

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ПОПУЛЯЦИЙ ЛЕСООБРАЗУЮЩИХ ВИДОВ ХВОЙНЫХ В СРЕДНЕЙ СИБИРИ

А.Я. Ларионова, А.Н. Кравченко, А.К. Экарт, Н.В. Орешкова

Институт леса им. В.Н.Сукачева СО РАН, Красноярск, Россия, e-mail: albina@ksc.krasn.ru

На основании анализа 20-22 аллозимных локусов получены данные о генетическом разнообразии, структуре и степени дифференциации популяций трех наиболее распространенных в Средней Сибири лесообразующих видов хвойных: ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.), пихты сибирской (*Abies sibirica* Ledeb.) и лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.).

On the basis of 20-22 allozyme loci analysis the data about genetic diversity, structure and differentiation degree of three the most wide spread in the Middle Siberia forest-forming species conifer: Siberian spruce (*Picea obovata* Ledeb.), Siberian fir (*Abies sibirica* Ledeb.) and Siberian larch (*Larix sibirica* Ledeb.) were obtained.

ВВЕДЕНИЕ

Изучение генетического разнообразия и внутривидовой дифференциации хвойных, играющих важную биосферную роль, является одной из важнейших задач популяционной биологии. Особую актуальность исследование этих вопросов приобрело в последние годы в связи с проблемой сохранения

генетических ресурсов хвойных, поскольку только на основании точных оценок уровня генетической изменчивости и характера ее распределения в пределах ареалов видов могут быть разработаны мероприятия, направленные на максимальное сохранение генетического разнообразия и популяционной структуры видов в процессе их использования и воспроизводства.

Таблица 1 – Географическое положение популяций исследованных видов хвойных

Популяция	Район расположения	Географические координаты		Высота над ур. м, м
		с.ш.	в.д.	
Ель сибирская				
Ручей	руч. Билелиг, Ермаковский р-он	52°21'	93°37'	1080
Арадан	окр. п. Арадан, Ермаковский р-он	52°40'	93°22'	880
Козулька	окр. п. Козулька, Козульский р-он	56°10'	91°30'	300
Татарка	р. Татарка, Козульский р-он	56°15'	91°05'	300
Зареченка	окр. д. Зареченка, Тюхтетский р-он	56°35'	89°10'	200
Еловка	окр. п. Еловка, Емельяновский р-он	56°12'	92°32'	240
Б. Мурта	Большемуртинский р-он	57°16'	92°45'	250
Ялань	окр. д. Ялань, Енисейский р-он	58°21'	91°49'	100
Степановка	окр. п. Степановка, Ирбейский р-он	55°10'	95°46'	330
Туруханск	окр. п. Туруханск, Туруханский р-он	65°50'	88°00'	50
Туран	вблизи г. Туран, респуб. Тыва	52°14'	93°43'	960
Хандагайты 1	вблизи п. Хандагайты, респуб. Тыва	50°46'	92°02'	1169
Хандагайты 2	вблизи п. Хандагайты, респуб. Тыва	50°46'	92°01'	1239
Пихта сибирская				
Енисейск	окр. д. Ялань, Енисейский р-он	58°21'	91°49'	100
Емельяново	окр. п. Памяти 13 борцов, Емельяновский р-он	56°11'	92°20'	400
Козулька	окр. ст. Веселая, Козульский р-он	56°12'	91°10'	300
Тюхтет	окр. д. Зареченка, Тюхтетский р-он	56°35'	89°10'	200
В. Саян, 200	окр. г. Дивногорска	55°57'	92°18'	200
В. Саян, 640	окр. г. Дивногорска	55°57'	92°13'	640
З. Саян, 400	окр. п. Танзыбей, Ермаковский р-он	53°08'	92°56'	400
З. Саян, 1000	595 км а. д. «Енисей»	53°00'	93°13'	1000
З. Саян, 1500	окр. Ойского озера	52°50'	93°15'	1500
Лиственница сибирская				
Ужур-1	пойма руч. Простокишин, Ужурский р-он	55°15'	90°10'	500-600
Ужур-2	склон Солгонского хребта, Ужурский р-он	55°20'	90°15'	500-600
Ирбей	предгорье В. Саяна, Ирбейский р-он	55°20'	95°43'	600-700
Горбиачин	бассейн р. Горбиачин, п-ов Таймыр	67°13'	90°32'	124-470
Сухариха	бассейн р. Сухариха, п-ов Таймыр	67°13'	87°47'	110
Ирбо	долина р. Ирбо, п-ов Таймыр	68°26'	90°19'	95

В задачи данного исследования входило изучение генетического разнообразия, структуры и степени дифференциации популяций трех рас- сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.).

пространенных в Средней Сибири лесообразующих видов хвойных: ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.), пихты сибирской (*Abies sibirica* Ledeb.) и лиственницы

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Материалом для исследования послужили семена и вегетативные почки, собранные с отдельных деревьев в 13 природных популяциях ели сибирской, 9 популяциях пихты сибирской и 6 популяциях лиственницы сибирской из различных районов естественного распространения этих видов на территории Средней Сибири (таблица 1).

Анализируемые ткани (эндоспермы семян, вегетативные почки) гомогенизировали в 1-2 каплях экстрагирующего буфера 0.05M Трис-НСI pH 7.7, содержащего дитиотрейтол (0.06%), трилон Б (0,02%) и β -меркаптоэтанол (0.05%). Разделение экстрактов осуществляли методом горизонтального электрофореза в 13%-ном крахмальном геле в четырех буферных системах: морфолинцитратной, pH 7,0 [Clayton, Tretiak, 1972], трисцитратной, pH 8,5 / гидроокись лития-боратной, pH 8,1 [Ridgway, et al., 1970], трис-ЭДТА-боратной, pH 8,6 [Markert, Faulhaber, 1965] и трисцитратной, pH 6,2 [Adams, Joly, 1980]. Составы гелевых и электродных буферов не отличались от рекомендуемых. В анализ включены 14 ферментных систем: глутаматоксалоацетаттрансаминаза (GOT, К.Ф. 2.6.1.1), малатдегидрогеназа (MDH, К.Ф. 1.1.1.37), 6-фосфоглюконатдегидрогеназа (6-PGD, К.Ф. 1.1.1.44), шикиматдегидрогеназа (SKDH, К.Ф. 1.1.1.25), изоцитратдегидрогеназа (IDH, К.Ф. 1.1.1.42), лейцинаминопептидаза (LAP, К.Ф. 3.4.11.1), фосфоглюкоизомераза (PGI, К.Ф. 5.3.1.9), фосфоглюкомутаза (PGM, К.Ф. 2.7.5.1), глутаматдегидрогеназа (GDH, К.Ф. 1.4.1.2), фосфоенолпируваткарбоксилаза (PEPСА, К.Ф. 4.1.1.31), формиатдегидрогеназа (FDH, К.Ф. 1.2.1.2), супероксиддисмутаза (SOD, К.Ф. 1.15.1.1), флюоресцентная эстераза (FE, К.Ф. 3.1.1.1) и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (G-6-PD, К.Ф. 1.1.1.49), 10 из которых (GOT, MDH, 6-PGD, SKDH, IDH, LAP, PGI, PGM, GDH, PEPСА) были общими у исследуемых видов.

Гистохимическое выявление ферментов осуществляли по стандартным прописям [Brewer, 1970; Vallejos, 1983; Гончаренко, Падутов, 1988; Manchenko, 1994 и др.] с некоторыми модификациями. По аллозимным фенотипам устанавливали соответствующие им генотипы и рассчитывали частоты аллелей по каждому из проанализированных локусов. Для определения уровня генетического разнообразия использовали общепринятые показатели: процент полиморфных локусов при 95%-ном (P_{95}) и 100%-ном (P_{100}) критериях полиморфности, среднее число аллелей на локус (A), средняя наблюдаемая (H_o) и ожидаемая (H_e) гетерозиготности, эффективное число аллелей (n_e) [Айала, Кайгер, 1988]. Популяционную структуру и степень подразделенности природных популяций, включенных в исследование хвойных, определяли с помощью показателей F-статистик Райта [Guries, Ledig, 1982]. Количественную оценку степени генетических различий между популяциями производили по методу, предложенному М. Неи

[1972]. Для вычисления показателей использовали пакет компьютерных программ POPGEN 1.32 [Yeh et al., 1999] и BIOSYS 1 [Swofford, Selander, 1981]. Кластеризацию популяций проводили на основании невзвешенного парно-группового метода кластерного анализа (UPGMA) [Sneath, Sokal, 1973], ординацию популяций на плоскости двух первых главных компонент – в пакете STATISTICA [1998].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе электрофоретического анализа 12 ферментных систем ели сибирской выявлено 65 аллельных вариантов, находящихся под контролем 22 ген-ферментных локусов. Полностью мономорфными во всех включенных в исследование популяциях ели сибирской оказались лишь локусы *Sod-1* и *Pgm-1*, остальные локусы (*Got-1*, *Got-2*, *Got-3*, *Lap-1*, *Lap-2*, *Skdh-1*, *Skdh-2*, *Mdh-1*, *Mdh-2*, *Mdh-3*, *Idh-2*, *Sod-2*, *Fdh*, *Gdh*, *Pgm-2*, *Pgi-1*, *Pgi-2*, *PePCA*, *6-Pgd-2*, *6-Pgd-3*) были полиморфны хотя бы в одной из популяций.

Около 46% выявленных аллелей (30 из 65) являются общими для изученных популяций ели сибирской, 43% - относятся к категории редких. Большинство редких аллелей могут встречаться одновременно в нескольких популяциях, часто значительно удаленных друг от друга географически.

Сравнительный анализ популяций показал, что, несмотря на значительное сходство их генетических структур, обусловленное большим числом общих аллелей, многие из которых имеют высокую частоту встречаемости во всех популяциях, практически каждая из исследованных популяций ели сибирской характеризуется той или иной степенью своеобразием по числу, составу и частотам аллелей. Так, общее число выявленных в отдельных популяциях аллелей варьирует от 36 до 49, редких – от 2 до 10. Наибольшее аллельное разнообразие, в основном за счет редких аллелей, наблюдается в южнотаежной популяции ели из Енисейского района Красноярского края (Ялань). Доля редких аллелей, обнаруженных в этой популяции, составляет 20,41%. Наиболее низкое число аллелей выявлено в популяциях из южных горных районов исследуемой части ареала ели сибирской (Хандагайты 1, Хандагайты 2, Туран, Ручей, Арадан).

Существенно варьируют в изученных популяциях ели сибирской и частоты аллелей. В ряде случаев различия в частотах одноименных аллелей достигают 20% и более. Однако четко выраженного географического тренда в изменении частот аллелей не прослеживается ни для одного из проанализированных полиморфных локусов. Анализ изменчивости частот аллелей с помощью χ^2 -теста на гетерогенность показал, что наблюдаемая гетерогенность аллельных частот у ели сибирской в исследованном регионе является статистически достоверной ($\chi^2 = 900,59$, $df = 559$, $P < 0,001$).

Таблица 2 - χ^2 – тест на гетерогенность аллельных частот полиморфных локусов ели сибирской

Локус	Число аллелей	χ^2	Число степеней свободы (df)	Уровень значимости (P)
<i>Got-1</i>	2	26,350	13	0,0152*
<i>Got-2</i>	4	75,453	39	0,0004***
<i>Got-3</i>	3	39,052	26	0,0482*
<i>Lap-1</i>	5	92,853	52	0,0004***
<i>Lap-2</i>	3	40,806	26	0,0325*
<i>Skdh-1</i>	4	75,977	39	0,0004***
<i>Skdh-2</i>	3	48,215	26	0,0051**
<i>Mdh-1</i>	2	12,943	13	0,4522
<i>Mdh-2</i>	2	11,549	13	0,5649
<i>Mdh-3</i>	5	64,627	52	0,1123
<i>Idh-2</i>	5	112,787	52	0,0000***
<i>Sod-2</i>	2	12,294	13	0,5037
<i>Fdh</i>	3	33,708	26	0,1425
<i>Gdh</i>	3	47,263	26	0,0066**
<i>Pgm-2</i>	4	93,254	39	0,0000***
<i>Pgi-1</i>	2	9,694	13	0,7188
<i>Pgi-2</i>	4	39,208	39	0,4605
<i>Pepca</i>	2	11,549	13	0,5649
<i>6-Pgd-2</i>	3	41,463	26	0,0279*
<i>6-Pgd-3</i>	2	11,546	13	0,5652
В целом		900,589	559	0,0000***

Примечание: уровни значимости * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001

Наиболее значительный вклад в формирование межпопуляционного аллельного разнообразия вносят локусы *Got-1*, *Got-2*, *Got-3*, *Lap-1*, *Lap-2*, *Skdh-1*, *Skdh-2*, *Idh-2*, *Gdh*, *Pgm-2*, *6-Pgd-2* (таблица 2).

Установлено, что исследованная в регионе ель сибирская находится в состоянии, близком к равновесному. Наблюдаемое в совокупной выборке популяций соотношение генотипов не отличается от ожидаемого в соответствии с законом Харди-Вайнберга ($\chi^2 = 80.17$, $df = 79$). Значение показателя F_{is} , отражающего инбридинг особи относительно популяции, составляет всего 0,12% ($F_{is} = -0,0012$), относительно вида в целом – 2,74% ($F_{is} = 0,0274$).

Оценка основных параметров генетической изменчивости по 22 проанализированным локусам показала, что произрастающая в пределах исследуемой части ареала ель сибирская характеризуется достаточно высоким уровнем генетического разнообразия. В целом в совокупной выборке популяций этого вида в полиморфном состоянии находится 90,91% проанализированных локусов. Среднее число аллелей на локус равно 2,95, эффективное число аллелей – 1,25. Средние для вида значения наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности составляют соответственно 0,163 и 0,168 (таблица 3).

Наиболее высокие значения практически всех показателей генетической изменчивости наблюдаются у ели сибирской из Енисейского района Красноярского края (Ялань). Следует, однако, отметить, что в популяциях Хандагайты 1 (Тыва) и Степановка (Ирбейский район Красноярского края), характеризующихся более низким уровнем полиморфизма и меньшим аллельным разнообра-

зием по сравнению с популяцией Ялань, средние величины ожидаемой и наблюдаемой гетерозиготности оказались такими же высокими, как и в популяции Ялань. Самые низкие значения гетерозиготности установлены в популяции Арадан, расположенной в горнотаежном поясе Западного Саяна (Ермаковский район Красноярского края).

Большая часть выявленной у ели сибирской изменчивости распределяется внутри популяций. На долю межпопуляционной составляющей изменчивости (F_{st}) приходится лишь 2,86%, что указывает на слабые в целом различия между популяциями ели сибирской в исследованной части ареала. Генетическое расстояние D [Nei, 1972] между популяциями варьирует от 0,0019 до 0,0128, составляя в среднем 0,0062.

Наиболее близкими по генетической структуре оказались популяции ели (Еловка, Татарка, Зареченка, Большая Мурта, Козулька, Ялань), расположенные в подзоне южной тайги. Среднее генетическое расстояние между ними изменяется от 0,0019 до 0,0087, составляя в среднем 0,0046. Среди исследованных в этой подзоне популяций существенные статистически достоверные различия по частотам аллелей выявлены лишь между популяциями Ялань и Еловка, Ялань и Козулька, Большая Мурта и Еловка ($D = 0,0058$, $0,0077$, $0,0087$, соответственно). Практически не отличается от южнотаежных популяция из Туруханска, расположенная в подзоне северной тайги. Генетическое расстояние между этими популяциями было в среднем ($D = 0,0036$) даже меньше, чем между популяциями в пределах южнотаежной подзоны. Парное сравнение южнотаежных и севернотаежной популяций не выявило достоверных различий между ними. В то же время популяция Степановка, расположенная в подтаежной подзоне (Ирбейский район

Красноярского края), имеет небольшие, но статистически достоверные отличия по генетической структуре от южнотаежных популяций ($D = 0,0052$). Анализ значений D показал, что степень генетической дифференциации популяций ели в исследованной части ареала не зависит от географического расстояния между ними. Наиболее дифференцированными среди изученных популяций ели оказались близкие географически популяции из горных местообитаний (Хандагайты 1, Хандагайты 2, Туран, Ручей, Арадан). Среднее генетическое расстояние между этими популяциями ($D = 0,0089$) было почти в 2 раза больше генетического расстояния между равнинными популяциями ($D = 0,0046$), многие из которых значительно удалены друг от друга. По всей вероятности, это свя-

зано с действием локального дифференцирующего отбора, вызванного значительной гетерогенностью экологических условий в пределах горных территорий.

На рисунке 1 видно, что наиболее значительно обособлены как друг от друга, так и от других горных популяций популяции из Тывы: Хандагайты 1 и Хандагайты 2, расположенные вблизи южной границы распространения вида в регионе. Уровень наблюдаемых между ними различий ($D = 0,0108$) сопоставим с уровнем различий, характерным для географически удаленных популяций. На некотором расстоянии от основной группы популяций находится и популяция Ялань из Енисейского района, отличающаяся от остальных изученных популяций ели сибирской более высокими значениями практически всех показателей изменчивости, повышенной частотой редких аллелей.

Таблица 3 - Значения основных показателей генетического разнообразия в природных популяциях изученных видов хвойных (в скобках даны стандартные отклонения)

Популяции	$P_{95}, \%$	$P_{100}, \%$	A	n_c	H_c	H_o
Ель сибирская						
Туран	50,00	63,64	1,72	1,27	0,170	0,172
Хандагайты 1	54,50	54,55	1,64	1,29	0,181	0,186
Хандагайты 2	54,50	59,09	1,68	1,22	0,151	0,156
Ручей	50,00	59,09	1,73	1,23	0,158	0,148
Арадан	54,50	54,55	1,68	1,22	0,146	0,146
Еловка	54,50	59,09	1,82	1,25	0,168	0,159
Козулька	50,00	63,64	1,86	1,23	0,153	0,149
Татарка	50,00	63,64	1,82	1,23	0,155	0,167
Зареченка	54,50	63,64	2,00	1,23	0,159	0,144
Б, Мурта	50,00	68,18	2,04	1,27	0,177	0,173
Степановка	54,55	59,09	1,82	1,27	0,180	0,180
Ялань	59,10	81,82	2,23	1,27	0,185	0,181
Туруханск	59,10	68,18	2,00	1,27	0,178	0,162
В целом для вида	54,55	90,91	2,95 (1,21)	1,25 (0,27)	0,168 (0,163)	0,163 (0,159)
Пихта сибирская						
Енисейск	15	25	1,30	1,08	0,051	0,050
Емельяново	15	15	1,20	1,12	0,060	0,057
Козулька	15	20	1,25	1,13	0,062	0,053
Тюхтет	10	20	1,25	1,10	0,049	0,040
В, Саян, 200	20	25	1,30	1,13	0,067	0,068
В, Саян, 640	15	20	1,25	1,14	0,072	0,055
З, Саян, 400	15	25	1,30	1,08	0,050	0,046
З, Саян, 1000	20	20	1,30	1,13	0,070	0,067
З, Саян, 1500	20	20	1,30	1,14	0,072	0,073
В целом для вида	20	35	1,45 (0,68)	1,13 (0,37)	0,064 (0,159)	0,057 (0,144)
Лиственница сибирская						
Ужур, 1	22,73	36,36	1,59	1,18	0,089	0,095
Ужур, 2	22,73	40,91	1,59	1,19	0,100	0,096
Ирбей	18,18	36,36	1,50	1,12	0,074	0,070
Горбиачин	27,27	31,82	1,45	1,16	0,083	0,077
Сухариха	18,18	22,73	1,36	1,24	0,107	0,115
Ирбо	27,27	27,27	1,41	1,22	0,113	0,117
В целом для вида	22,73	63,64	1,91 (0,97)	1,18 (0,42)	0,094 (0,178)	0,090 (0,177)

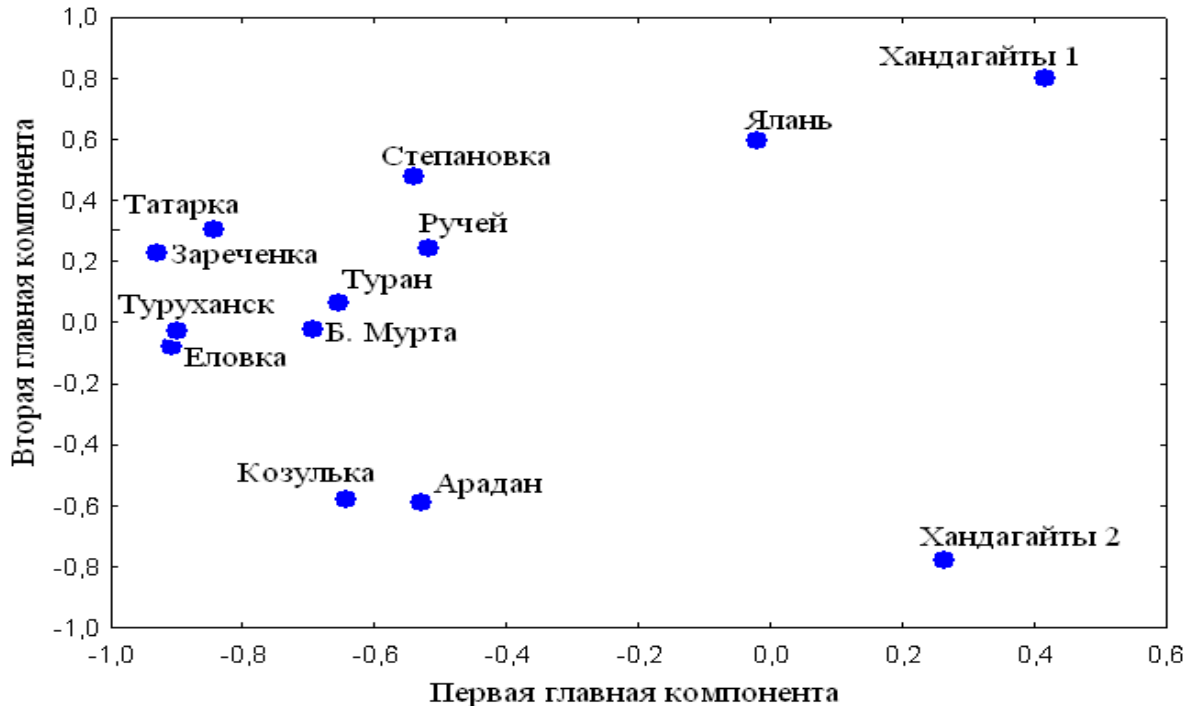


Рисунок 1 - Ординация исследованных популяций ели сибирской на плоскости двух главных компонент

Пихта сибирская, проанализированная по 20 аллозимным локусам, характеризуется низким генетическим разнообразием ($P_{100}=35\%$, $A=1,45$, $H_o=0,057$, $H_e=0,064$). В целом у вида в исследованной части ареала в полиморфном состоянии находится 35% проанализированных локусов, а каждое дерево изменчиво по 6.4% генов (таблица 3). Среди 9 изученных на территории Средней Сибири популяций этого вида самые высокие значения ожидаемой гетерозиготности выявлены в среднегорных и высокогорных популяциях Западного и Восточного Саяна ($H_e=0,070-0,072$), а самые низкие ($H_e=0,049-0,051$) в равнинных популяциях из Тюхтетского и Енисейского районов Красноярского края. Обнаружено, что при увеличении высоты местоположения популяции над уровнем моря наблюдается постепенное увеличение ожидаемой гетерозиготности (таблица 3).

Сопоставление наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности показало, что лишь в двух из исследованных нами популяций пихты сибирской (В. Саян, 200; З. Саян, 1500) наблюдается слабый эксцесс гетерозиготных генотипов. Значение индекса фиксации Райта F для этих популяций составляет соответственно $-0,0255$ и $-0,0223$. У остальных изученных в регионе популяций наблюдается недостаток гетерозиготных генотипов, варьирующий от 1,19% до 23,82%. Наиболее значительный дефицит гетерозигот выявлен в популяции В. Саян, 640. В среднем дефицит гетерозигот у отдельной особи относительно популяции равен 6,10% ($F_{is} = 0,0610$), относительно вида в целом $-11,02\%$ ($F_{it} = 0,1102$).

Генетическая дифференциация включенных в исследование популяций пихты сибирской выражена слабо. Показатель F_{st} , отражающий степень под-

разделенности популяций, указывает на то, что между популяциями распределяется лишь 5.24% выявленной генетической изменчивости ($F_{st} = 0,0524$), остальная изменчивость сосредоточена внутри популяций. Среднее генетическое расстояние D между популяциями варьирует от 0,0005 до 0,0098, составляя в среднем 0,0040 (таблица 4). Кластеризация популяций по генетическому расстоянию D не выявила четкой взаимосвязи между расположением популяций на дендрограмме и степенью их географической удаленности друг от друга. Популяции группируются в основном в зависимости от их принадлежности к горным или равнинным территориям (рисунок 2).

Наименее дифференцированными оказались популяции пихты сибирской из самых удаленных друг от друга районов: Ермаковского (З. Саян, 400) и Енисейского (Енисейск). В то же время популяция из Козульского района Красноярского края обнаруживает значительные отличия по генетической структуре как от близко расположенных к ней популяций (Емельяново), так и от удаленных (Енисейск, Тюхтет; З. Саян, 400; З. Саян, 1000; З. Саян, 1500). Наиболее высокий уровень генетической дифференциации наблюдается между популяцией из Козульки и популяцией из Западного Саяна, расположенной на высоте 1000 м.

Существенные различия наблюдаются также между популяциями, расположенными в разных высотных поясах Западного Саяна. Обнаружено, что степень дифференциации горных популяций пихты зависит от разности высот их местообитания. Анализ разновысотных популяций показал, что наиболее существенные статистически достоверные различия в генетической структуре наблюдаются между высокогорной (З. Саян, 1500) и низ-

когорной (З. Саян, 400) популяциями. Генетическое расстояние между ними ($D=0.0060$) существенно больше генетического расстояния между парами

более близких по градиенту высоты популяций: среднегорной и высокогорной ($D=0.0020$), низкогорной и среднегорной ($D=0.0046$).

Таблица 4 – Генетические расстояния D [Nei, 1972] между популяциями пихты сибирской, рассчитанные по частотам аллелей 20 локусов

Популяция	2	3	4	5	6	7	8	9
1. Енисейск	.0017	.0089	.0018	.0028	.0036	.0005	.0030	.0048
2. Тюхтет	***	.0080	.0016	.0027	.0039	.0018	.0046	.0044
3. Козулька		***	.0092	.0020	.0038	.0088	.0098	.0070
4. Емельяново			***	.0032	.0019	.0029	.0019	.0043
5. Восточный Саян, 200				***	.0012	.0028	.0041	.0035
6. Восточный Саян, 640					***	.0046	.0020	.0031
7. Западный Саян, 400						***	.0046	.0060
8. Западный Саян, 1000							***	.0020
9. Западный Саян, 1500								***

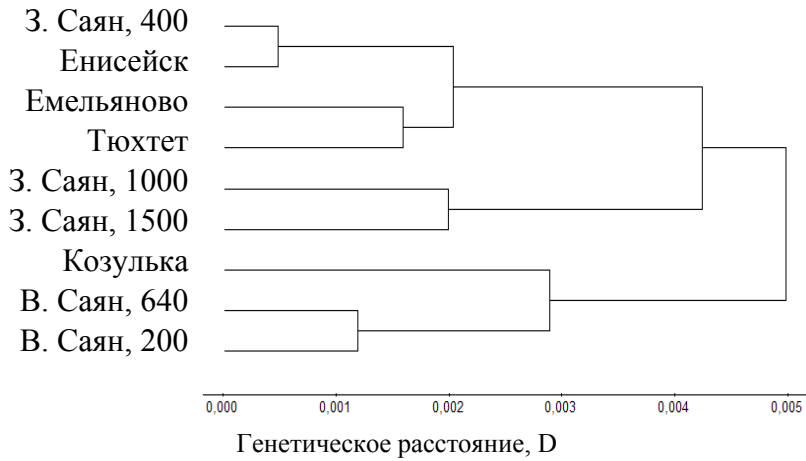


Рисунок 2 – Дендрограмма сходства популяций пихты сибирской, построенная на основе значений генетических расстояний D [Nei, 1972]

На наш взгляд, к значительной дифференциации высокогорной и низкогорной популяций могли привести существенные различия в условиях местообитания этих популяций, а также их фенологическая изоляция при разности высот в 1100 м. В популяциях, менее удаленных друг от друга по градиенту высоты, вследствие меньшей фенологической изоляции различия в генетической структуре оказались более слабыми. Направленный характер изменчивости ряда аллелей вдоль высотного градиента указывает на то, что дифференциация популяций в пределах одного горного склона может быть связана с действием локального дифференцирующего отбора в экологически гетерогенных условиях.

Исследованная практически по такому же набору аллозимных локусов, что и ель сибирская, лиственница сибирская характеризуется невысоким уровнем генетического разнообразия (таблица 3). Доля полиморфных локусов при 95%-ном критерии полиморфности (P_{95}) варьирует в популяциях от 18,18% до 27,27%, при 100%-ном критерии (P_{100}) – от 22,73% до 40,91%. Среднее число аллелей на локус (A) изменяется от 1,36 до 1,59, эффективное

число аллелей (n_e) – от 1,12 до 1,24, наблюдаемая (H_o) и ожидаемая (H_e) гетерозиготности – от 0,070 до 0,117 и от 0,074 до 0,113, соответственно. В совокупной выборке популяций лиственницы доля полиморфных локусов составляет 63,6%, среднее число аллелей на локус – 1,91, средние значения наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности – 0,090 и 0,094.

Низкие в среднем значения F_{is} (-0,0425) и F_{it} (0,0365) (таблица 5), а также отсутствие достоверных отклонений наблюдаемых частот генотипов от ожидаемых, свидетельствуют о том, что изученные популяции лиственницы сибирской находятся в состоянии, близком к равновесному. Кроме того, установлено, что они более дифференцированы ($F_{st}=0,0758$, $D=0,0104$) по сравнению с исследованными в регионе популяциями ели и пихты ($F_{st}=0,0286$, $D=0,0062$ и $F_{st}=0,0524$, $D=0,0040$, соответственно). Как видно из данных, представленных в таблице 5, наиболее существенный вклад в генетическую дифференциацию популяций лиственницы сибирской вносят локусы $Pgi-2$ (6,97%), $6-Pgd-2$ (9,48%), $Pgm-1$ (14,41%) и $Got-2$ (17,20%).

Сравнительный анализ значений D (таблица 6)

показал, что самый высокий уровень генетической дифференциации среди включенных в анализ популяций лиственницы сибирской наблюдается между северными популяциями (Горбиачин, Сухариха, Ирбо), расположенными в лесотундровой зоне на полуострове Таймыр. Генетическое расстояние между сравниваемыми парами этих популяций, рассчитанное по частотам аллелей 22 проанализированных локусов, варьирует от 0,0151 до 0,0208, составляя в среднем 0,0176. Наиболее значительные различия выявлены между популяциями Ирбо и Сухариха.

В меньшей степени различаются между собой по генетической структуре популяции лиственницы из более южных районов Красноярского края, расположенные в лесостепной (Ужур-1, Ужур-2) и подтаежной (Ирбей) зонах. Среднее генетическое

расстояние между ними равно 0,0032, что более чем в 5 раз меньше, чем между таймырскими популяциями.

Попарное сравнение популяций из северных и южных районов исследованной части ареала показало, что уровень наблюдаемых между ними различий в среднем существенно выше ($D=0,0103$), чем среди популяций из южных районов, но не достигает уровня различий, установленного между северными популяциями с полуострова Таймыр. Наиболее близкими к таймырским популяциям лиственницы сибирской оказались популяции, расположенные в Ужурской лесостепи ($D=0,0084$). Ирбейская популяция отличается от них более значительно. Генетическое расстояние между таймырскими и ирбейской популяциями варьирует от 0,0117 до 0,0191, составляя в среднем 0,0143.

Таблица 5 - Значение показателей F- статистики Райта для полиморфных локусов лиственницы сибирской

Локус	F_{is}	F_{it}	F_{st}
Mdh-1	-0,0270	-0,0081	0,0183
Mdh-2	-0,0169	-0,0028	0,0139
Mdh-3	-0,0803	-0,0451	0,0325
Mdh-4	-0,0648	-0,0150	0,0468
6-Pgd-1	-0,0769	-0,0120	0,0602
6-Pgd-2	-0,0928	0,0108	0,0948
Got-1	-0,0776	-0,0204	0,0531
Got-2	-0,0555	0,1260	0,1720
Lap-2	-0,0170	-0,0042	0,0126
Pgi-2	-0,0963	-0,0199	0,0697
Pgm-1	0,3214	0,4192	0,1441
Fdh	-0,0164	-0,0027	0,0135
Skdh-2	-0,0507	-0,0199	0,0293
Sod-1	-0,0169	-0,0028	0,0139
Среднее	-0,0425	0,0365	0,0758

Таблица 6 - Генетическое расстояние D [Nei, 1972] между популяциями лиственницы сибирской

Популяция	Ужур-1	Ужур-2	Ирбей	Горбиачин	Сухариха
Ужур-2	0,0014	***			
Ирбей	0,0031	0,0051	***		
Горбиачин	0,0061	0,0085	0,0121	***	
Сухариха	0,0067	0,0058	0,0117	0,0169	***
Ирбо	0,0114	0,0116	0,0191	0,0151	0,0208

ВЫВОДЫ

1. Произрастающая на территории Средней Сибири ель сибирская характеризуется достаточно высоким генетическим разнообразием ($P_{100}=90,91\%$, $A=2,95$, $n_c=1,25$, $H_c=0,168$, $H_o=0,163$), слабой подразделенностью ($F_{st}=0,0286$) и низким в среднем уровнем дифференциации ($D=0,0062$). Наиболее существенные различия в генетической структуре обнаруживают популяции ели из горных местообитаний.

2. Установлено, что популяции из горных районов Тывы (Хандагайты 1 и Хандагайты 2), расположенные у южной границы ареала вида в регионе, значительно обособлены как друг от друга, так и от остальных включенных в исследование популяций ели. Уровень наблюдаемых между ними генетических

различий сопоставим с уровнем различий, характерным для географически удаленных друг от друга популяций.

3. Исследованные в регионе популяции лиственницы сибирской имеют невысокий в целом уровень генетической изменчивости ($P_{100}=63,6\%$, $A=1,91$, $n_c=1,18$, $H_o=0,090$, $H_c=0,094$), однако в среднем более дифференцированы ($F_{st}=0,0758$, $D=0,0104$) по сравнению с изученными популяциями ели. Наиболее дифференцированными среди проанализированных популяций лиственницы сибирской оказались северные популяции, расположенные в лесотундровой зоне полуострова Таймыр ($D=0,0176$). Популяции лиственницы из более южных районов Красноярского края (Ужурский, Ирбейский) практически не различаются по генетической структуре ($D=0,0032$).

4. Обнаружено, что степень генетической дифференциации популяций из географически удаленных друг от друга северных и южных районов значительно меньше степени дифференциации северных популяций.
5. Уровень генетического разнообразия пихты сибирской в Средней Сибири существенно ниже ($P_{100}=35\%$, $A=1,45$, $n_e=1,13$, $H_o=0,057$, $H_e=0,064$), чем у ели сибирской и лиственницы сибирской. Среди изученных популяций этого вида самые высокие значения ожидаемой гетерозиготности наблюдаются в среднегорных и высокогорных популяциях Западного и Восточного Саяна ($H_e=0,070-0,072$), а самые низкие ($H_e=0,049-0,051$) в равнинных популяциях из Тухтетского и Енисейского районов Красноярского края. Количественная оценка степени генетических различий и кластеризация популяций по генетическому расстоянию D показали, что несмотря на слабую в общем дифференциацию ($D=0,0040$) популяций пихты сибирской, различия между ними прослеживаются достаточно четко. Наиболее значительные различия в генетической структуре выявлены между популяцией из Козульского района и остальными популяциями.
7. Степень генетической дифференциации популяций пихты в исследованном регионе не зависит от их географической удаленности друг от друга. Популяции группируются в основном в зависимости от их принадлежности к равнинным или горным территориям.
8. Установлено, что произрастающая в разных высотных поясах Западного Саяна пихта сибирская существенно различается по генетической структуре. Наиболее значительные статистически достоверные различия обнаруживают удаленные друг от друга по градиенту высоты на 1100 м низкогорная и высокогорная популяции. При меньшей разности высот местоположения популяций различия между ними менее выражены.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Айала, Ф. Современная генетика. [Текст] / Ф.Айала, Дж.Кайгер М.: Мир, 1988. - Том 3. - 335 с.
- Гончаренко, Г.Г. Руководство по исследованию древесных видов методом электрофоретическо-

- го анализа изоферментов [Текст] / Г.Г. Гончаренко, В.Е. Падутов.- Гомель: БелНИИЛХ, 1988. - 66 с.
- Adams, W.T. Genetics of allozyme variants in loblolly pine / W.T.Adams, R.I Joly // Heredity. - 1980. - V.71. - N. 1. - P.33-40.
- Brewer, G.J. Introduction to isozyme techniques / G.J. Brewer, N.Y.-L.: Academ. Press, 1970. - 186 p.
- Clayton, J.W. Amino-citrate buffer for pH control in starch gel electrophoresis / J.W.Clayton, D.N. Tretiak// J. Fisheries Research Board Canada. - 1972. - V. 29. - P. 1169-1172.
- Guries, R.P. Genetic diversity and population structure in pitch pine (*Pinus rigida* Mill.) / R.P.Guries, F.T.Ledig // Evolution. - 1982. - V. 36. - P. 387-402.
- Manchenko, G.P. Handbook of detection of enzymes on electrophoretic gels / G.P. Manchenko, CRC Press, Ins. 1994. 574 p.
- Markert, C.L., Faulhaber I. Lactate dehydrogenase isozyme patterns in fish / C.L.Markert, I. Faulhaber // J. Exp. Zool. - 1965. - V. 159.- № 2. - P. 319-332.
- Nei, M. Genetic distance between populations // Amer. Naturalist / M. Nei. - 1972. - V. 106. - P. 283-292.
- Ridgway, G.J. Polymorphism in the esterases of atlantic herring / G.J.Ridgway, S.W.Sherburne, R.D. Lewis // Trans. Am. Fish. Soc. - 1970. - V. 99. - P. 147-151.
- Sneath, P.H.A. Numerical taxonomy: the principles and practice of numerical classification / P.H.A Sneath, R.R. Sokal San Francisco: W. N. Freeman, 1973. - 573 p.
- STATISTICA for Windows [Computer program manual]. – Tulsa, OK: StatSoft, Inc., 1998.
- Swofford, D.L. BIOSYS-1: A FORTRAN program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics / D.L. Swofford, R.B. Selander // Heredity. - 1981. - V. 72. - P. 281-283.
- Vallejos, C.E. Enzyme activity staining / C.E. Vallejos, // Isozymes in plant genetics and breeding. Amsterdam: Elsevier Sci. Publ., 1983. - P. 469-516.
- Yeh, F.C. POPGENE Version 1.32: Microsoft Windows based Freeware for Population Genetic / F.C.Yeh, R.Yang, T. Boyle Analysis. 1999.

Поступила в редакцию 1 августа 2007 г.
Принята к печати 15 сентября 2007 г.