

ОТ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Четвертый номер «Сибирского лесного журнала» тематический, в нем представлены материалы первого Международного совещания-семинара «Молекулярная генетика в практике лесного хозяйства: состояние, проблемы и перспективы применения», состоявшегося в мае 2014 г. в Москве на базе Российского центра защиты леса при поддержке Федерального агентства лесного хозяйства.

Журнал открывается вступительной статьей В. В. Солдатовой и К. В. Крутовского (Российский центр защиты леса и Институт общей генетики РАН, Геттингенский университет, Научно-образовательный центр геномных исследований Сибирского федерального университета, Техасский агро-механический университет). Авторы отмечают, что проведение данного совещания вызвано необходимостью анализа современного состояния и консолидации производственного, вузовского и академического направлений лесной генетической науки с целью успешного решения задач по развитию лесной генетики, геномики и биотехнологии и внедрения соответствующих технологий в лесное хозяйство.

Представленный в номере материал состоит из четырех разделов. Первый из них «Общие вопросы лесной молекулярной генетики и биотехнологии» включает в себя пять статей.

Статья К. В. Крутовского (Институт общей генетики РАН, Геттингенский университет, Германия, Научно-образовательный центр геномных исследований Сибирского федерального университета, Техасский агро-механический университет, США) посвящена перспективам использования геномных исследований в лесном хозяйстве. Полное секвенирование, сборка и аннотация генома хвойных позволят понять эволюцию этого очень непростого и древнего генома, имеющего гигантский размер, который, например, у сосен в 7–9 раз превышает геном человека. Геномные исследования позволят разработать высокоинформативные молекулярно-генетические маркеры, которые могут быть эффективно использованы для определения происхождения древесины, изучения и мониторинга генетической изменчивости хвойных лесов, их адаптации к изменению климата и для создания селекционных и природоохранных программ.

В статье В. Е. Падутова, О. Ю. Баранова, Д. И. Кагана, О. А. Ковалевич, М. Я. Острикова, С. В. Пантелеева, С. И. Ивановской и Д. В. Кулагина представлены результаты молекулярно-

генетических исследований, выполненных сотрудниками Института леса Национальной академии наук Беларуси, приведены примеры их практического использования в лесном хозяйстве Беларуси.

Е. А. Шилкина, Н. В. Орешкова, А. А. Ибе, К. О. Дейч и К. В. Крутовский (Филиал Российского центра защиты леса – Центр защиты леса Красноярского края, Институт леса СО РАН, Институт общей генетики РАН, Геттингенский университет, Германия, Научно-образовательный центр геномных исследований Сибирского федерального университета, Техасский агро-механический университет, США) представили итоги разработки цитоплазматических SSR-маркеров для исследований сосны кедровой сибирской (*Pinus sibirica* Du Tour). Разработаны три хлоропластных и один митохондриальный ДНК-маркеры для генотипирования сосны кедровой сибирской. По результатам генотипирования 60 деревьев из двух популяций полиморфными оказались один хлоропластный и один митохондриальный локусы.

Статья Л. И. Милютинина (Институт леса СО РАН) посвящена актуальным проблемам взаимосвязи генетических и селекционных исследований лесных древесных растений. В частности, анализируются недостатки изучения изоэнзимного и ДНК-полиморфизма. Обсуждаются задачи, направленные на объединение исследований лесных генетиков и селекционеров.

А. И. Видякин (Институт биологии Коми научного центра УрО РАН) обобщил основные результаты феногеографических исследований популяционно-хорологической структуры сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) на Русской равнине, в Южном Зауралье и наметил возможные направления их применения в практике лесного хозяйства России. Автором даны рекомендации по использованию картосхем пространственного расположения популяций при разработке лесосеменного районирования вида. Предложена система лесоводственно-хозяйственных мероприятий по восстановлению генетической изменчивости и эволюционно-генетических процессов в популяциях.

В составе второго раздела «Применение методов молекулярной генетики для решения фундаментальных и прикладных задач лесной энтомологии и фитопатологии» три статьи.

Статья Т. С. Алимовой, В. А. Сиволапова, Н. А. Карпеченко, О. К. Шишкиной, С. В. Панте-

леева, О. А. Ковалевич (Российский центр защиты леса, Филиал Российского центра защиты леса – Центр защиты леса Воронежской области, Институт леса Национальной академии наук Беларуси) знакомит с результатами применения методов молекулярной генетики для обнаружения фитопатогенов в лесных насаждениях и питомниках России, в том числе ризины волнистой (*Rhizina undulata* Fr.) и корневой губки (*Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref). Обсуждаются перспективы сокращения сроков исследования, возможности проведения массовых обследований и преимущества использования ДНК-анализа для ранней диагностики заболеваний растений без выделения патогена в чистую культуру.

В статье О. Ю. Баранова (Институт леса Национальной академии наук Беларуси) рассмотрены перспективы диагностики болезней древесных растений современными методами молекулярной фитопатологии. Наиболее достоверным автор считает метагеномный подход, основанный на анализе комплекса возбудителей, включая непатогенную микрофлору, и предлагает использование мультикопийных универсальных локусов, характеризующихся некоторыми преимуществами при определении таксономической принадлежности инфекционных агентов в ходе молекулярно-фитопатологического анализа.

Статья С. В. Пантелеева и О. Ю. Баранова (Институт леса Национальной академии наук Беларуси) посвящена аспектам применения молекулярно-генетических методов в диагностике видового состава микромицетов в тканях насекомых с целью выяснения их роли в качестве переносчиков возбудителей основных заболеваний древесных видов в лесных питомниках. Авторами установлено, что насекомые являются одним из потенциальных факторов переноса и распространения ряда фитопатогенных грибов, в частности представителей родов *Cladosporium* и *Alternaria*.

Третий раздел номера «Применение методов молекулярной генетики для изучения объектов лесного генетико-селекционного комплекса» включает в себя пять статей.

Коллектив авторов А. И. Сиволапов, Д. В. Политов, О. С. Машкина, М. М. Белоконь, В. А. Сиволапов, Ю. С. Белоконь, Т. М. Табацкая (Воронежская государственная лесотехническая академия, Институт общей генетики РАН, Воронежский государственный университет, Филиал Российского центра защиты леса – Центр защиты леса Воронежской области, Всероссийский НИИ лесной генетики, селекции и биотехнологии)

представил результаты цитологических, лесоводственно-селекционных исследований и ДНК-анализа полиплоидных тополей. У клонов тополя изучены продуктивность, числа хромосом, проведены подбор и тестирование микросателлитных локусов для генетической паспортизации посадочного материала. Исследование показало высокую эффективность диагностики видов, индивидуальных генотипов и клонов внутри видов и гибридов на основе генных маркеров полиморфизма микросателлитной ДНК.

С. И. Ивановская (Институт леса Национальной академии наук Беларуси) дает оценку эффективности использования объектов постоянной лесосеменной базы для сохранения генофонда сосны обыкновенной в Беларуси. Исследования, проведенные ею на основе метода электрофоретического анализа изоферментов, выявили, что практически все проанализированные плюсовые насаждения, генетические резерваты, лесосеменные плантации I порядка, географические культуры и до 71.5 % лесосеменных плантаций II порядка сохраняют уровень средней гетерозиготности, характерный для сосны обыкновенной в Беларуси. Автор делает вывод, что в ходе плантационного и популяционного семеноводства можно при повышении продуктивности создаваемых лесных культур обеспечить сохранение видового генофонда.

В. Е. Падутов, А. И. Сидор, Д. И. Каган, О. А. Ковалевич, С. Н. Верас (Институт леса Национальной академии наук Беларуси) знакомят читателей с результатами генетического анализа митохондриального (мтДНК) и хлоропластного (хпДНК) геномов 27 климатипов ели европейской в географических культурах (Чериковский лесхоз, Беларусь). Выяснено, что проанализированные климатипы представлены бореальным и карпатским гаплотипами мтДНК. Первый из них встречается во всех регионах произрастания климатипов (Приуральский, Северо-Западный, Центральный, Прибалтийский, Белорусский, Юго-Западный), второй – только на территории Белорусского и Юго-Западного. Причем уровень полиморфизма хпДНК значительно выше по сравнению с мтДНК. Для ряда аллелей локусов хпДНК обнаружена клинальная изменчивость по частотам их встречаемости. Кроме того, отдельные гаплотипы хпДНК ели европейской подобно гаплотипам мтДНК могут быть представлены как во всех регионах исследованной части ареала, так и на отдельных его территориях.

В. В. Тараканов, Л. И. Кальченко, К. Г. Зацепина, А. К. Экарт и Д. Н. Шуваев (Западно-Сибирский филиал Института леса СО РАН, Фили-

ал Российского центра защиты леса – Центр защиты леса Алтайского края) в своем исследовании описывают результаты поэтапной паспортизации деревьев на объектах генетико-селекционного комплекса сосны обыкновенной. На клоновых плантациях сосны *Pinus sylvestris* L. в Алтайском крае, включающих около 1.5 тыс. деревьев 118 клонов, паспортизация осуществлена в 3 этапа: лесоводственный (предварительный), фенетический (основной) и молекулярно-генетический (уточняющий). Точность фенетической паспортизации составила 97.1 %. Заключительный этап паспортизации осуществлялся с учетом выявленных «фенетических кластеров» внутри клонов. Внутри кластеров сопоставлялись одно- и многораменные (смешанные) образцы, которые при отсутствии ошибок в маркировке деревьев должны показывать идентичные результаты. Показано, что способ поэтапной паспортизации позволяет сократить затраты на применение дорогостоящих методов молекулярной генетики в несколько раз.

Статья А. В. Константинова и С. В. Пантелеева (Институт леса Национальной академии наук Беларуси) посвящена молекулярно-генетическому анализу линий соматоклональных генотипов березы повислой и березы гибридной. Соматоклональная изменчивость, возникающая в процессе культивирования микрорастений древесных растений *in vitro*, является потенциальным источником расширения генетического разнообразия. Для исследования отобраны 20 линий регенерантов клонов березы повислой и гибридной, отличающихся рядом морфологических особенностей и интенсивностью органогенеза. Для подтверждения соматоклональной природы изменчивости и составления генетических паспортов линий березы использовали набор из пяти праймеров. Среди образцов, полученных на основе клона гибридной березы (№ 52-84/8), изменения RAPD-спектров обнаружены по праймерам UBC-106 и UBC-254. Линии клона березы повислой (№ 6-161/3) различались по праймерам UBC-268 и UBC-154. По праймеру UBC-203 различий не выявлено.

Последний раздел журнала «Применение методов молекулярной генетики для оценки генетической гетерогенности популяций основных лесобразующих видов» представлен пятью статьями.

К. В. Крутовский, Н. В. Орешкова, Ю. А. Путинцева, А. А. Ибе, К. О. Дейч, Е. А. Шилкина (Институт общей генетики РАН, Геттингенский университет, Германия, Научно-образовательный центр геномных исследований Сибирского федерального университета, Техасский агро-ме-

ханический университет, США, Институт леса СО РАН, Филиал Российского центра защиты леса – Центр защиты леса Красноярского края) анализируют и обсуждают предварительные результаты полногеномного *de novo* секвенирования лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) и сосны кедровой сибирской (*Pinus sibirica* Du Tour). В результате секвенирования ядерной ДНК сибирской лиственницы и сосны кедровой сибирской с помощью высокопроизводительного секвенатора Illumina HiSeq2000 и последующей первичной обработки данных для лиственницы получено 2 906 977 265 высококачественных парноконцевых нуклеотидных сиквенсов (чтений) генома и просеквенировано (прочитано) 576 млрд пар нуклеотидных оснований (п. н. о.), что соответствует 48-кратной длине генома лиственницы, равного 12.03 млрд п. н. о., а для кедра получено 3 427 566 813 чтений генома (679 млрд п. н. о.), что соответствует 29-кратной длине генома кедра (23.6 млрд п. н. о.). Этих данных пока недостаточно для полной сборки и аннотации данных геномов, но полученные нуклеотидные сиквенсы уже позволили обнаружить и разработать эффективные высокополиморфные молекулярно-генетические маркеры, микросателлитные локусы, необходимые для популяционно-генетических исследований и идентификации происхождения древесины. Также продолжаются исследования однонуклеотидных полиморфизмов (так называемых «снийпов»). Кроме того, геномные исследования российских бореальных лесов и связанных с ними фитопатогенов позволят обнаружить биомаркеры для решения важных научных и хозяйственных задач по сохранению лесных генетических ресурсов и селекции более устойчивых к заболеваниям и неблагоприятным факторам среды пород с ускоренным ростом и улучшенной древесиной.

А. К. Экарт, С. А. Семерикова, В. Л. Семериков, А. Н. Кравченко, О. С. Дымшакова, А. Я. Ларионова (Институт леса СО РАН и Институт экологии растений и животных УрО РАН) на основании анализа изменчивости изоферментных и микросателлитных локусов ядерной и хлоропластной ДНК получили данные о степени дифференциации ряда популяций ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.), включая изолированные популяции, расположенные на острове Ольхон, в заповеднике Богд-Уул (Монголия) и на юге Магаданской области. Показано, что совместное использование разных типов генетических маркеров дает возможность получить более полную и объективную информацию о генетическом

разнообразии и внутривидовой дифференциации этого широко распространенного в Сибири вида.

Статья Н. В. Орешковой (Институт леса СО РАН) посвящена внутривидовой генетической дифференциации лиственницы Каяндера (*Larix cajanderi*) на северо-востоке Азии. Исследование внутривидовой генетической дифференциации с помощью восьми ядерных микросателлитных локусов проведено в Магаданской области и на полуострове Камчатка. SSR-анализ выявил высокий уровень генетического разнообразия. Значительные генетические различия между выборками из Магаданской области и Камчатки указывают на раннюю изоляцию лиственницы на полуострове.

В статье И. В. Тихоновой, В. Л. Семерикова, С. А. Семериковой, О. С. Дымшаковой и К. Г. Зацепиной (Институт леса СО РАН и Институт экологии растений и животных УрО РАН) исследовано влияние величины выборки на результаты оценок генетического разнообразия популяций сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) по изменчивости 12 полиморфных локусов изоферментов и четырех микросателлитных локусов (срSSR). Установлено, что увеличение выборки до 100 деревьев и более на популяцию приводит к существенному увеличению показателей разнообразия как по числу аллелей и генотипов, так и гаплотипов хлоропластной ДНК (микросателлитных локусов срSSR), к сокращению межпопуляционных генетических дистанций Nei без существенного изменения параметров, характеризующих генетическую структуру вида. Стандартные объемы выборок позволяют адекватно оценить популяционную генетическую структуру вида, но недостаточны для изучения его внутривидовой популяционной дифференциации.

В заключительной статье раздела И. Ю. Адрианова (Биолого-почвенный институт ДВО РАН) описаны результаты исследований методом RAPD генетической изменчивости и дифферен-

циации 10 популяций лиственниц Камчатки, Сахалина и Курил. На основе анализа 319 RAPD локусов, полученных с использованием девяти произвольных праймеров, показано, что камчатские выборки характеризуются более высокими показателями генетической изменчивости ($H_e = 0.172$, $P_{95} = 43.0\%$) по сравнению с сахалинскими и итурупскими выборками ($H_e = 0.142$, $P_{95} = 39.5\%$ и $H_e = 0.143$, $P_{95} = 41.1\%$ соответственно). Выявлена значительная генетическая подразделенность популяций лиственниц Сахалина ($G_{ST} = 0.24$) и Камчатки ($G_{ST} = 0.25$). Обнаружена достоверная корреляция генетических и географических дистанций между выборками ($r = 0.68$, $p < 0.005$).

Завершается четвертый номер «Сибирского лесного журнала» текстом Резолюции первого Международного совещания-семинара «Молекулярная генетика в практике лесного хозяйства: состояние, проблемы и перспективы применения», в которой отмечается, что актуальность совещания обусловлена бурным развитием методов молекулярной генетики и биотехнологий, объединение которых с традиционными подходами и внедрение в практику лесного хозяйства позволят интенсифицировать процесс генетико-селекционного улучшения лесов, обеспечат повышение эффективности государственного лесопатологического мониторинга и государственного мониторинга воспроизводства лесов. Приоритетными направлениями развития признаны разработка единых методов генотипирования лесных биологических объектов на основе общих молекулярно-генетических маркеров и создание единой популяционно-генетической базы по основным древесным породам.

Главный редактор журнала
А. А. Онучин