

УДК 581.961

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ НЕТРАНСКРИБИРУЕМЫХ СПЕЙСЕРОВ 5S РДНК У НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ТОПОЛЕЙ СЕКЦИИ TACAMACHACA SPACH

¹Александров О.С., ¹Карлов Г.И., ²Сорокин А.Н., ¹Евтухов А.В.

¹Центр молекулярной биотехнологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва,
e-mail: olegandrov@gmail.com;

²Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, Москва, e-mail: a_n_sorokin@mail.ru

Были изучены нетранскрибируемые спейсеры 5S рДНК у пяти видов тополей секции *Tacamachaca* Spach. На матрице ДНК *Populus suaveolens* Fisch., *Populus koreana* Rehd. и *Populus komarovii* Ja. Vassil. ex Worosch. амплифицировался один фрагмент длиной 517 п.о. В случае с *Populus maximowiczii* A. Henry амплифицировалось два фрагмента длиной 517 и 555 п.о. Паттерн *Populus laurifolia* Ledeb. включал фрагменты 517 и 495 п.о. Полученные результаты косвенно подтверждают справедливость объединения *Populus suaveolens* Fisch., *Populus koreana* Rehd. и *Populus komarovii* Ja. Vassil. ex Worosch. в один вид (*Populus suaveolens* Fisch.) и опровергают включение в него *Populus maximowiczii* A. Henry.

Ключевые слова: таксономия, бальзамические тополя, 5S рДНК, ПЦР

COMPARATIVE ANALYSIS OF 5S RDNA NON-TRANSCRIBED SPACERS IN SOME POPLAR SPECIES OF TACAMACHACA SPACH. SECTION

¹Alexandrov O.S., ¹Karlov G.I., ²Sorokin A.N., ¹Evtukhov A.V.

¹Centre for molecular biotechnology RSAU-MTAA named by K.A. Timiryazev, Moscow,
e-mail: olegandrov@gmail.com;

²N.V. Tsitsin Main Botanic Garden of RAS, Moscow, e-mail: a_n_sorokin@mail.ru

5S rDNA non-transcribed spacers (NTS) were studied in five species of *Tacamachaca* Spach. section. One fragment 517 b.p. in length was amplified on DNA matrix of *Populus suaveolens* Fisch., *Populus koreana* Rehd. and *Populus komarovii* Ja. Vassil. ex Worosch. In the case with *Populus maximowiczii* A. Henry two fragments 517 and 557 b.p. in length were amplified. Pattern of *Populus laurifolia* Ledeb. include 517 and 495 b.p. fragments. These results indirectly confirm the validity of the *Populus suaveolens* Fisch., *Populus koreana* Rehd. and *Populus komarovii* Ja. Vassil. ex Worosch. association to one species (*Populus suaveolens* Fisch.) and refute the inclusion of *Populus maximowiczii* A. Henry.

Keywords: taxonomy, balsam poplars, 5S rDNA, PCR

Род *Populus* L. на протяжении многих лет остаётся одним из наиболее проблемных с точки зрения таксономических отношений. Очень распространено выделение внутри данного рода нескольких секций: *Turanga* Bge., *Leucoides* Spach., *Aigeiros* Daby, *Tacamachaca* Spach., *Populus* (син. *Leuce* Daby). Бальзамические тополя (секция *Tacamachaca* Spach.) произрастают достаточно широко в лесах Северной Америки и Восточной Азии (в том числе и российского Дальнего Востока). Некоторые виды *Tacamachaca* Spach. (*Populus suaveolens* Fisch., *Populus laurifolia* Ledeb. и др.) часто используются в селекции. Таксономические отношения между отдельными видами бальзамических тополей многократно пересматривались. По мнению Скворцова и Беляниной, описанные ранее дальневосточные виды *Populus suaveolens* Fisch., *Populus koreana* Rehd., *Populus komarovii* Ja. Vassil. ex Worosch., *Populus maximowiczii* A. Henry *Populus ussuriensis* Kom. и *Populus baikalensis* Kom. следует считать одним видом – *Populus*

suaveolens Fisch. [2]. К сходным выводам склоняются и другие исследователи [4, 7]. Однако ранее Ворошилов предложил внутри *Populus suaveolens* Fisch. выделять subsp. *maximowiczii* (A. Henry) Tatew. (*N. maximowiczii* A. Henry, *P. suaveolens* var. *latiolia* Gombocz, *P. ussuriensis* Kom., *Populus komarovii* Ja. Vassil. ex Worosch.). Кроме этого он выделял в качестве самостоятельных видов *Populus koreana* Rehd. и *Populus amurensis* Kom. [3]. Нужно отметить, что эти и многие другие таксономические предложения выдвигались на основании морфологических признаков, которые достаточно вариабельны даже в рамках одного дерева.

Представители рода *Populus* L. в настоящее время активно изучаются с молекулярно-генетической точки зрения, прежде всего, предпринимаются попытки установления их филогенетических отношений с помощью ДНК-штрихкодирования [6]. Однако имеющиеся на данный момент результаты не позволяют однозначно разрешить проблему вида *Populus suaveolens* Fisch.

Среди множества локусов, используемых для установления таксономических взаимоотношений, весьма перспективными являются нетранскрибируемые спейсеры (NTS) 5S рДНК. Кластеры 5S рДНК устроены достаточно просто: консервативные кодирующие 120-нуклеотидные участки разделены нетранскрибируемыми спейсерами, которые часто являются видоспецифичными. К изучению NTS 5S рДНК прибегали при видовой характеристике в таких таксонах, как *Brassicaceae*, *Pinaceae*, *Poaceae*, *Solanaceae*, и др. У некоторых представителей рода *Populus* L. также проводилось изучение NTS 5S рДНК [8, 10] и отмечался полиморфизм как по длине NTS среди видов, так и по нуклеотидному составу. Из видов бальзамических тополей, рассматриваемых в вышеупомянутой статье Скворцова и Беляниной [2], были изучены NTS 5S рДНК только у *Populus maximowiczii* A. Henry [10].

В связи с этим целью настоящей работы явилось изучение NTS 5S рДНК у видов *Populus suaveolens* Fisch., *Populus koreana* Rehd., *Populus komarovii* Ja. Vassil. ex Worosch. и некоторых других. На основании полученных результатов предлагается пересмотреть некоторые ранее опубликованные выводы относительно таксономических взаимоотношений между представителями данной группы бальзамических тополей.

Материалы и методы исследования

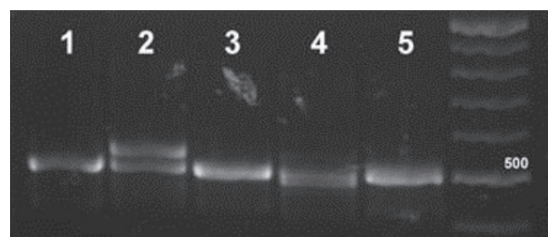
Материал видов *Populus suaveolens* Fisch., *Populus koreana* Rehd., *Populus komarovii* Ja. Vassil. ex Worosch., *Populus maximowiczii* A. Henry и *Populus laurifolia* Ledeb. (молодые листья) был предоставлен отделом дендрологии ГБС РАН им. Н.В. Цицина.

Для амплификации NTS 5S рДНК использовались праймеры 5S1/5S2 [5]. Программа проведения ПЦР была модифицирована: 94°C – 5 мин; 30 циклов: 94°C – 20 с, 60°C – 20 с, 72°C – 20 с.; 72°C – 10 мин. Разделение продуктов ПЦР проводилось в 1,5% агарозном геле при 5 В/см. Детекция результатов и фотографирование осуществлялось с помощью системы гель-документирования Gel Doc™ XR System (Bio-Rad, США).

Результаты исследования и их обсуждение

Нетранскрибируемые спейсеры 5S рДНК были амплифицированы у пяти видов тополей секции *Tacamahaca* Spach. (*Populus suaveolens* Fisch., *Populus koreana* Rehd., *Populus komarovii* Ja. Vassil. ex Worosch., *Populus maximowiczii* A. Henry и *Populus laurifolia* Ledeb.) (рисунок). Анализ электрофоретического разделения продуктов ПЦР выявил, что у трёх видов (*Populus suaveolens* Fisch., *Populus koreana* Rehd. и *Populus komarovii* Ja. Vassil. ex Worosch.)

амплифицируется один фрагмент длиной 517 п.о. Этот фрагмент присутствовал также в паттернах *Populus maximowiczii* A. Henry и *Populus laurifolia* Ledeb. Однако у *Populus maximowiczii* A. Henry кроме данного фрагмента амплифицировался ещё один фрагмент длиной 555 п.о. Паттерн *Populus laurifolia* Ledeb. состоял из фрагмента длиной 517 п.о. и второго фрагмента длиной 495 п.о. Поскольку система праймеров 5S1/5S2 [5] подразумевает амплификацию фрагментов на 99 п.о. больше NTS, то длина NTS у *Populus suaveolens* Fisch., *Populus koreana* Rehd. и *Populus komarovii* Ja. Vassil. ex Worosch. равна 416 п.о., у *Populus maximowiczii* A. Henry – 416 п.о. и 456 п.о., у *Populus laurifolia* Ledeb. – 416 п.о. и 396 п.о. В общем, NTS у изучаемой группы бальзамических тополей сходны по длине с описанными ранее NTS других представителей *Populus* L. [10].



Результаты амплификации NTS 5S рДНК у пяти видов тополей секции *Tacamahaca* Spach. 1 – *Populus suaveolens* Fisch., 2 – *Populus maximowiczii* A. Henry, 3 – *Populus koreana* Rehd., 4 – *Populus laurifolia* Ledeb., 5 – *Populus komarovii* Ja. Vassil. ex Worosch

Факт совпадения NTS у видов *Populus suaveolens* Fisch., *Populus koreana* Rehd. и *Populus komarovii* Ja. Vassil. ex Worosch. косвенно подтверждает мнение, высказанное Скворцовым и Беляниной [2], о том, что все эти тополя стоит относить к одному виду – *Populus suaveolens* Fisch. Также это позволяет согласиться со Скворцовым и Беляниной, что выделение *Populus koreana* Rehd. в качестве самостоятельного вида, предложенное Ворошиловым [3], скорее всего не верно. Однако отличие по количеству фрагментов в паттернах NTS между *Populus suaveolens* Fisch. и *Populus maximowiczii* A. Henry явно ставит под сомнение справедливость объединения этих двух тополей в один вид, как предлагают Скворцов и Белянина [2]. В то же время различия между *Populus suaveolens* Fisch. и *Populus laurifolia* Ledeb., показанные Скворцовым и Беляниной [2] на основании морфологических признаков,

полностью подтверждаются и данными о паттернах NTS.

Наличие двух фрагментов в паттернах NTS у *Populus maximowiczii* A. Henry и *Populus laurifolia* Ledeb. косвенно свидетельствует ещё и о том, что это виды гибридного происхождения. К выводам подобного рода пришли авторы, изучавшие NTS у *Vitis vinifera* L. [5], *Salix* × *fragilis* 'bullata' [1], гибридов *Salmo salar* L. × *Salmo trutta* L. [9] и др. Кроме того, поскольку в паттернах *Populus maximowiczii* A. Henry и *Populus laurifolia* Ledeb. присутствуют фрагменты размером 517 п.о., соответствующие NTS *Populus suaveolens* Fisch., то можно предположить, этот вид является для них одним из родительских.

Список литературы

1. Александров О.С., Карлов Г.И., Сорокин А.Н. Молекулярно-генетический анализ нетранскрибируемых спейсеров 5S рДНК у *Salix* × *fragilis* 'bullata' // Материалы Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Ботанические сады: от фундаментальных проблем до практических задач» (Екатеринбург, 7–10 октября 2014 г.). Екатеринбург, 2014. – С. 8.
2. Скворцов А.К., Белянина Н.Б. О бальзамических тополях (*Populus* section *Tacamahaca*, *Salicaceae*) на востоке Азиатской России // Бот. журн. – 2006. – Т. 91, № 8. – С. 1244–1252.
3. Ворошилов В.Н. Определитель растений совестного Дальнего Востока. – М.: Наука, 1982. – 672 с.
4. Eckenwalder J.E. Systematics and evolution of *Populus*. In: Stettler R.F., Bradshaw H.D., Heilman P.E., Hinckler T.M. Biology of *Populus* and its implications for management and conservation. – Ottawa: Canadian Government Publishing, P. 7–32.
5. Falistocco E., Passeri V., Marconi G. Investigations of 5S rDNA of *Vitis vinifera* L.: sequence analysis and physical mapping // Genome. – 2007. – Vol. 50, № 10. – P. 927–938.
6. Feng J., Jiang D., Shang H., Dong M., Wang G., He X., Zhao C., Mao K. Barcoding Poplars (*Populus* L.) from Western China // Plos One. – 2013. – Vol. 8, № 8. – e71710.
7. Greenaway W., English S., May J., Whatley F.R. Analysis of phenolics of bud exudates of *Populus koreana*, *Populus maximowiczii* and *Populus suaveolens* by GC-MS Z. // Naturforsch. – 1992. – Vol. 47. – P. 313–317.
8. Negi M.S., Rajagopal J., Chauhan N., Cronn R., Lakshmikumaran M. Length and sequence heterogeneity in 5S rDNA of *Populus deltoides* // Genome. – 2002. – Vol. 45, № 6. – P. 1181–1188.
9. Pendás A.M., Mórán P., Martínez J.L., García-Vázquez E. Applications of 5S rDNA in Atlantic salmon, brown trout, and in Atlantic salmon × brown trout hybrid identification // Mol. Ecol. – 1995. – Vol. 4, № 2. – P. 275–276.
10. Wilson N. Genome analysis of *Populus* species: assessment of genetic diversity of *P. deltoides*, characterization of wide hybrids and phylogenetic analysis using molecular markers. – New Delhi: Teri University, 2013. – 177 p.