

Projekta zinātniskā atskaite

Latvijas un Baltkrievijas parastā ozolu (*Quercus robur* L.) populāciju ģenētiskās struktūras un izcelsmes analīze

Ievads

Projekta mērķis bija izpētīt un salīdzināt Latvijas un Baltkrievijas ozola izcelsmi un ģenētisko struktūru, noteikt kopējos haplotipus un to izplatību. Ozoli ir sena kokaugu suga, kas agrāk plaši augusi Latvijas teritorijā, aizņemot apm. 10% no kopējās mežu platības Patlaban mūsu valstī ir reģistrēti tikai dažas saglabājušas ozolu audzes, kas sastāda nedaudz vairāk par 0,1% no kopējās meža platības. Ozolu audzes tika izcirstas 18-19gs, galvenokārt Pētera I laikā, kuģu būvei. Rezultātā pat nedaudzās saglabājušas audzēs, izcērtot taisnākos un bezzarainākos ozolus ir praktiski notikusi negatīvā selekcija. Latvijā ir arī vairākas ozolu audzes, kuras stādītas ar ievesto sēklu materiālu (piem. Skrīveros), bet diemžēl to ģenētiskā izcelsme nav zināma. Lai atjaunotu Latvijas ozolu audzes, saglabājot bioloģisko un ģenētisko daudzveidību, kas nodrošinātu to ilglaicīgu attīstību, ir sevišķi mainīgajos klimatiskos apstākļos nepieciešams apzināt labākās saglabājušās ozolu audzes, noteikt to ģenētisko daudzveidību un izcelsmi. Ir svarīgi novērtēt arī introducēto ozolu adaptāciju Latvijas klimatiskiem apstākļiem un noteikt to ģenētisko izcelsmi. Lai varētu izmantot Baltkrievijas ozola materiālu Latvijā, ir nepieciešams novērtēt Baltkrievijas ozola materiāla adaptīvo potenciālu un ražīgumu, Latvijas augšanas apstākļos, un noskaidrot vispiemērotākās proveniences ozola populācijas atjaunošanai Latvija

Otrajā projekta etapa veicamie uzdevumi:

1. Latvijas ozolu audžu un dižkoku identificēšana Latvijas austrumu zonā. raksturošana pēc to saimnieciski svarīgām īpašībām (taisnums, zarainība utt.), materiāla ievākšana DNS izdalīšanai.
2. Austrumu zonas ozolu DNS analīze ar PCR-RFLP hloroplasta DNS marķieriem, audzes dominējošo haplotipu noteikšana, atsevišķu ozola dižkoku haplotipu identifikācija.
3. Latvijas ozolu DNS analīze ar papildus hloroplasta SSR marķierim, lai palielinātu izšķirtspēju Latvijas audzēs, kā arī salīdzinoši ar Baltkrievijas ozoliem.
3. Latvijas un Baltkrievijas ozolu audžu ģenētiskās radniecības analīze, radniecīgu haplotipu atlase turpmākam selekcijas darbam. Datu sagatavošana publicēšanai, un rakstu sagatavošana.

Materiāls

Latvijā nav saglabājušās liela apjoma vienlaidus ozolu audzes, tāpēc materiāls DNS izdalīšanai tika vākts sekojoši :

Latvijas rietumu un centrālā zonā pēc iespējas pilnīgāk apm. 30 km attālumā viens no otra meža audzēs tika identificēti atsevišķi ozoli, fenotipiski noteikts to vecums, augstums, diametrs, taisnums un zarainība. No katra indivīda tika paņemtas nobriedušas lapas DNS izdalīšanai.

Kā atsevišķas tika izdalītas atrastās dabīgās ozolu birzes, kur katrā tika identificēti 5 - 30 indivīdi. Tika ievākti arī rajonā esošo ozolu dižkoku paraugi.

Kopumā ozolu paraugi ievākti 41 ievākšanas vietās (179 paraugi)

DNS izdalīšana

DNS tika izdalīts pēc pirmā etapa atskaitē aprakstītās metodikas

Ozola hloroplasta DNS marķieru analīze.

Ozola hloroplasta DNS marķieri tika analizēti pēc pirmā etapa atskaitē aprakstītās metodikas. Ozolu paraugi analizēti ar pieciem hloroplasta marķieriem: mdt1, mcd4, mkk4, mdt3, mdt4. 1. tabulā redzams atrasto alēļu skaits.

1. tabula

Marķieris	mdt1	mcd4	mkk4	mdt3	mdt4
Alēļu skaits	2	3	4	5	5

Ar analizētiem ozola hloroplasta marķieriem atrastais alēļu skaits Latvijas ozolu paraugos.

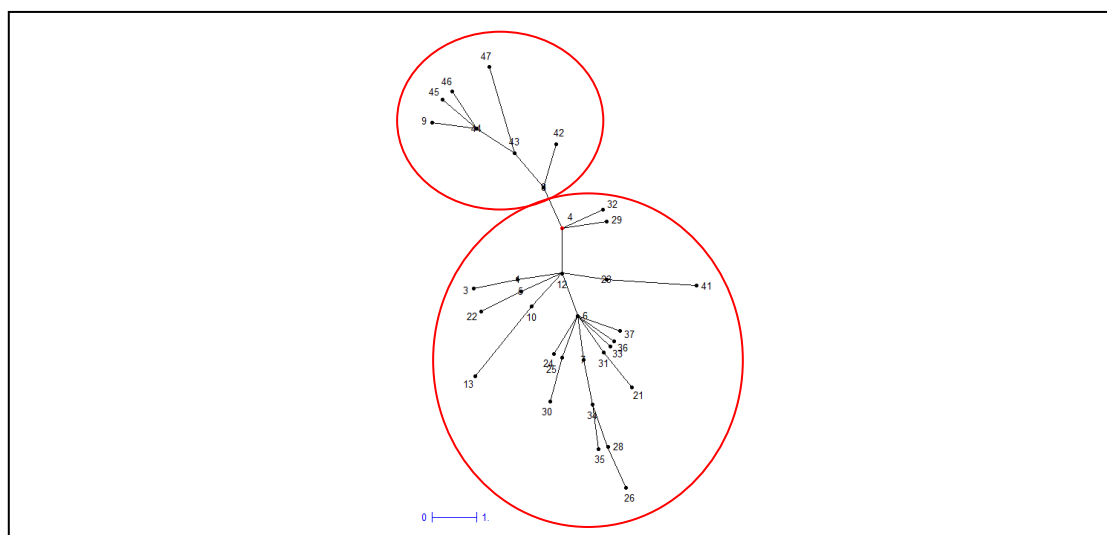
Tālākai analīzei hloroplasta genotipi tika sakombinēti haplotipos. No 436 analizētiem Latvijas ozola indivīdiem tika identificēti 30 atšķirīgi haplotipi (2. tabula). Iegūtie haplotipi tika salīdzināti ar Baltkrievijas ozolu haplotipiem. Vairākums haplotipu bija ar zemu frekvenci (<5%). No 30 identificētiem haplotipiem, tikai 6 bija ar frekvenci >5%: 4; 6; 25; 33; 34; 44. Analizēto dižozolu haplotipi nebija atšķirīgi no citiem atrastiem haplotipiem, un nebija iespējams ģenētiski diferencēt dižozolus no citiem Latvijas ozolu indivīdiem un audzēm.

2. tabula

Haplotips	mkk4	mdt1	mdt3	mdt4	mcd4	frekvence
1	112	87	126	146	100	0.004
4	112	87	124	146	100	0.109
5	112	87	127	146	100	0.013
6	112	87	125	146	100	0.325
7	112	87	125	146	101	0.007
10	112	87	123	145	100	0.009
12	112	87	123	146	100	0.002
21	112	86	125	145	100	0.007
22	112	86	127	146	100	0.004
23	111	87	123	146	100	0.002
24	113	87	125	146	100	0.004
25	110	87	125	146	100	0.050
26	110	86	124	146	101	0.004
28	110	86	125	146	101	0.013
29	110	87	124	146	100	0.028
30	110	87	126	146	100	0.004
31	112	87	125	145	100	0.013
32	112	86	124	146	100	0.022
33	112	86	125	146	100	0.059
34	112	86	125	146	101	0.059
35	112	86	125	148	101	0.004

36	112	87	125	144	100	0.002
37	112	87	125	148	100	0.002
41	111	87	122	146	101	0.002
42	112	87	124	147	99	0.002
43	112	87	124	147	101	0.013
44	113	87	124	147	101	0.185
45	113	87	124	146	101	0.017
46	113	86	124	147	101	0.031
47	112	89	124	145	101	0.002

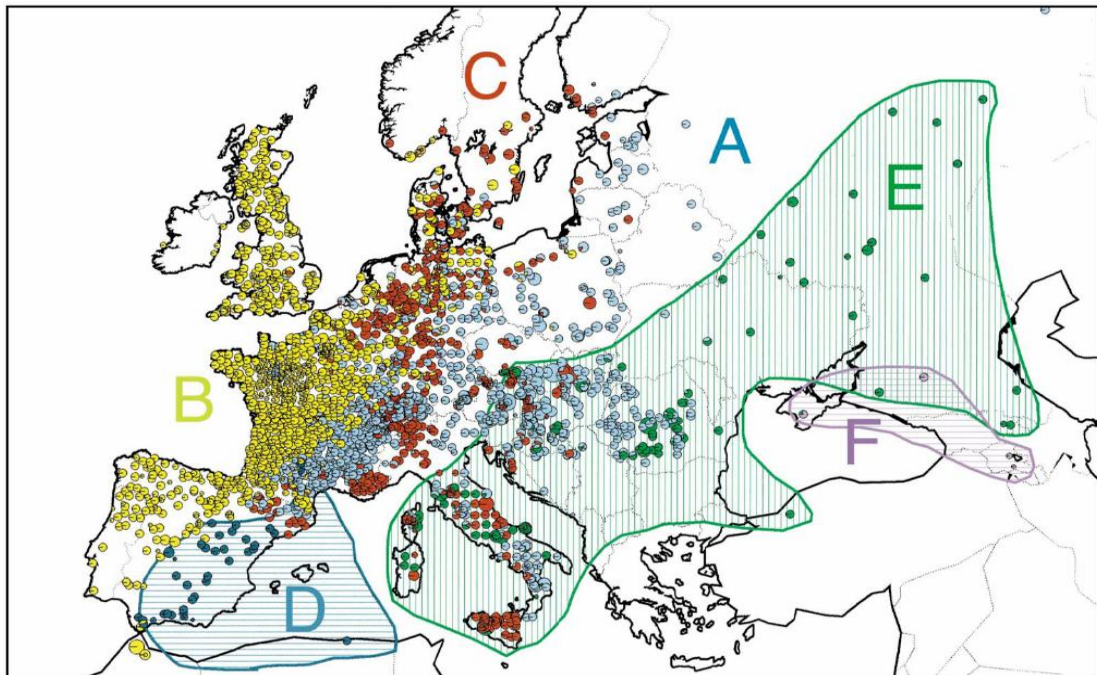
Ģenētiskie attālumi starp katra haplotipa tika izrēķināti, un attēloti dendrogrammā, kas uzrāda ģenētisko grupējumu un radniecību starp haplotipiem (1. attēls). Haplotipus var sadalīt divās ģenētiskās grupās. Lielākā grupa (attēla apakšdaļa), satur visus sastopamākos Baltkrievijas haplotipus, kā arī lielāko daļu Latvijas haplotipus. Otrā, mazākā grupa satur tikai vienu dominējošo haplotipu no Latvijas (44), kā arī 5 retos haplotipus no Latvijas un vienu reto haplotipu, kas ir tikai atrodams Baltkrievijā.



1. attēls. Latvijas ozola haplotipa ģenētiskās radniecības dendrogramma.

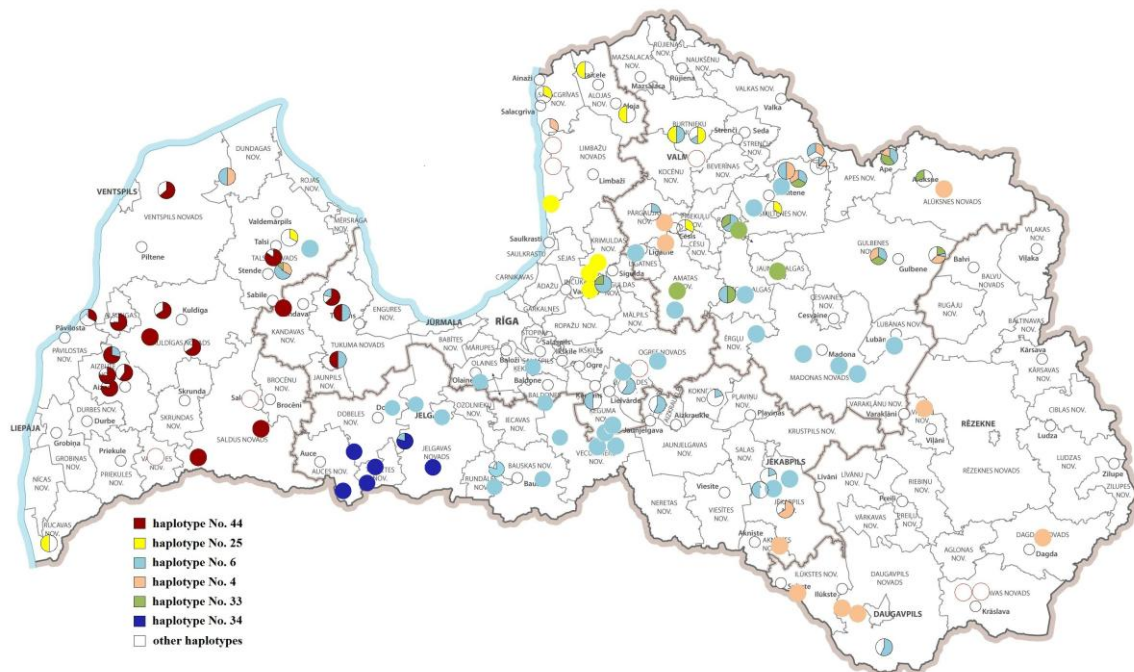
PCR-RFLP hloroplasta analīze

Lai būtu iespējams salīdzināt iegūtos datus ar citiem pētījumiem, īpaši plašo pētījumu par ozola haplotipiem visā Eiropas mērogā (Petit et al, 2002), bija nepieciešams analizēt paraugus ar tiem pašiem marķieriem, kuri bija izmantoti iepriekšējos pētījumos. No katras haplotipa grupas tika atlasīti 5 indivīdi un analizēti ar papildus PCR-RFLP hloroplasta marķiera metodi. Šī metodika nav ar tik lielu izšķirtspēju kā SSR marķiera metode, un analizētos paraugos tika atrasti tikai 3 haplotipi. Šie haplotipi sakrīt ar iepriekšējo pētījumu par ozola haplotipiem Latvijā, kur tika analizētas tikai 6 audzes (Csaikl et al, 2002). Atrastie haplotipi bija no divām dažādām izcelsmes grupām - A un C, kuras ir saistītas ar pēc ledus laikmeta kolonizācijas takām. A haplotipa izcelsmes grupa tiek vairāk atrasta Eiropas austrumos, bet C izcelsmes grupa Eiropas centrālajā daļā un Skandināvijā (2. attēls)



2. attēls. Eiropas mēroga ozola haplotipa izcelsmes grupas (attēls no Petit et al, 2002).

Salīdzinot SSR marķiera un PCR-RFLP marķieru analīzes rezultātus tika noteikts, ka Latvijas paraugos atrastos haplotipi sadalījās divās izcelsmes grupās (1. attēls), kuras sakrīta ar iepriekš noteiktajām grupām (A un C). Lielākā Latvijas haplotipu grupa pieder A izcelsmes grupai, un mazākā, C izcelsmes grupai. A izcelsmes grupas haplotipi dominēja Latvijas austrumu daļā, un C izcelsmes haplotipi dominēja Latvijas rietumos, g.k. Kurzemē, kā arī atsevišķos paraugos no Zviedrijas (3. attēls).



3. attēls. Latvijas ozola haplotipa izplatība.

Latvijas un Baltkrievijas ozola salīdzinājums

7 haplotipi tika atrasti Latvijas un Baltkrievijas ozolos (1; 4; 5; 6; 7; 10; 12). Haplotips 6 ir vissatopamākais haplotips Latvijā (33%), bet haplotipi 4 un 5, kuri ir izplatīti Baltkrievijā, atrodas ar frekvenci 12% un 1% Latvijas paraugos katrs. Visizplatītākais haplotips Baltkrievijā (1), ir salīdzinoši rets Latvijā (0.5%), un tika atrasts tikai atsevišķos indivīdos. No 30 haplotipiem, kuri atrasti Latvijā, 23 ir ģenētiski tuvāki Baltkrievijas dominējošiem ozola haplotipiem, un tie atrodas A izcelsmes grupā. 7 haplotipi bija ģenētiski attālāki, un uzrādīja lielāku ģenētisku līdzību Skandināvu ozolu haplotipiem. Šie haplotipi pieder C izcelsmes grupā, un ir galvenokārt atrasti Latvijas rietumu daļā.

Visdaudzsološākās materiāls, ko varētu izmantot Latvija ir no rietumiem un ziemeļu reģioniem Baltkrievijā, un sēklas materiāls ir jau ievākts no šiem reģioniem, lai iekārtotu izmēģinājuma stādījumus Latvijā. Šādi izmēģinājumi ļaus novērtēt Baltkrievijas ozola materiāla adaptīvo potenciālu un ražīgumu, Latvijas augšanas apstākļos, un būs iespējams noteikt vispiemērotākās proveniences izmantošanai ozola populācijas atjaunošanai Latvija.

Citas aktivitātes veiktas projekta ietvaros

No 24.08.2011 līdz 29.08.2011 projekta izpildītāji v.pētn. I.Baumanis, D.Ruņģis un I.Veinberga bija komandējumā Baltkrievijā.

Pirmajā dienā Baltkrievijas nacionālās zinātņu akadēmijas Meža institūta ģenētikas laboratorijā tika apspriesti iegūtie rezultāti un izdalīti kopējie abās valstīs esošie parastā ozola haplotipi. Turpmākajās dienās tika apmeklēti Baltkrievijas ozolu ģenētiskie rezervāti, to sēklu plantācijas, stādu audzētavas, kā arī ozolu audzes, kurās atrodas abu valstu ozolu kopējie haplotipi to fenotipisko īpašību novērtēšanai. Paralēli tika novērtētas arī citas dažādos Baltkrievija ģeogrāfiskos rajonos augošās koku sugas īpašības.

Gomeļas rajona Čonku ģenētisko resursu rezervāts

120 hektāri. Galvenokārt ozolu audze. Vecums 100-110 gadi. Satur atšķirīgu no Latvijas ozolu haplotipu. Blakus atrodas arī ļoti laba Eiropas lapegles audze, kuras kopējā krāja 830 m³.

Gomeļas rajona Rečeskas ozolu ģenētisko resursu audze.

Vecums 110 gadi, taisni stumbri. Augstums 30-32 m. Biezība 0,6. Paauga skabārdis. Paaugā ir arī viengadīgi ozolu sējeņi.

Gomeļas rajona Moziras stādu audzētava

Viena līdz trīs gadīgi ozolu stādi. Trīsgadīgo ozolu stādu augstums jau apm 1,2 m. Izejmateriāls iegūts no Rečeskas ģenētisko resursu audzes. Dienvidbaltkrievijā visizplatītākais ozolu haplotips. Tiek audzēti arī priežu, lapeglu, sarkanā ozola stādi. Pēdejie netiek plaši kultivēti.

Bobruiskas rajona Osipoviču virsmežniecības Žornovskas mežniecība

Ozolu, ošu, Eiropas lapegles izmēģinājuma stādījumi. Parastā ozola pluskoku audze. Izmanto kā selekcijas fondu. Tajā izdalīti 17 pluskoki. 300 gadu veca egle, papele skabārdis paaugā. Resnāko ozolu perimetrs apm. 4 m. Biezība 0,3-0,4. Ir starpā lielas egles, bērzs, papeles.

Grodņas rajona virsmežniecība

Ozolu audze. Satur kopēju ar Latviju ozolu haplotipu. Izmanto kā selekcijas materiālu Ziemeļrietumbaltkrievijas ozolu audžu atjaunošanai. Fenotipiski kvalitatīva ozolu audze, kura pēc pārbaudēm varētu tikt audzēta arī Latvijā.

Eiropas lapegles, ciedra un baltegles sēklu plantācija. Jāatzīmē, ka lapegle jau 6 gadu vecumā bagātīgi ražo sēklas.

No 15.11.11 līdz 16.11.11 projekta izpildītāji v.pētn. D.Ruņģis un I.Veinberga bija komandējumā Minsku, Baltkrieviju, lai piedalītos Baltkrievijas inovācijas forumā par Baltkrievijas-Latvijas sadarbību. Forumā Baltkrievijas sadarbības partneris V. Padutovs prezentēja rezultātus par Baltkrievijas-Latvijas sadarbības projektu.

Secinājumi

1. Izmantojot SSR un PCR-RFLP hloroplastu analīzes, tika atrasti 30 haplotipi Latvijas ozolos, no kuriem 6 bija ar frekvenci virs 5%.
2. Atrastie haplotipi atradās divās izcelsmes grupās (A un C). C izcelsmes grupa dominē Eiropas centrālā daļā un Skandināvijā, un attiecīgi šī grupa dominē Latvijas rietumu daļā. A izcelsmes grupa dominē Eiropas austrumos, un tā arī tika pārsvarā atrasta Latvijas austrumos (Vidzemē un Latgalē).
3. Latvija un Baltkrievijas ozoliem tika atrasti 7 kopīgi haplotipi, kuri visi pieder A izcelsmes grupai.
4. Rezultāti tiek apkopoti un salīdzināti ar Baltkrievu sadarbības partneriem, un tiek gatavots kopēja zinātniskā publikācija par projektā iegūtiem rezultātiem (Analysis of Latvian and Belarusian oak (*Quercus robur* L.) population provenance and genetic structure using chloroplast markers).
5. Vispiemērotākais Baltkrievijas ozola ģenētiskais materiāls ko varētu izmantot Latvija ir no rietumiem un ziemeļu reģioniem Baltkrievijā.
6. Sēklas materiāls tika ievākts no šiem reģioniem, lai varētu iekārtot izmēģinājuma stādījumus Latvijā. Šādi izmēģinājumi ļaus veikt Baltkrievijas ozola materiāla adaptīvo potenciālu un ražīgumu novērtējumu, Latvijas augšanas apstākļos.
- 7.

Atsauces:

Csaikl, U.M., Glaz, I., Baliuckas, V., Petit, R.J. and Jensen, J.S. 2002 b. Chloroplast DNA variation of white oak in the Baltic countries and Poland Forest Ecology and Management 156 (1-3): 211-222.

Petit, R.J., Csaikl, U.M., Bordacs S., Burg, K., Coart, E., Cottrell, J., van Dam, B., Deans, J.D., Dumolin-Lapegue, S., Fineschi, S., Finkeldey, R., Gillies, A., Glaz, I., Goicoechea, P.G., Jensen, J.S., Konig, A.O., Lowe, A.J., Madsen, S.F., Matyas, G., Munro, R.C., Olalde, M., Pemonge, M.H., Popescu, F., Slade, D., Tabbener, H., Turchini, D., de Vries, S.G.M., Ziegenhagen, B. and Kremer, A. 2002b. Chloroplast DNA variation in European white oaks - Phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations. Forest Ecology and Management, 156 (1-3): 5-26.

Projekta izpildītājs

Dr. biol. Dainis Ruņģis
30.11.2011