

УДК 630*165.3:630*17:582.632.2

О. Ю. БАРАНОВ¹, В. Е. ПАДУТОВ¹, Д. И. КАГАН¹, В. М. БАЛЮЦКАС²

**ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПОЛУСИБСОВОГО ПОТОМСТВА
ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО И ДУБА СКАЛЬНОГО РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ
(SSRP-АНАЛИЗ)**

¹Институт леса НАН Беларуси, Гомель, e-mail: forestgen@mail.ru,
²Институт леса Центра аграрных и лесных наук Литвы, н. п. Гирионис

(Поступила в редакцию 03.02.2015)

Введение. Среди лиственных древесных видов представители рода *Quercus* занимают особое место с экономической и экологической точки зрения. Кроме того, дубы являются уникальным модельным объектом для изучения процессов адаптации к различным абиотическим факторам окружающей среды, что связано с широким ареалом их распространения и разнообразием условий произрастания [1].

В Европе наиболее распространенными видами являются дуб черешчатый (*Quercus robur* L.) и дуб скальный (*Quercus petraea* Matt.), формирующие чистые и смешанные древостои, а также присутствующие в насаждениях в виде сопутствующей породы [2]. Несмотря на различные требования к эдафическим условиям и гидрологическому режиму, данные виды способны произрастать совместно, однако распределение деревьев в смешанных насаждениях в большинстве случаев соответствует градиенту влажности и плодородию почвы [3].

Отсутствие строгой репродуктивной изоляции между симпатрическими видами *Q. robur* и *Q. petraea*, как и интенсивный пыльцевой поток, зачастую приводит к образованию фертильных межвидовых гибридов, а также к появлению в ходе дальнейших скрещиваний различных вариантов гибридного потомства [4].

Изучение различных аспектов, связанных с межвидовой гибридизацией дуба черешчатого и дуба скального, представляет интерес в плане получения новых сведений о протекающих в популяциях микроэволюционных процессах, исследования механизмов формирования адаптивной изменчивости, оценки состояния генофондов видов [5]. Практической стороной данного вопроса является использование результатов исследований в ходе разработки и реализации селекционных мероприятий, связанных с получением высокопродуктивных и устойчивых к биотическим и абиотическим факторам среды генотипов. Особая актуальность представленной работы обусловлена усилением процессов массовой деградации и усыхания дубрав, снижением уровня плодоношения и отсутствием естественного возобновления на значительной части ареала дуба [6].

Цель работы – изучение особенностей генетической структуры гибридного потомства *Q. robur*×*petraea* различного происхождения.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования являлись 40 полусибсовых семей *Quercus* различного происхождения, представленные в испытательных культурах. С целью проведения сравнительного анализа все растения были разделены на 6 групп (на основании предварительного исследования морфологических признаков), отражающих таксономическую принадлежность дерева и его материнского растения (P), при этом межвидовые гибриды *Q. robur*×*petraea*

были обозначены как «гибрид»: 1 – *Q. petraea* (P: *Q. petraea*), 2 – *Q. robur* (P: *Q. robur*), 3 – гибрид (P: *Q. petraea*), 4 – гибрид (P: *Q. robur*), 5 – *Q. petraea* (P: гибрид), 6 – гибрид (P: гибрид).

Молекулярно-генетический анализ был выполнен на основании использования SSR-маркеров [7]. Интерпретация результатов, генотипирование образцов, статистическая обработка и расчет основных популяционно-генетических параметров были осуществлены согласно общепринятой системе [8].

Результаты и их обсуждение. На основании данных о частоте встречаемости аллелей изученных SSR-локусов были рассчитаны коэффициенты генетической дистанции [7] между группами и построена дендрограмма (рис. 1), отражающая степень генетико-таксономических взаимоотношений *Q. robur*, *Q. petraea* и гибридных генотипов различного происхождения [9].

Как видно из структуры дендрограммы, кластеризация групп по уровню генетического сходства совпадает с биологическими особенностями каждого из типов потомства. Так, наиболее близкими генетическими структурами характеризуется потомство, идентифицированное по морфологическим признакам к *Q. petraea*, несмотря на различное происхождение. Данное явление, ставшее предметом широкого обсуждения, объясняется особенностями возвратного скрещивания межвидовых гибридов дубов [10]. Исходя из результатов изучения генетической структуры смешанных популяций, предложена модель восстановления (resurrection) *Q. petraea* путем насыщающего скрещивания межвидовых гибридов с деревьями дуба скального. В поддержку данной модели выступает такая биологическая особенность дуба черешчатого и скального, как наличие асимметричного потока генов вследствие ассортативного скрещивания гибридов, т. е. частичного совпадения сроков цветения, предпочтительность оплодотворения межвидовых гибридов дуба пыльцой *Q. petraea* (на стадии прорастания пыльцевых трубок и образования зиготы). В пользу избирательного характера оплодотворения выступает также видимое отсутствие в потомстве, полученном от гибридных материнских растений, индивидов с морфологическими признаками дуба черешчатого.

Одним из базисных элементов функционирования модели, определяющих эффективность насыщающего скрещивания гибридов с *Q. petraea*, является, как отмечают ряд авторов [10, 11], ограниченное количество морфофизиологических признаков, видоспецифичных для дуба скального и дуба черешчатого, и их локализация в нескольких группах сцепления, что позволяет восстанавливать исходные морфотипы в ходе смены поколений. Данная модель также подтверждается отсутствием в смешанных популяциях большого числа промежуточных морфологических форм *Q. robur* и *Q. petraea* при совместном произрастании [11].

Второй кластер представлен гибридами, происходящими от гибридных материнских деревьев и *Q. robur*. В то же время гибриды, полученные от *Q. petraea*, на дендрограмме обособлены отдельно (рис. 1). Данные результаты могут быть объяснены также с точки зрения ассортативного характера скрещивания дуба черешчатого и дуба скального. В ходе анализа результатов реципрокных скрещиваний показано, что вероятность оплодотворения материнских деревьев *Q. robur* как пыльцой *Q. robur*, так и пыльцой *Q. petraea* одинакова. При обратном скрещивании материнские деревья *Q. petraea* опыляются, как правило, мужскими гаметами своего вида, при этом гибридное потомство *Q. petraea* × *robur* является незначительным [12].

С другой стороны, в формировании кариотипа растения обоюдно участвуют как материнский генотип, так и отцовский. В группе 4 гибридные растения, происходящие от материнского растения *Q. robur*, опылялись пыльцой *Q. petraea*. Группа 6, представленная гибридными генотипами,

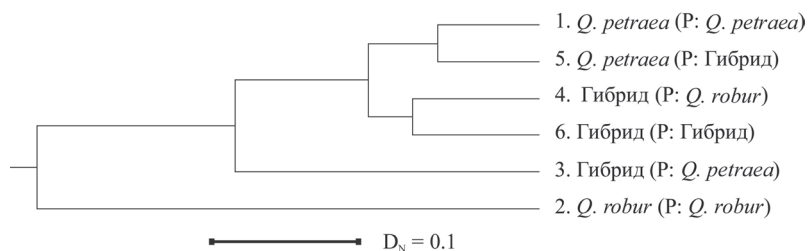


Рис. 1. Уровень генетической дифференциации изученных групп семей

происходящими от гибридных материнских растений, является смешанной, а в качестве отцовской составляющей могут равновероятно выступать гаплотипы *Q. robur* или *Q. petraea*. Группа 3 образована гибридными генотипами, происходящими от *Q. petraea*, а следовательно, в качестве опылителя в данной группе выступал *Q. robur*.

Как указывалось ранее, у материнских деревьев *Q. petraea* существует выраженная в определенной степени репродуктивная изоляция по отношению к *Q. robur*. Для оплодотворения необходима генотипическая совместимость, т. е. к скрещиванию предрасположены определенные варианты генотипов *Q. robur* × *Q. petraea* [12]. Детальный анализ генетической структуры данной группы выявил высокую степень генотипической мономорфности (с аллельными вариантами, свойственными *Q. robur*), что обуславливает большее сходство семей гибридных генотипов с дубом черешчатым и подтверждает предположение о наличии генотипической совместимости при скрещивании *Q. robur* и *Q. petraea*. В то же время ввиду присутствия отцовского гаплотипа в группе 3 данные семьи становятся более близкими по генетической структуре с *Q. petraea*, а смешанная группа 6 занимает при кластеризации промежуточное положение. Наибольшими генетическими различиями, как и следовало ожидать, характеризуются семьи, представленные генотипами, относящимися по морфологическим признакам к *Q. robur* и *Q. petraea*.

Для определения уровня генетического полиморфизма для исследованных групп семей были рассчитаны соответствующие показатели по изученным SSR-локусам. Как видно из структуры диаграммы, представленной на рис. 2, наименьшим уровнем наблюдаемой гетерозиготности характеризуется гибридное потомство, происходящее от исходных видов – *Q. robur* и *Q. petraea*, что, с одной стороны, противоречит биологической концепции процесса гибридизации, а с другой – может быть объяснено ограниченным числом вариантов генотипов, участвующих в скрещивании вследствие наличия репродуктивного барьера (частичное совпадение сроков цветения, програмная несовместимость и др.) [12].

При этом уровень ожидаемой гетерозиготности семей, происходящих от материнских растений *Q. robur*, по сравнению с *Q. petraea* был выше, что дополнительно подтверждает избирательный характер опыления дуба скального.

Исходя из представленных на диаграмме данных (рис. 2), наибольшим уровнем наблюдаемой гетерозиготности среди гибридного потомства характеризуются полусибсовыи семьи, происходящие от гибридных материнских растений. Увеличение доли гетерозиготных деревьев может быть обусловлено большим разнообразием генотипов, участвующих в скрещивании, и высокой репродуктивной пластичностью всей группы в целом.

Группа полусибсовых семей дуба скального, полученных от гибридных материнских растений, была однородна по генетической структуре, что и обусловило сходство значений параметров ожидаемой и наблюдаемой гетерозиготности. Для групп семей, представленных видами *Q. robur* и *Q. petraea*, уровень наблюдаемой гетерозиготности был несколько ниже ожидаемого, что указывает на наличие инбредных процессов, происходящих при естественном опылении.

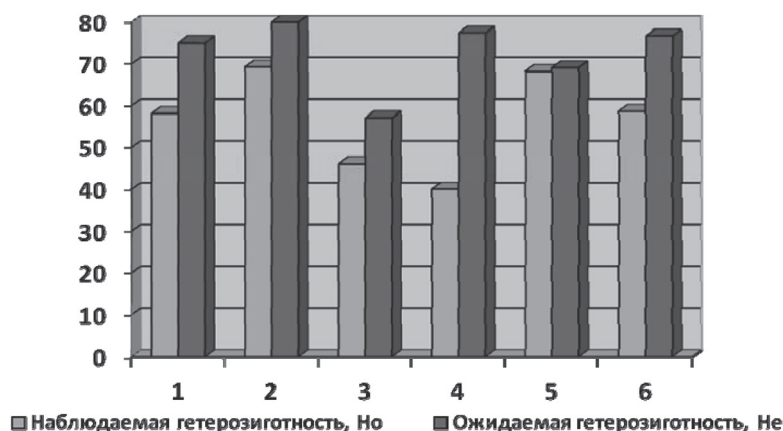


Рис. 2. Уровень гетерозиготности изученных групп семей

Одним из результатов нарушения панмиктического скрещивания в естественных насаждениях является формирование в потомстве генотипической структуры, отличающейся от исходной материнской популяции. Дополнительным фактором, обуславливающим трансформацию генотипической структуры популяций, является интрогрессивная гибридизация, ведущая к появлению новых аллелей, формированию новых аллельных и локусных комбинаций и сочетаний [10].

Изучение генотипической структуры групп семей *Quercus* проводилось по двум направлениям: определение доминирующего состава генотипов в каждой из групп и установление соответствия распределения генотипов равновесию по Харди–Вайнбергу.

На основании данных о частоте встречаемости доминирующих (общих) вариантов генотипов были рассчитаны коэффициенты Эвклидовой дистанции и построена дендрограмма (рис. 3), отражающая степень подобия групп семей *Quercus*.

Как видно из структуры дендрограммы (рис. 3), наибольшим сходством по частоте встречаемости доминирующих генотипов характеризуются семьи, представленные гибридным потомством, происходящим от дуба скального, и наоборот – представленные дубом скальным, происходящим от гибридных материнских деревьев. Далее к кластеру присоединяется группа семей *Q. petraea* (P: *Q. petraea*). Отдельными ветвями по мере уменьшения подобия присоединяются гибрид (P: *Q. robur*) – *Q. robur* (P: *Q. robur*) – гибрид (P: гибрид). В целом, сравнительный анализ структур дендрограмм, полученных при изучении частоты аллелей и генотипов (рис. 1, 3), показал, что направленность кластеризации между ними существенно отличается. В первую очередь это связано с более высоким уровнем разнообразия генотипов по сравнению с аллельным полиморфизмом. Кроме того, использовать при сравнении редкие и уникальные варианты генотипов (общая доля которых достигает до 40 %) не представляется возможным, что в свою очередь оказывает существенное влияние на результаты кластеризации.

Для определения дисбаланса генотипической структуры для каждого варианта были рассчитаны отклонения от теоретически ожидаемых значений [13]. Анализ полученных результатов показал, что наименьшим дисбалансом характеризовались семьи *Q. petraea* (P: *Q. petraea*). Отклонения в частоте встречаемости от расчетных величин для большинства генотипов не превышали 0,5 %. В группе, представленной полусибсовым потомством *Q. robur* (P: *Q. robur*), средний уровень дисбаланса структуры также являлся незначительным (<1,5 %) и был связан в основном с избытком ряда гомозиготных генотипов и недостатком гетерозиготных. Для остальных исследованных групп несоответствие показателей частоты встречаемости генотипических вариантов являлось более значимым, что свидетельствует о доминировании группы определенных комбинаций аллелей в потомстве, а косвенно – об ассортативном характере скрещиваний.

Выводы

Изучение генетической структуры гибридного потомства *Q. robur* × *petraea* различного происхождения позволило заключить следующее:

1. Процессы межвидовой гибридизации дуба черешчатого и дуба скального в смешанных насаждениях протекают не стохастически, а связаны с преодолением репродуктивного барьера, обусловленного, по литературным данным, фенологическими, физиологическими и другими различиями.

2. Судя по асимметричному характеру скрещивания, в ходе интрогрессии участвует ограниченное число вариантов генотипов, что отражается на генетической структуре гибридного потомства в виде более низких значений показателей изменчивости и внутрипопуляционной подразделенности по сравнению с насаждениями исходных видов.

3. Межвидовой поток генов обеспечивается интрогрессивной гибридизацией *Q. robur* и *Q. petraea* и последующими возвратными скрещиваниями гибридов с исходными видами.

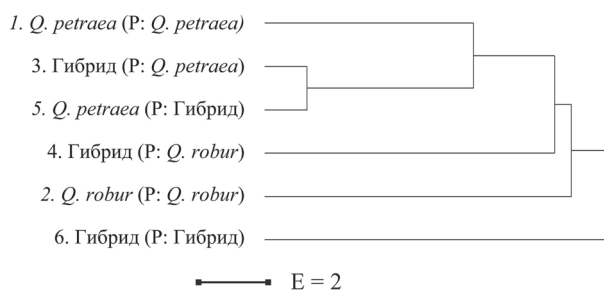


Рис. 3. Кластеризация по уровню сходства генотипических структур групп семей

Литература

1. Gailing O., Vornam B., Leinemann L., Finkeldey R. // *Physiologia Plantarum*. 2009. Vol. 137. C. 509–519.
2. Kleinschmit J., Kleinschmit J. G. R. // *Glasnik za Šumske Pokuse*. 2000. Vol. 37. P. 441–452.
3. Lévy G., Becker M., Duhamel D. // *Forest Ecology and Management*. 1992. Vol. 55. P. 51–63.
4. Bacilieri R., Ducouso A., Petit R. J., Kremer A. // *Evolution*. 1996. Vol. 50. P. 900–908.
5. Petit R. J., Pineau E., Demesure B. et al. // *Proceed. of the Nat. Acad. of Sci. USA*. 1997. Vol. 94. P. 9996–10001.
6. Lorimer C. G. // *Biol. Sci.* 2003. Vol. 53, N 10. P. 915.
7. Падутов В. Е., Баранов О. Ю., Воронаев Е. В. Методы молекулярно-генетического анализа. Минск: Юнипол, 2007. – 176 с.
8. Gillet E. M. 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. Frankfurt. 1999. – 253 p.
9. Nei M. // *Genetics*. 1978. Vol. 89. P. 583–590.
10. Petit R. J., Bodénès C., Ducouso A. et al. // *New Phytologist*. 2003. Vol. 161. P. 151–164.
11. Kremer A., Dupouey J. L., Deans J. D. et al. // *Ann. For. Sci.* 2002. Vol. 59. P. 777–787.
12. Abadie P., Roussel G., Dencausse B. et al. // *J. of Evolutionary Biol.* 2012. Vol. 25, N 1. P. 157–173.
13. Brown A. H. D., Feldman M. W. // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 1981. Vol. 78. P. 5913–5916.

O. Yu. BARANOV, V. E. PADUTOV, D. I. KAGAN, V. M. BALIUCKAS

EVALUATION OF THE GENETIC STRUCTURE OF THE HALF-SIBLING OFFSPRING OF PEDUNCULATE AND SESSILE OAKS OF DIFFERENT ORIGIN (SSRP-ASSAY DATA)

Summary

The object of genetic researching have been family groups of pedunculate (*Quercus robur* L.) and sessile (*Quercus petraea* (Matt.)) oaks of different origin. It was found that the level of genetic variation and subdivision in the hybrid families was lower compared to the families of parental species. Genotypic analysis of the half-sibling offspring showed asymmetric nature of the interspecific hybridization processes of pedunculate and sessile oaks in mixed stands.