

**СЕЛЕКЦІЯ, ДЕНДРОЛОГІЯ**

УДК 630.165.3:575.174

**В. Е. ПАДУТОВ<sup>1</sup>, Д. И. КАГАН<sup>1</sup>, О. Ю. БАРАНОВ<sup>1</sup>, С. И. ИВАНОВСКАЯ<sup>1</sup>,  
О. А. РАЗУМОВА<sup>1</sup>, К. А. ШЕСТИБРАТОВ<sup>2\*</sup>**

**ОЦЕНКА БИОРАЗНООБРАЗИЯ ЛЕСНЫХ НАСАЖДЕНИЙ ЛИСТВЕННЫХ  
ДРЕВЕСНЫХ ВИДОВ НА ОСНОВЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО МАРКИРОВАНИЯ**

1. Институт леса Национальной академии наук Беларуси, Беларусь

2. Филиал Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, РФ

В статье представлены результаты оценки уровня генетической изменчивости, подразделенности и дифференциации лесных насаждений осины (*Populus tremula* L.), березы повислой (*Betula pendula* Roth.) и дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) Беларуси, приграничных восточных регионов и Республики Татарстан с использованием изоферментных, RAPD- и SSR-маркеров. Показано, что проанализированные древесные виды характеризуются широким спектром показателей генетического разнообразия. По данным изоферментного анализа на видовом уровне в целом доля полиморфных локусов ( $P_{99}$ ) варьирует от 0,385 до 0,769, среднее число аллелей ( $A$ ) – от 1,923 до 3,231, наблюдаемая гетерозиготность ( $H_o$ ) – от 0,114 до 0,227, ожидаемая гетерозиготность ( $H_e$ ) – от 0,115 до 0,237. Самые низкие значения  $P_{99}$  и  $A$  выявлены в лесных насаждениях осины,  $H_o$  и  $H_e$  – березы повислой. Для насаждений дуба черешчатого установлен самый высокий уровень генетической изменчивости по всем показателям. На основании ДНК-анализа самые низкие значения генетического разнообразия выявлены в осиновых насаждениях. Проанализированные древесные виды характеризуются низким уровнем подразделенности и дифференциации.  
Ключевые слова: осина, береза повислая, дуб черешчатый, мониторинг, изоферментный анализ, ДНК-анализ, генетическое разнообразие, подразделенность, дифференциация.

**Введение.** Лесные экосистемы характеризуются одним из наиболее высоких уровней биоразнообразия, что обусловлено большим числом лесообразующих пород и вариантов пространственного и возрастного строения древостоев, а также различиями условий произрастания. Сохранение и поддержание биоразнообразия выдвигается в качестве важного критерия устойчивого управления лесами. В связи с этим совершенствование методов оценки и мониторинга биологического разнообразия, представляющего собой систему регулярных наблюдений, позволяющих оценить тенденции его изменения и являющихся основой для прогноза его состояния в будущем, является актуальной задачей.

В настоящее время, наряду с традиционными методами оценки и мониторинга биоразнообразия [3–5], известны методы наземного и дистанционного зондирования лесных насаждений, разработанные на основе ГИС-технологий [9, 10, 14]. Известен способ комплексной оценки лесных экосистем [8] и др. Однако используемые методы, направленные на изучение экосистемного и видового разнообразия, не предусматривают оценку биоразнообразия на генетическом уровне (разнообразие генов и генотипов в популяциях), что может исказить конечные результаты мониторинга лесных насаждений.

Наиболее удобным и информативным инструментом для оценки генетического разнообразия и структуры популяций живых организмов являются методы молекулярно-генетического анализа. Применение молекулярных маркеров на основе изоферментов и полиморфных фрагментов ДНК позволяет с высокой степенью достоверности описывать и дифференцировать генотипы отдельных индивидуумов.

*Цель исследования* – оценка уровня генетической изменчивости, подразделенности и дифференциации лесных насаждений лиственных древесных видов. Объектами исследования являлись насаждения лиственных древесных видов (осина – *Populus tremula* L., береза повислая – *Betula pendula* Roth., дуб черешчатый – *Quercus robur* L.), произрастающие на территории Беларуси, приграничных восточных регионов (Московская и Ленинградская области РФ), Республики Татарстан.

\* © В. Е. Падутов, Д. И. Каган, О. Ю. Баранов, С. И. Ивановская, О. А. Разумова, К. А. Шестибратов, 2016

**Материалы и методы.** Молекулярно-генетический анализ проводился с использованием изоферментного и ДНК-методов. Экспериментальным материалом являлись диплоидные ткани пазушных почек, листьев. Гомогенизация, выделение и гистохимическое окрашивание ферментов осуществлялись в соответствии с общепринятыми методиками [2] с некоторыми модификациями. В табл. 1 приведены ген-ферментные и буферные системы, используемые для анализа исследуемых видов древесных растений.

*Таблица 1*

**Ген-ферментные и буферные системы, используемые для анализа исследуемых лиственных древесных видов (изоферментный анализ)**

Фермент	Аббревиатура	Кодовый номер фермента	Анализируемый вид		
			осина	береза повислая	дуб черешчатый
Аконитаза	ACO	4.2.1.3.	Б	А	–
Аланинаминопептидаза	ALAP	3.4.11.2.	–	Г	А
Алкогольдегидрогеназа	ADH	1.1.1.1.	А	А	А
Глутаматпируваттрансаминаза	GPT	3.4.11.2.	В	–	–
Глюкозофосфатизомераза	GPI	5.3.1.9.	Б	А	А
Диафораза	DIA	1.6.4.3.	В	В	–
Изоцитратдегидрогеназа	IDH	1.1.1.42.	–	В	–
Лейцинаминопептидаза	LAP	3.4.11.1.	В	А	А
Малатдегидрогеназа	MDH	1.1.1.37.	–	В	–
Пероксидаза	PER	1.11.1.7.	–	Г	–
Флюоресцентная эстераза	FL-EST	3.1.1.2.	В	В	Б
Фосфоглюкомутаза	PGM	2.7.5.1.	Б	Б	А
6-Фосфоглюконатдегидрогеназа	6-PGD	1.1.1.44.	–	В	–
Шикиматдегидрогеназа	SKDH	1.1.1.25.	–	–	Б
$\alpha$ -Эстераза	$\alpha$ -EST	3.1.1.1.	–	Г	Г
$\beta$ -Эстераза	$\beta$ -EST	3.1.1.1.	–	–	Г

*Примечание.* А – Трис-ЭДТА-боратная, рН 8,6; Б – Трис-цитратная, рН 6,2; В – Трис-цитратная, рН 6,2/Трис-НСl, рН 8,0; Г – NaOH-боратная/трис-цитратная, рН 8,65.

ДНК-анализ проводили с использованием RAPD- и SSR-маркеров. Выделение ДНК, полимеразную цепную реакцию, электрофоретическое фракционирование и интерпретацию данных осуществляли в соответствии с общепринятыми методиками [6]. Для RAPD-анализа использовали праймеры: осина и береза повислая – Oligo 4, 8, 9; дуб черешчатый – Oligo 4, 16, 28, 31, 32. В SSRP-анализ были включены локусы PTR5, PTR6, PTR8 (осина) и L2.2, L7.8, L10.1 (береза повислая) (табл. 2).

На основании рассчитанных аллельных частот с использованием компьютерных программ BIOSYS-1 [16] и POPGENE [17] определяли значения основных популяционно-генетических параметров.

**Результаты и их обсуждение.** Для оценки уровня генетической изменчивости для каждого из исследованных видов были рассчитаны параметры генетического разнообразия. В табл. 3 и 4 представлены полученные результаты мониторинга лесных насаждений исследованных лиственных видов.

Проанализированные лесообразующие виды исследуемых регионов характеризуются широким спектром показателей генетического разнообразия. По данным изоферментного анализа на видовом уровне в целом доля полиморфных локусов ( $P_{99}$ ) варьирует от 0,385 до 0,769, среднее число аллелей ( $A$ ) – от 1,923 до 3,231, наблюдаемая гетерозиготность ( $H_o$ ) – от 0,114 до 0,227, ожидаемая гетерозиготность ( $H_e$ ) – от 0,115 до 0,237. При этом наблюдается

увеличение средних значений показателей генетического разнообразия в ряду «осина → береза повислая → дуб черешчатый». Исключение составляют  $H_o$  и  $H_e$ , уровень которых для березы повислой самый низкий. Значения гетерозиготностей осины и березы повислой в 2–2,5 раза меньше, чем у дуба черешчатого. Значения показателей полиморфизма в популяциях одного вида могут характеризоваться узким диапазоном варьирования (осина, дуб черешчатый) или различаться более чем в 2–2,5 раза (береза повислая).

Таблица 2

**ДНК-маркеры, используемые для анализа исследуемых лиственных древесных видов**

Локус	Нуклеотидная последовательность праймера	Повторяющаяся последовательность
PTR5	F: GAAAGGATCTGTATAGCCAAC R: ACCACATGGCAGCAATTCTAG	(TG) <sub>7</sub>
PTR6	F: GGCAACCAGCAGCAATCTGAC R: ATGCCCAAGGACGACTAGACC	(AT) <sub>8</sub>
PTR8	F: CTGATTCCTGAGAATGTGAAG R: AGCACTACTCAAGTACACAAG	(A) <sub>11</sub> (CT) <sub>8</sub>
L2.2	F: AGACCATGCCTGGGCCTT R: CGCAACAAAACACGATGAGA	(TC) <sub>8</sub> (TTTC) <sub>2</sub>
L7.8	F: GGCCAACAGATATAAAAACGACG R: TTTTAAATGCCACCTTCCC	(CT) <sub>11</sub> GC(AATG) <sub>2</sub>
L10.1	F: AGCGACCCAATGCAGTTATC R: CCGGCCACTCTTAGGTTTT	(AT) <sub>8</sub>
Oligo 4	CAAACGGCAC	–
Oligo 8	CGCCCCATT	–
Oligo 9	AGGCCGCTTA	–
Oligo 16	GCCCCTCGTC	–
Oligo 28	GTTTCGCTCC	–
Oligo 31	CCCGTCAGCA	–
Oligo 32	CCGCAGCCAA	–

Таблица 3

**Усредненные значения и диапазон варьирования основных показателей генетической изменчивости лесных насаждений лиственных древесных видов Беларуси, приграничных восточных регионов, Республики Татарстан (изоферментный анализ)**

Вид	$P_{95}$	$P_{99}$	$A$	$A_{1\%}$	$H_e$	$H_o$
Осина	<u>0,385*</u> 0,250–0,385	<u>0,385</u> 0,417–0,462	<u>1,923</u> 1,677–1,692	<u>1,615</u> 1,677–1,692	<u>0,147</u> 0,135–0,136	<u>0,129</u> 0,124–0,124
Береза повислая	<u>0,400</u> 0,222–0,611	<u>0,650</u> 0,333–0,667	<u>2,500</u> 1,333–2,000	<u>2,150</u> 1,333–2,000	<u>0,115</u> 0,071–0,171	<u>0,114</u> 0,072–0,179
Дуб черешчатый	<u>0,615</u> 0,538–0,692	<u>0,769</u> 0,692–0,846	<u>3,231</u> 2,231–3,154	<u>2,462</u> 2,231–2,385	<u>0,237</u> 0,217–0,243	<u>0,227</u> 0,215–0,251

\* Над чертой – в целом для вида, под чертой – варьирование показателя в насаждениях.

*Примечание.*  $P_{95}$  – доля полиморфных локусов (при частоте общего аллеля локуса не более 95 %);  $P_{99}$  – доля полиморфных локусов (при частоте общего аллеля локуса не более 99 %);  $A$  – среднее число аллелей на локус;  $A_{1\%}$  – среднее число нередких аллелей на локус;  $H_e$  – ожидаемая гетерозиготность;  $H_o$  – наблюдаемая гетерозиготность.

На основании ДНК-анализа установлены более высокие значения показателей генетического разнообразия по сравнению с изоферментным, что может быть объяснено локализацией RAPD- и SSR-маркеров в некодирующих участках генома. Для березы повислой, как и в случае изоферментного анализа, сохраняется широкий диапазон варьирования показателей генетического разнообразия между популяциями. Показано, что из трех проанализированных древесных видов осина характеризуется наименьшими

средними значениями показателей полиморфизма. Исключение составляют лишь уровни ожидаемой гетерозиготности ( $H_{eL}$  и  $H_e$ ) при SSRP-анализе, которые в осиновых насаждениях сопоставимы с таковыми в березовых. Использование RAPD-маркеров, в отличие от изоферментного анализа, позволило установить для березы повислой и дуба черешчатого сходный уровень генетического разнообразия. Более значимые различия выявляются при сравнении показателей полиморфизма, полученных разными методами ДНК-анализа. Так, значения основных параметров генетической изменчивости при SSRP-анализе, кроме доли полиморфных локусов, оказались более высокими по сравнению с результатами исследования RAPD-локусов. Особенно хорошо это видно на примере средних чисел аллелей на SSR-локус осины и березы, значения которых в 5,5 раз выше, чем в случае RAPD-анализа, и уровне ожидаемой гетерозиготности. В целом самые высокие значения показателей генетического разнообразия выявляются с использованием SSRP-анализа. Так, например, для проанализированных насаждений осины уровень  $H_e$ , установленный с использованием SSR-маркеров, превышал средние значения показателя, рассчитанные на основе RAPD- и изоферментного анализа, в 3,5 и 5,5 раз соответственно, а также в 2,5 раза был выше таковых, полученных ISSR- и IRAP-методами для деревьев осины Пермского края (0,274 и 0,262 соответственно) [1].

Таблица 4

**Усредненные значения и диапазон варьирования основных показателей генетической изменчивости лесных насаждений лиственных древесных видов Беларуси, приграничных восточных регионов, Республики Татарстан (RAPD- и SSRP-анализ)**

Вид	$P_{99}$	$A$	$n_e$	$I$	$H_{eL}^*$	$H_{oL}^*$	$H_e$
<b>RAPD</b>							
Осина	<u>0,750</u> ** 0,375–0,625	<u>1,750</u> 1,375–1,625	<u>1,278</u> 1,191–1,320	<u>0,322</u> 0,187–0,306	–	–	<u>0,197</u> 0,121–0,200
Береза повислая	<u>1,000</u> 0,444–0,889	<u>2,000</u> 1,444–1,889	<u>1,577</u> 1,235–1,754	<u>0,527</u> 0,209–0,574	–	–	<u>0,348</u> 0,138–0,404
Дуб черешчатый	<u>1,000</u> 0,857–0,964	<u>2,000</u> 1,857–1,964	<u>1,580</u> 1,480–1,593	<u>0,511</u> 0,210–0,554	–	–	<u>0,345</u> 0,289–0,350
<b>SSRP</b>							
Осина	<u>1,000</u> 0,667–1,000	<u>8,667</u> 2,667–5,667	<u>3,831</u> 1,870–3,698	<u>1,583</u> 0,569–1,384	<u>0,718</u> 0,311–0,785	<u>0,396</u> 0,333–0,467	<u>0,709</u> 0,295–0,707
Береза повислая	<u>1,000</u> 1,000–1,000	<u>11,000</u> 4,667–6,333	<u>5,735</u> 3,151–4,805	<u>1,712</u> 1,187–1,625	<u>0,713</u> 0,601–0,811	<u>0,609</u> 0,533–0,714	<u>0,701</u> 0,568–0,760

\* Наблюдаемая ( $H_{eL}$ ) и ожидаемая ( $H_{oL}$ ) гетерозиготности рассчитаны по Leven's (1949) [12].

\*\* Над чертой – в целом для вида, под чертой – варьирование показателя в насаждениях.

Примечание.  $n_e$  – эффективное число аллелей;  $I$  – индекс Шеннона.

Интересно отметить, что в проанализированных насаждениях осины выявлен достаточно низкий уровень наблюдаемой гетерозиготности ( $H_{oL} = 0,396$ ) по сравнению с ожидаемой ( $H_{eL} = 0,718$ ). Полученные данные могут быть объяснены способностью осины к формированию порослевых насаждений, когда древостои представлены клонами одного генотипа (дерева) (эффект основателя), что необходимо учитывать при проведении мониторинга лесных насаждений древесного вида. Среднее значение ожидаемой гетерозиготности (SSRP-анализ) в изученных нами насаждениях осины было выше таковых, установленных для популяций данного вида другими исследователями [11, 13, 15], наблюдаемой – ниже (исключение – порослевые насаждения юга и северо-востока Финляндии [15]).

Для получения количественной оценки подразделенности и дифференциации использованы коэффициенты  $F$ -статистики Райта и  $G$ -статистики Неи, показатель интенсивности генного потока и генетической дистанции Неи (табл. 5).

Проанализированные древесные виды характеризуются низким уровнем подразделенности (на долю межпопуляционного разнообразия приходится от 0,8 до 3,0 % (изоферментный анализ), от 7,0 до 8,0 % (SSRP), от 7,6 до 28,2 % (RAPD) внутривидовой генетической изменчивости) и дифференциации (коэффициенты генетической дистанции варьируют от 0,7 до 0,8 % (изоферментный анализ), от 12,1 до 15,8 % (SSRP), от 4,3 до 14,4 % (RAPD)). В насаждениях осины выявлен самый высокий дефицит гетерозиготных деревьев (изоферментный анализ:  $F_{IS} = 0,021$ ,  $F_{IT} = 0,028$ ; SSRP-анализ:  $F_{IS} = 0,319$ ,  $F_{IT} = 0,374$ ), а также низкий уровень подразделенности (RAPD:  $G_{ST} = 28,2\%$ ) и дифференциации (SSRP:  $D_N = 15,8\%$ ). В то же время известны случаи, когда популяции осины могут характеризоваться высоким уровнем подразделенности, при котором доля межпопуляционного разнообразия составляет более 50 % [7]. Между проанализированными насаждениями наблюдается интенсивный обмен генами, что обеспечивает сходство генофондов популяций исследованных видов.

Таблица 5

**Усредненные значения показателей генетической подразделенности и дифференциации лесных насаждений лиственных древесных видов Беларуси, приграничных восточных регионов, Республики Татарстан**

Вид	$F_{IS}$	$F_{IT}$	$F_{ST}$	$H_T$	$H_S$	$D_{ST}$	$G_{ST}$	$N_{em}$	$D_N$
<b>Изоферментный анализ</b>									
Осина	0,021	0,028	0,008	0,147	0,144	0,003	0,009	7,750	0,008
Береза повислая	-0,020	0,011	0,030	0,108	0,104	0,004	0,032	8,000	0,007
Дуб черешчатый	0,014	0,026	0,012	0,237	0,233	0,004	0,014	7,850	0,007
<b>RAPD</b>									
Осина	–	–	–	0,216	0,155	0,061	0,282	1,273	0,091
Береза повислая	–	–	–	0,352	0,258	0,094	0,267	1,373	0,144
Дуб черешчатый	–	–	–	0,345	0,318	0,027	0,076	6,100	0,043
<b>SSRP</b>									
Осина	0,319	0,374	0,080	–	–	–	–	2,874	0,158
Береза повислая	0,070	0,135	0,070	–	–	–	–	3,330	0,121

*Примечание.*  $F_{IS}$  – коэффициент инбридинга особи относительно популяции;  $F_{IT}$  – коэффициент инбридинга особи относительно вида в целом;  $F_{ST}$  – коэффициент инбридинга популяции относительно всего вида;  $H_T$  – общее генетическое разнообразие;  $H_S$  – внутривидовое генетическое разнообразие;  $D_{ST}$  – межпопуляционное генетическое разнообразие;  $G_{ST}$  – доля межпопуляционного разнообразия;  $N_{em}$  – интенсивность генного потока;  $D_N$  – генетическая дистанция Неи.

Установлено, что включение в анализ насаждений, в составе которых весомую долю могут составлять индивидуумы с одинаковыми генотипами (например, порослевые насаждения осины), значительно влияет на конечные результаты дифференциации. Так, среднее значение генетической дистанции между насаждениями осины семенного происхождения ( $D_N = 15,8\%$ ) возрастает более чем в 5 раз при включении в анализ порослевых насаждений ( $D_N = 90,5\%$ ).

**Выводы.** Установлено, что лесные насаждения осины, березы повислой и дуба черешчатого Беларуси, приграничных восточных регионов (Московская и Ленинградская области РФ), Республики Татарстан характеризуются широким спектром показателей генетического разнообразия. По данным изоферментного анализа самые низкие значения  $P_{99}$  и  $A$  выявлены в лесных насаждениях осины,  $H_o$  и  $H_e$  – березы повислой. Для насаждений дуба черешчатого установлен самый высокий уровень генетической изменчивости по всем показателям. На основании ДНК-анализа (RAPD и SSRP) показано, что осина характеризуется наименьшими средними значениями показателей полиморфизма. Между проанализированными насаждениями наблюдается интенсивный обмен генами, что обеспечивает сходство генофондов популяций изученных древесных видов.

В целом лиственные древесные виды исследуемых регионов относятся к группе растений со средним (осина, береза повислая) и высоким (дуб черешчатый) уровнем изменчивости, низким уровнем подразделенности и дифференциации.

**СПИСОК ЛІТЕРАТУРЫ:**

1. Боронникова С. В. Изучение генетического полиморфизма *Populus tremula* L. с использованием ISSR и IRAP маркеров / С. В. Боронникова, Т. Н. Светлакова, И. В. Бобошина // Аграрная Россия. – 2009. – № 2. – С. 20–22.
2. Гончаренко Г. Г. Руководство по исследованию хвойных видов методом электрофоретического анализа изоферментов / Г. Г. Гончаренко, В. Е. Падутов, В. В. Потенко. – Гомель : Полеспечать, 1989. – 164 с.
3. Заугольнова Л. Б. Параметры мониторинга биоразнообразия лесов России на федеральном и региональном уровнях / Л. Б. Заугольнова, Л. Г. Ханина // Лесоведение. – 2004. – № 3. – С. 3–14.
4. Лебедева Н. В. Биоразнообразие и методы его оценки : учеб. пособие / Н. В. Лебедева, Н. Н. Дроздов, Д. А. Криволицкий. – М. : Изд-во Моск. ун-та, 1999. – 95 с.
5. Моисеев Б. Н. Предложения по оценке и мониторингу биоразнообразия при проведении лесоустройства и инвентаризации лесов [Электронный ресурс] / Б. Н. Моисеев, М. М. Паленова // Электрон. журн. BioDat. – Режим доступа: <http://biodat.ru/doc/lib/moiseev4.htm>.
6. Падутов В. Е. Методы молекулярно-генетического анализа / В. Е. Падутов, О. Ю. Баранов, Е. В. Воропаев. – Минск : Юнипол, 2007. – 176 с.
7. Светлакова Т. Н. Генетическая дифференциация популяций *Populus tremula* L. в Пермском крае на основании полиморфизма ISSR-маркеров / Т. Н. Светлакова, И. В. Бобошина, Ю. С. Нечаева, С. В. Боронникова // Аграрный вестник Урала. – 2012. – № 3. – С. 11–13.
8. Способ комплексной оценки состояния лесных экосистем в районах техногенного воздействия промышленных объектов [Электронный ресурс] : пат. RU 2489846 Рос. Федерация : МПК7 G01N33, A01G23 / В. А. Егорушкин, Л. М. Соболева, Д. И. Нартов, В. П. Иванов, С. И. Марченко, Ю. В. Иванов, И. Н. Глазун ; заявитель и патентообладатель Брян. гос. инж.-техн. акад. – № 2011138109/13 ; заявл. 16.09.11 ; опубл. 10.05.13. – Режим доступа: <http://www.findpatent.ru/patent/248/2489846.html>.
9. Черненко Т. В. Оценка биоразнообразия лесов наземными и дистанционными методами на основе ГИС-технологий / Т. В. Черненко // Биосфера. – 2009. – Т. 1, № 1. – С. 93–100.
10. A method for determining the risk of forest destruction, and a method for forest management [Electronic resource] : pat. EP2631866A1 EUR : G06Q 40/08 / Brander S. ; UPM-Kymmene Corporation. – № 13397502.9 ; filing 21.02.13 ; publ. 28.08.13, Bul. 2013/35. – Available from: <https://data.epo.org/publication-server/pdf-document?pn=2631866&ki=A1&cc=EP>.
11. Hall D. Adaptive population differentiation in phenology across a latitudinal gradient in European Aspen (*Populus tremula* L.): A comparison of neutral markers, candidate genes and phenotypic traits / D. Hall, V. Luquez, V. M. Garcia et al. // Evolution. – 2007. – Vol. 61. – P. 2849–2860.
12. Levene H. On a matching problem arising in genetics // Ann. Math. Statist. – 1949. – Vol. 20. – P. 91–94.
13. Lexer C. Barrier to gene flow between two ecologically divergent *Populus* species, *P. alba* (white poplar) and *P. tremula* (European aspen): The role of ecology and life history in gene introgression / C. Lexer, M. F. Fay, J. A. Joseph et al. // Mol. Ecol. – 2005. – Vol. 14. – P. 1045–1057.
14. Method for estimating forest inventory [Electronic resource] : pat. 20080046184 A1 US : G06F 19/00 / Z. Bortolot, J. P. McTague (US). – № US 11/505.189 ; filing 16.08.06 ; publ. 21.02.08. – Available from: <https://www.google.com/patents/US20080046184>.
15. Suvanto L. I. Clone identification and clonal structure of the European aspen (*Populus tremula*) / L. I. Suvanto, T. B. Latva-Karjanmaa // Mol. Ecol. – 2005. – Vol. 14. – P. 2851–2860.
16. Swofford D. L. BIOSYS-1: a FORTRAN program for the comprehensive analysis of electroforetic data in population genetics and systematic / D. L. Swofford, R. B. Selander // J. Hered. – 1981. – Vol. 72. – P. 281–283.
17. Yeh F. C. POPGENE Version 1.32: Microsoft Windows-based freeware for population genetic analysis / F. C. Yeh, R. Yang, T. Boyle, Z. Ye, J. X. Mao. – Edmonton: Univ. of Alberta, 1999. – 28 p.

Padutov V. E.<sup>1</sup>, Kagan D. I.<sup>1</sup>, Baranov O. Yu.<sup>1</sup>, Ivanovskaya S. I.<sup>1</sup>, Razumova O. A.<sup>1</sup>, Shestibratov K. A.<sup>2</sup>  
BIODIVERSITY MONITORING OF FOREST STANDS OF DECIDUOUS SPECIES BASED ON MOLECULAR MARKING

1. The Institute of Forest of the National Academy of Sciences of Belarus, Belarus

2. The Branch of the M. M. Shemyakin & Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Russian Federation

In the article the results of the level of genetic variation assessment, subdivision and differentiation of forest stands of European aspen (*Populus tremula* L.), silver birch (*Betula pendula* Roth.) and English oak (*Quercus robur* L.) on the territory of Belarus, its eastern border regions and the Republic of Tatarstan are presented. The

investigation was conducted by using isozyme, RAPD- and SSR-markers. It was shown that the analyzed tree species are characterized by wide range of indicators of genetic diversity. According to isozyme analysis at the species level the share of polymorphic loci ( $P_{99}$ ) ranges from 0.385 to 0.769, the average number of alleles ( $A$ ) ranges from 1.923 to 3.231, observed heterozygosity ( $H_o$ ) ranges from 0.114 to 0.227, expected heterozygosity ( $H_e$ ) ranges from 0.115 to 0.237. The lowest values of  $P_{99}$  and  $A$  are revealed in forest stands of European aspen. The lowest values of  $H_o$  and  $H_e$  are revealed for silver birch stands. English oak stands are characterized by the highest level of genetic variation on all indicators. Based on the DNA analysis the lowest values of the genetic diversity are revealed in aspen stands. Analyzed tree species are characterized by low levels of subdivision and differentiation.

**Key words:** European aspen, silver birch, English oak, monitoring, isoenzyme analysis, DNA analysis, genetic diversity, subdivision, differentiation.

Падутов В. С.<sup>1</sup>, Каган Д. І.<sup>1</sup>, Баранов О. Ю.<sup>1</sup>, Івановська С. І.<sup>1</sup>, Разумова О. О.<sup>1</sup>, Шестібратов К. О.<sup>2</sup>

**ОЦІНКА БІОРИЗНОМАНІТТЯ ЛІСОВИХ НАСАДЖЕНЬ ЛИСТЯНИХ ДЕРЕВНИХ ВИДІВ НА ОСНОВІ МОЛЕКУЛЯРНОГО МАРКУВАННЯ**

1. Інститут лісу Національної академії наук Білорусі, Білорусь

2. Філія Інституту біоорганічної хімії ім. академіків М. М. Шемякіна і Ю. А. Овчиннікова Російської академії наук, РФ

У статті подані результати оцінки рівня генетичної мінливості, підрозділеності і диференціації лісових насаджень осики (*Populus tremula* L.), берези повислої (*Betula pendula* Roth.) і дуба звичайного (*Quercus robur* L.) Білорусі, прикордонних східних регіонів, Республіки Татарстан з використанням ізоферментних, RAPD- і SSR-маркерів. Показано, що проаналізовані деревні види характеризуються широким спектром показників генетичного різноманіття. За даними ізоферментного аналізу на видовому рівні в цілому частка поліморфних локусів ( $P_{99}$ ) варіює від 0,385 до 0,769, середнє число алелей ( $A$ ) – від 1,923 до 3,231, наявна гетерозиготність ( $H_o$ ), – від 0,114 до 0,227, очікувана гетерозиготність ( $H_e$ ) – від 0,115 до 0,237. Найнижчі значення  $P_{99}$  і  $A$  виявлено в лісових насадженнях осики,  $H_o$  і  $H_e$  – берези повислої. Для насаджень дуба черешчатого встановлено найвищий рівень генетичної мінливості за всіма показниками. На підставі ДНК-аналізу найнижчі значення генетичної різноманітності виявлено в осикових насадженнях. Проаналізовані деревні види характеризуються низьким рівнем підрозділеності і диференціації.

**Ключові слова:** осика, береза повисла, дуб звичайний, моніторинг, ізоферментний аналіз, ДНК-аналіз, генетична різноманітність, підрозділеність, диференціація.

*E-mail:* forestgen@mail.ru; quercus-belarus@mail.ru; betula-belarus@mail.ru; isozyme@mail.ru

*Одержано редколегією:* 14.11.2016