii* [Plant spread and issues of its paleo- and biogeography]. Kyiv: Naukova dumka; 1988. 200 p. Russian.
22. Huntley B, Birks HJB. *An atlas of past and present pollen maps for Europe: 0–13 000 years ago*. Cambridge: Cambridge University Press; 1983. 668 p.
23. Grimashevich VV, Makhovik IV, Levenkova OV. [Floodplain oak forests of the Republic of Belarus and their state]. In: *Problemy lesovedeniya i lesovodstva. Vypusk 67* [Problems of forestry and forestry. Issue 67]. Gomel: Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus; 2007. p. 37–49. Russian.
24. Yurkevich ID. *Dubravyy Belorusskoi SSR i ikh vosstanovlenie* [Oak groves of the Byelorussian SSR and their restoration]. 2nd edition. Minsk: Publishing House of the Academy of Sciences of the BSSR; 1960. 268 p. Russian.
25. Khotinsky NA. *Golotsen Severnoi Evrasii: opyt transkontinental'noi korrelyatsii etapov razvitiya rastitel'nosti i klimata. K X kongressu INQUA; 1977; Velikobritaniya* [Holocene of Northern Eurasia: experience of transcontinental correlation of stages of vegetation and climate development. Towards the 10th Congress of INQUA; 1977; United Kingdom]. Moscow: Nauka; 1977. 200 p. Russian.
26. Serebryannaya TA. [Human influence on the vegetation of the Central Russian Upland (according to palynological data)]. In: Dinesman LG, editor. *Antropogennyye faktory v istorii razvitiya sovremennykh ekosistem* [Anthropogenic factors in the history of the modern ecosystems development]. Moscow: Nauka; 1981. p. 52–60 (Sovremennyye problemy biosfery). Russian.
27. Khotinsky NA. Holocene chronological levels: problems of the Holocene paleogeography. In: Velichko AA, Spasskaya II, Khotinsky NA, editors. *Evolution of the environment at the USSR territory during late Pleistocene and Holocene*. Moscow: Nauka; 1982. p. 142–147. Russian.

Получена 15.06.2021 / исправлена 15.07.2021 / принята 22.07.2021.
Received 15.06.2021 / revised 15.07.2021 / accepted 22.07.2021.