

СЕМЕННАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ В ЗОНЕ ЕСТЕСТВЕННОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ КЕДРА СИБИРСКОГО И КЕДРОВОГО СТЛАНИКА В СЕВЕРНОМ ПРИБАЙКАЛЬЕ

Е.А. Петрова, С.Н. Горошкевич, Д.В. Политов, М.М. Белоконов, А.Г. Попов, Г.В. Васильева

ИМКЭС СО РАН, Россия, г. Томск, пр. Академический 10/3

Факс: (3822) 491978, gorosh@imces.ru

Проведен сравнительный анализ семенной продуктивности, генетического полиморфизма и системы скрещивания кедра сибирского, кедрового стланика и их естественных гибридов из северной части Прибайкалья. Материал собран в двух районах на побережье о. Байкал: Баргузинский заповедник, побережье бухты Давша (БЗ) (кедровник с единичными кустами стланика) и дельта р. Верхняя Ангара (ДВА) (верховое болото с преобладанием стланика и незначительным участием кедра сибирского). В обоих районах происходит естественная гибридизация между видами, гибриды встречаются в количестве до 5 штук на гектар. По размеру шишек и семян они занимают промежуточное положение между видами. На всех этапах генеративного цикла гибриды имеют существенно повышенный по сравнению с "чистыми" видами уровень смертности и недоразвития репродуктивных структур, однако в ДВА в благоприятном году фертильность гибридов оказалась достаточно высока: примерно 25% семяпочек развивались в полноценные семена с дифференцированным зародышем. Выборки гибридов характеризовались промежуточными значениями аллельных частот ряда аллозимных локусов по сравнению с видами. Все изученные гибридные растения были гетерозиготны по диагностическому локусу *Skdh-2*. Анализ эмбрионального пула семян растений чистых видов показал, что в районе с преобладанием *P. sibirica* от опыления его пыльцой сформировалось примерно 27% зародышей в семенах кедрового стланика, в то время как в генотипах эмбрионов семян кедра сибирского аллелей, специфичных для кедрового стланика, не обнаружено. В районе с альтернативным соотношением родительских видов лишь 1,4% эмбрионов в семенах *P. sibirica* имели пыльцевой вклад *P. pumila*, все проанализированные семена кедрового стланика были опылены пыльцой своего вида. Основную роль в опылении гибридных растений играет родительский вид, который доминирует в данном насаждении, второй вид опыляет порядка 13-14% семяпочек. Доля гибридной пыльцы в эффективном пыльцевом пуле семян гибридных растений в ДВА составляет почти 12%, что более чем в три раза превышает аналогичный параметр в БЗ. Отмечено участие гибридов в опылении растений родительского вида, встречающегося в насаждении в примеси. Полученные результаты свидетельствуют о фертильности гибридных растений и характеризуют их участие в репродуктивных процессах смешанных насаждений *P. sibirica* - *P. pumila* как продуцентов пыльцы и семян. Существование беккроссов и гибридов второго поколения дает доказательства наличия начальных этапов интрогрессии, как минимум на стадии зародышей семян, в районах с контрастным соотношением численности родительских видов в составе насаждения. Достаточно высокая фертильность гибридных растений в некоторых районах свидетельствует об их адаптивности и позволяет предположить наличие эволюционных перспектив.

Comparative analysis of seed productivity, genetic variation and mating structure in Siberian Stone Pine, Siberian Dwarf Pine and natural hybrids in northern part of Baikal region was carried out. Two sites in Baikal lakeside were examined: Barguzin Biosphere Natural Reserve, Davsha bight (BR) (*P. sibirica* forest stand with scattered *P. pumila*), and delta of Upper Angara (DUA) (swamped area, *P. pumila* dominated and *P. sibirica* occurred rarely). In both studied sites there was natural hybridization between the stone pine species, the number of hybrids was approximately 5 plants per hectare. Cone and seed sizes in hybrids were intermediate relative to parental species. At all stages of generative cycle from seed scale differentiation to embryo differentiation the hybrids had sufficiently higher rate of mortality and underdevelopment of reproductive structure compare to pure species. In DUA approximately 25% of ovules developed into valid seeds with differentiated embryos. Genetic structure of *P. pumila*, *P. sibirica* and hybrids in the mixed stands was analyzed by means of 29 allozyme loci controlling 16 enzyme systems. For most loci the hybrids had intermediate allele frequencies relative to *P. pumila* and *P. sibirica* samples that confirmed hybrid nature of these trees. All hybrids were heterozygous at diagnostic *Skdh-2* locus. In the site where *P. sibirica* dominated 27% of *P. pumila* seeds were sired by *P. sibirica* but no *P. pumila* specific alleles were found in Siberian Stone Pine seeds embryos genotypes. In the site with alternative ratio of pure species only 1,4% of *P. sibirica* seeds had *P. pumila* paternal contribution, all *P. pumila* seeds were sired by the same species pollen. Studying of hybrids mating structure demonstrates that main portion of cross-pollinated embryos had paternal contribution from parental species dominated in the site and second species sired 13-14% of embryos. Portion of hybrid pollen in effective pollen pool of hybrid seeds in DUA was approximately 12% that is more than threefold compare to BR. It was shown that hybrids took part in pollination of pure species rarely occurred in a site. We conclude that natural hybrids are fertile and produced seeds and pollen in different types of mixed *P. sibirica* - *P. pumila* stands. Our results confirm the possibility of back-crosses and F2 hybrids existence and demonstrate that at least initial stages of introgressive hybridization take place in the mixed stands with contrasting partitioning of the two stone pine species. Sufficient fertility of hybrid plants in some sites of hybrid zone attests of its fitness and possible evolutionary perspectives.

Межвидовая гибридизация широко распространена среди растений и животных. Возможное эволюционное значение и адаптивный потенциал естественных гибридов, в том числе у древесных растений, обсуждается в российской и зарубежной литературе (Stebbins, 1950, Грант, 1980, Коропачинский, Ми-

лютин, 2006). Исследование межвидовой гибридизации вносит ясность в вопросы филогенеза, т.к. наличие естественных или искусственных гибридов принято считать показателем родства родительских таксонов. Кроме того, зоны интрогрессивной гибридизации рассматриваются как источник биораз-

нообразия, обеспечивающий приток генетического материала, его инвазию в генофонд родительских видов и формирующий клинальную структуру изменчивости аллельных частот. В любом случае, гибридогенный процесс представляет собой интереснейший случай природного образования новых, зачастую фертильных и стабильно занимающих определенную нишу в экосистемах, жизненных форм, и его причины и последствия являются предметом исследований широкого круга биологов.

Естественная гибридизация у лесных древесных видов, в том числе и из семейства *Pinaceae* - частое явление (Коропачинский, 1992). Широко известны результаты многолетних исследований *Picea abies* и *P. obovata* (Попов, 1992, 1996), *Larix sibirica* и *L. gmelinii* (Милютин, 1983) - довольно близких в таксономическом, морфологическом и экологическом отношении видов. Объектами нашего исследования являются виды, морфологические и экологические различия между которыми велики - сосна кедровая сибирская (*Pinus sibirica* Du Tour) и кедровый стланик (*P. pumila* (Pall.) Regel.). Их ареалы перекрываются в Забайкалье, территории, расположенной на стыке трех флористических провинций и традиционно рассматриваемой как район массовой естественной гибридизации (Бобров, 1961). Многие авторы не считают эти виды филогенетически близкими (Комаров, 1927; Литвинцева, 1974; Critchfield, 1986 и др.). Это подтверждается данными биохимической (Белоконов и др., 1998) и молекулярной генетики (Liu et al., 2005 и др.). Мысль о возможности естественной гибридизации двух видов впервые высказана В.Н.Сукачевым (1929). Однако до последнего времени в научной литературе было описано всего несколько особей предположительно гибридного происхождения (Поздняков, 1952; Галазий, 1954; Моложников, 1975). Нами естественные гибриды впервые были обнаружены в северной части Хамар-Дабана (Горошкевич, 1999; Goroshkevich, 2004). Оказалось, что особи, занимающие четко промежуточное положение между двумя видами по комплексу морфологических признаков, характеризующих жизненную форму, скорость роста, структуру побегов, хвои и шишек не часто, но регулярно встречаются на всём протяжении высотного профиля за исключением верхних 100-150 м. Полное отсутствие фенологической репродуктивной изоляции, т.е. совпадение сроков цветения, создает возможность для скрещивания *P. sibirica* и *P. pumila*. Первые доказательства гибридной природы промежуточных по морфологии особей были получены Д.В. Политовым с соавторами (Politov et al., 1999). Позднее нами при использовании массового материала была описана генетическая структура и система скрещивания чистых видов и гибридов в одном из районов зоны гибридизации (Баргузинский заповедник, бухта Давша), установлен факт существования бэккроссов и гибридов второго поколения на стадии эмбрионов, а также однонаправленность переноса генов пыльцой от сосны кедровой сибирской к кедровому стланику (Petrova et al., 2006).

В рамках данной работы впервые проводится обобщение результатов исследования характеристик репродукции, генетической структуры и системы скрещивания сосны кедровой сибирской, кедрового стланика и их естественных гибридов в районах естественной гибридизации, контрастных по экологическим условиям и соотношению родительских видов.

В 2005 году были обследованы два района северной части области перекрытия ареалов *P. sibirica* и *P. pumila*: бухта реки Давша на северо-восточном побережье Байкала (территория Баргузинского заповедника) (БЗ) и дельта Верхней Ангары (ДВА). В ходе маршрутных наблюдений был проведен учет встречаемости видов и естественных гибридов, которых идентифицировали по двум основным признакам: габитусу и цвету созревающих шишек. К *P. pumila* относили все особи с шишками зеленого цвета, не имеющие вертикального ствола. *P. sibirica* считали особи с шишками фиолетового цвета и вертикальным стволом. Естественными гибридами считались особи с шишками фиолетового цвета, но без вертикального ствола. Особи с зелеными шишками и вертикальным стволом в популяциях отсутствовали. Шишки (по 5 шт.) собирали с 16 деревьев каждой группы (*P. sibirica*, *P. pumila*, естественные гибриды) в обоих районах исследования. У шишек определяли длину и максимальный диаметр. Для анализа структуры шишки чешуи отделяли от оси и подсчитывали их в проксимальной стерильной, медиальной фертильной и дистальной стерильной зоне. Семенами считали возникшие из семяпочек структуры любого размера, имевшие форму зрелого семени. Их делили на развитые (нормального размера) и недоразвитые. Затем при помощи сит с диаметром отверстий от 3 до 8 мм получали характеристику распределения семян по размеру. Развитые семена делили на пустые, с недоразвитым эндоспермом и полные. В полных семенах определяли наличие зародышей и их состояние (дифференцированные или нет), подсчитывали их число и измеряли длину (в долях от длины канала). Полные семена с дифференцированным зародышем взвешивали. Достоверность различий между выборками оценивали посредством однофакторного дисперсионного анализа (тест Шеффе, в таблице это показано буквами при цифрах) при уровне значимости 5%, статистическую обработку проводили в пакете Statistica 5.0. Для определения генетической структуры популяций видов и генотипов гибридных растений проводили горизонтальный электрофорез гаплоидных гаметофитов и диплоидных эмбрионов семян в крахмальном геле. Гистохимическое окрашивание срезов для выявления зон активности ферментов проводили по стандартным методикам (Manchenko, 1994; Politov, 1989). В анализ были включены локусы, кодирующие 16 ферментов: аконитазу (ACO, 4.2.1.3), алкоголь дегидрогеназу (ADH, 1.1.1.1), форматдегидрогеназу (FDH, 1.2.1.2), флуоресцентную эстеразу (FE, 3.1.1.1), глутамат дегидрогеназу (GDH, 1.4.1.2-4), глутаматоксалоацетат трансминазу (GOT, 2.6.1.1), изоцетрат-

дегидрогеназу (IDH, 1.1.1.42), лейцинаминопептидазу (LAP, 3.4.11.1), малатдегидрогеназу (MDH, 1.1.1.37), менадионредуктазу (MNR, 1.6.99.2), фосфоенолпируват карбоксилазу (PEPCase, 4.1.1.31), фосфоглуконатизомеразу (PGI, 5.3.1.9), 6-фосфоглуконат дегидрогеназу (PGD, 1.1.1.44), фосфоглюкомутазу (PGM, 5.4.2.2), шикиматдегидрогеназу (SKDH, 1.1.1.25) и супероксиддисмутазу (SOD, 1.15.1.1). Статистическая обработка данных о многолокусных генотипах проведена в пакете GenAlex V5 (Peakall, Smouse, 2001). Определены стандартные параметры генетической изменчивости видов и гибридов: среднее число аллелей на локус (Na), доля полиморфных локусов (P), средняя наблюдаемая (H_o) и ожидаемая гетерозиготности (H_e). Одновременный анализ гаметофита и эмбриона семени позволили установить гаплотип пыльцевого зерна и проанализировать структуру скрещивания растений чистых видов и гибридов в исследуемых районах. На основании данных о генетической структуре выборки родительских растений были определены аллели, характерные для каждого из родительских видов, и по наличию или сочетанию таких аллелей в гаплотипе пыльцевого зерна делали вывод о видовой принадлежности растения-опылителя. Наличие в гаплотипе пыльцы видоспецифических аллелей обоих родительских видов однозначно свидетельствует о гибридной природе растения-опылителя. Определение структуры скрещивания гибридов проводили в два этапа. Сначала путем сравнения генотипа материнского дерева и гаплотипа пыльцы были установлены все случаи перекрестного опыления (наличие в гаплотипе пыльцы аллелей, отсутствующих в генотипе материнского растения) и «вероятного» самоопыления. Затем среди «перекрестников» были выделены случаи опыления пыльцой, в гаплотипе которой были обнаружены 1) специфические аллели *P. sibirica* и отсутствовали аллели *P. pumila*, 2) специфические аллели *P. pumila* и отсутствовали аллели *P. sibirica*, 3) комбинация специфических аллелей этих видов.

В ходе проведения маршрутных наблюдений в первом районе (БЗ) особенно детально обследована узкая (40-50 м) прибрежная полоса, занятая хвойными лесами разного возраста и с разным соотношением *P. sibirica* и лиственницы. Кедр сибирский здесь многочисленный и мощный. *P. pumila*, напротив, встречается в виде единичных мощных клонов. Естественные гибриды распространены повсеместно, многие из них представляют собой старые, огромные клоны до 10 метров высотой и до 40 метров в диаметре. Количественное соотношение плодоносящих *P. sibirica*, *P. pumila* и естественных гибридов в первом районе – примерно 300:10:1.

Обследование второго участка (ДВА) показало, что покрытую древесной растительностью часть этого озерно-болотного района можно условно разделить на три зоны. Первая – это участки с *P. sibirica*, занимающие доли процента от общей площади болота, наиболее возвышенные, продуктивные участки. Был обследован участок площадью примерно 5 гектар. Установлено, что вся древесная

растительность имеет послепожарное происхождение, возраст деревьев – от 80-100 лет и меньше. *P. sibirica* встречался в количестве 20-30 штук на гектар, его высота до 10-12 м.; сосна, лиственница и береза встречались в насаждении в меньшем количестве. *P. pumila* – обильный и очень мощный, до 4-5 м высотой. Соотношение плодоносящих *P. pumila*, *P. sibirica* и естественных гибридов – примерно 60:3:1. Вторую, доминирующую по площади часть покрытой растительностью территории болота составляют низкопродуктивные заросли кедрового стланика. Обследован примерно один гектар таких зарослей. Высота кустов стланика в этой местности – до полутора метров, около половины даже крупных и старых экземпляров *P. pumila* не плодоносят. *P. sibirica* представлен единичными стерильными деревьями высотой до 2 метров. Ни одного гибрида в этой части болота найдено не было. Примерно 1-2% занимает переходная зона между первым и вторым типом растительности (зона 3). *P. sibirica* там стерильный, но более многочисленный и мощный, чем в зоне 2. *P. pumila* – промежуточный между 1 и 2 по размеру и плодоношению. Естественных гибридов особенно много, соотношение плодоносящих *P. pumila* и естественных гибридов – примерно 20:1.

В исследованных районах около 90% обследованных естественных гибридов по большинству признаков (структура хвои, побегов, кроны и др.) занимают строго промежуточное положение между видами, т.е. являются, скорее всего, гибридами первого поколения. Лишь два признака из числа изученных наследуются такими гибридами по принципу доминирования. Это цвет созревающих шишек (доминирует антоциановый, свойственный *P. sibirica*) и способность к образованию специализированных корневых зачатков из латентных почек (доминирует ее наличие, свойственное *P. pumila*). Примерно 10% гибридных растений характеризуются преобладанием признаков одного из видов, что позволяет предположительно считать их бек-кроссами на один из видов.

Информация о плодоношении, а также о структуре шишек и качестве семян являются основой для характеристики фертильности растительного организма, его потенциального и фактического участия в репродуктивных процессах популяции. По нашим данным, плодоношение *P. sibirica* в ДВА – слабое из-за небольших размеров кроны и малого числа женских побегов. Даже у самых старых 100-летних деревьев число женских побегов в кроне не превышало 10 шт., а число шишек 15-20 шт. Плодоношение *P. pumila* – обильное. У самых старых растений число шишек в среднем было 200-250 шт. Гибриды занимали промежуточное положение между видами. Промежуточными они были и по высоте дерева, при которой начинается плодоношение: 0,5-1 м у *P. pumila*, 1,5-2 м у естественных гибридов, 3-4 м у *P. sibirica*.

Во втором исследованном районе кедр сибирский плодоносит обильно. На стланике в текущем году было довольно много озимы, однако урожай зрелых шишек был невелик, большинство из них

были деформированы. Анализ следов на коре показал, что в прошлые годы урожай шишек был близок к нулю. Таким образом, *P.pumila* здесь не просто мало, но он еще и слабо плодоносит. Плодоношение естественных гибридов в основном слабое, т.к. большая часть их расположена под пологом леса и нормально плодоносят лишь немногие более или менее освещенные клоны.

По размеру шишки естественных гибридов в обоих исследованных районах занимали промежуточное положение между видами. Та же закономерность наблюдалась ранее при анализе структуры шишек с Хамар-Дабана (ХД) (Goroshkevich, 2004). При этом по длине шишки гибриды из популяций ДВА и ХД явно ближе к *P.sibirica*, а по ее диаметру – к *P.pumila* во всех исследованных популяциях. По общему числу чешуй в шишке положение естественных гибридов между двумя видами – строго промежуточное. На ХД не было существенных различий между видами и гибридами по соотношению трех зон шишки. В ДВА отсутствовали различия по доле фертильной зоны, в БЗ гибриды отличались от видов большим значением этого признака. В обоих исследованных районах Прибайкалья доля проксимальной зоны была выше у *P.pumila*, доля дистальной зоны – у *P.sibirica*, а гибриды занимали промежуточное положение.

Исходное число семяпочек было максимальным у *P.sibirica*, минимальным у *P.pumila*, строго промежуточным – у естественных гибридов. Признаки, расположенные в таблице ниже исходного числа семяпочек, характеризуют процесс их развития. При этом признаки, измеряемые в абсолютных единицах, показывают динамику сохранности семяпочек и семян к каждому из этапов их развития. В таблице 1 такие признаки перемежаются с относительными признаками, которые показывают потери на каждом из этапов развития в процентах от числа семяпочек или семян, сохранившихся к началу каждого этапа.

Часть семяпочек гибнут на самых ранних этапах развития (до опыления). Они представлены в зрелой шишке плоскими невесомыми остатками. Доля таких семяпочек на ХД была очень велика у *P.pumila*, почти в 3 раза меньше – у *P.sibirica*, а гибриды в этом отношении занимали промежуточное положение. В ДВА различия между вариантами по этому признаку были гораздо меньше, причем у гибридов его значение было почти таким же, как на ХД, у *P.sibirica* – значительно выше, а у *P.pumila* – значительно ниже. В БЗ гибриды характеризовались меньшим значением этого показателя, чем в других районах, и их потери на этом этапе были даже ниже, чем у видов.

Гаметофитная смертность семяпочек (доля недоразвитых семян) во всех исследованных районах у гибридов была очень высокой (на ХД и в БЗ – значительно выше, чем в ДВА), у видов – относительно низкой. Для обоих "чистых" видов характерно 2-модальное распределение семян по размеру: они четко делятся на мелкие (недоразвитые) и нормальные (развитые); семена промежуточного

размера отсутствуют. У всех изученных естественных гибридов распределение семян по размеру непрерывное, причем, семена промежуточного размера встречаются, как правило, так же часто, как мелкие и нормальные.

Гибель семяпочек после оплодотворения (доля пустых семян) на ХД и в БЗ была максимальной у гибридов, тогда как в ДВА гибриды в этом отношении были сходны с кедром сибирским. У "чистых" видов на ХД и в БЗ значение признака было одинаково низким (в 6-8 и 3-4 раза, соответственно, ниже, чем у гибридов), а в ДВА низкая доля пустых семян была характерна только для *P.pumila*. Доля семян с недоразвитым эндоспермом на ХД была в 5 (*P.sibirica*, гибриды) – 20 (*P.pumila*) раз, в БЗ – примерно в 2 (*P.sibirica*), 4 (гибриды) и 9 (*P.pumila*) раз выше, чем в ДВА. Потери гибридных растений и на этом этапе развития были максимальными. Часть семян с нормально развитым эндоспермом не имели зародыша. У "чистых" видов, особенно у *P.sibirica*, они встречались очень редко, у гибридов – в 7-200 раз чаще. Семена с недифференцированным зародышем на ХД и в БЗ встречались в 2-20 раз чаще, чем в ДВА. На ХД и в ДВА их доля у гибридов была значительно выше, чем у "чистых" видов; в БЗ доля таких семян у гибридов была выше, а практически не отличалась от этого показателя у кедрового стланика. Полиэмбриония обнаружена во всех 3 группах, но у гибридов она встречалась значительно чаще (10%), чем у *P.pumila* (3%) и *P.sibirica* (1%). Масса полного семени у *P.sibirica* в 1,5 (ДВА) – 3 (ХД, БЗ) раза больше, чем у *P.pumila*. Естественные гибриды по этому признаку занимают строго промежуточное положение между видами. Наконец, такой важнейший показатель продуктивности, как доля семян с дифференцированным зародышем, в БЗ и на ХД у гибридов составляет 2-3 процента, что гораздо меньше, чем у чистых видов. В этом отношении популяция ДВА демонстрирует принципиальные отличия, т.к. там доля семян с дифференцированным и, следовательно, потенциально жизнеспособным зародышем составляет 25 процентов, что хоть и ниже, но вполне сопоставимо со значениями, полученными для чистых видов. Генотипы 21 дерева *P.sibirica*, 24 *P.pumila* и 20 естественных гибридов из популяции БЗ, а также частоты аллелей в выборках *P.sibirica*, *P.pumila*, на основании анализа 72 и 40 семян, соответственно, и генотипы 16 гибридов из популяции ДВА были определены по 29 аллозимным локусам. Локус *Mdh-1* был мономорфен во всех выборках обоих исследованных районов. Локусы *Gdh*, *Got-3*, *Idh*, *Pepca*, *6-Pgd-3*, *Pgi-1*, *Pgm-2* и *Skdh-2* были фиксированы в выборках *P.sibirica* из обоих районов, к тому же в БЗ были мономорфны локусы *6-Pgd-2* и *Sod-2*, в ДВА – локусы *Got-1* и *Got-2*. В выборках кедрового стланика не обнаружено полиморфизма по локусам *Adh-1*, *Got-1* и *Sod-3*, локус *Pgi-1* был мономорфен в БЗ, *6-Pgd-2* – в ДВА. Установлено, что ряд аллелей по локусам *Adh-1*, *Fest-2*, *Lap-3*, *Sod-3* и *Skdh-1* встречаются только у кедра сибирского, тогда как некоторые аллели по локусам

Fest-2, *Gdh*, *Got-3*, *Idh*, *Lap-3*, *Mdh-2*, *Mdh-4*, *Mnr-1*, *Pepca*, *Pgi-1*, *6Pgd-2*, *6Pgd-3*, *Pgm-1*, *Pgm-2*, и *Sod-2* обнаружены только у *P. pumila*. По большинству этих локусов генетическая структура выборки гибридов характеризовалась комбинацией аллелей, типичных для родительских видов. К тому же, все гибриды были гетерозиготны по локусу *Skdh-2*, со-

четая в генотипе аллель, типичный для *P. Sibirica*, и один из аллелей *P. pumila*. Ранее этот локус был рекомендован как диагностический генетический маркер для определения гибридов *P. pumila* × *P. sibirica* (Politov et al., 1999), и наши исследования подтверждают возможность его использования для этой цели.

Таблица 1 - Структура шишек и качество семян *P.sibirica*, *P.pumila* и естественных гибридов

Признак	Хамар-Дабан, 1998 г. (Goroshkevich, 2004)			Дельта Верхней Ангары, 2005 г.			Баргузинский заповедник, 2005 г.		
	<i>Pinus sibirica</i>	Гибриды	<i>Pinus pumila</i>	<i>Pinus sibirica</i>	Гибриды	<i>Pinus pumila</i>	<i>Pinus sibirica</i>	Гибриды	<i>Pinus pumila</i>
Длина шишки, см	5,04a	4,03b	3,01c	5,18a	4,85a	4,05b	6,16a	4,55b	3,43c
Диаметр шишки, см	4,32a	3,04b	2,11c	4,54a	3,39b	3,00c	4,81a	3,04b	2,31c
Число чешуй в шишке, шт.	73,6a	55,9b	37,6c	65,7a	48,8b	39,7c	85,5a	56,5b	41,4c
Доля проксимальной стерильной зоны, %	35,0a	31,8a	30,9a	30,9a	35,4ab	37,4b	28,5a	27,9a	31,9b
Доля дистальной стерильной зоны, %	18,7a	17,6a	21,4a	18,7a	10,8b	9,86b	15,3a	11,4b	13,9ab
Доля медиальной (фертильной) зоны, %	46,4a	50,7a	47,7a	50,4a	53,7a	52,8a	56,2a	60,7b	54,3a
Исходное число семян, шт.	68,3a	57,0ab	35,9b	65,1a	52,7b	42,3c	96,6a	68,9b	45,1c
Доля семян, погибших на ранних стадиях развития, %	15,5b	32,2a	43,9a	30,5ab	35,0a	23,0b	34,0a	22,5b	39,1a
Число семян, шт.	58,3a	38,6b	20,7c	46,7a	35,3b	32,7b	64,9a	53,2b	28,1c
Доля недоразвитых семян, %	14,6b	52,0a	27,9b	6,0b	32,1a	3,4b	10,7a	50,7b	12,7a
Число развитых семян, шт.	49,5a	19,6b	14,1b	44,7a	28,2b	31,8b	57,9a	26,2b	24,5b
Доля пустых семян, %	3,2b	24,6a	5,3b	31,7a	29,8a	3,8b	19,6a	62,3b	18,3a
Число семян с эндоспермом, шт.	48,0a	14,9b	13,5b	30,5a	20,4b	30,6b	46,5a	9,90b	19,9c
Доля семян с недоразвитым эндоспермом, %	32,3b	79,2a	63,0a	6,4b	14,1a	3,0b	12,4a	59,2b	31,3c
Число семян с развитым эндоспермом, шт.	32,5a	3,6b	5,0b	28,6a	17,6b	29,7a	40,7a	4,05b	13,7c
Доля семян без зародыша, %	0,2b	48,5a	5,9b	0,08b	8,11a	0,50b	2,63a	15,6b	18,7b
Число семян с зародышем, шт.	32,4a	1,6c	4,7b	28,6a	16,2b	29,6a	39,6a	3,35b	11,1c
Доля семян с недифференцированным зародышем, %	5,8b	35,3a	17,8ab	0,25b	18,3a	1,6b	2,64 a	38,98b	40,84b
Число семян с дифференцированным зародышем, шт.	30,5a	1,0c	3,9b	28,5a	13,2b	29,1a	38,6a	2,05b	6,57c
Доля семян с дифференцированным зародышем, % от исходного числа семян	44,7a	1,8c	10,9b	43,8a	25,1c	68,8b	41,8a	3,07b	15,4c
Масса одного полного семени, мг	216,2a	142,4b	72,3c	230,0a	159,1b	97,5c	233,6a	148,1b	79,1c

Сравнительный анализ параметров генетической изменчивости кедрового и кедрового стланика показал, что в обоих районах исследования *P.pumila* характеризуется большим средним числом аллелей на локус, долей полиморфных ло-

кусов, а также большей ожидаемой и наблюдаемой (БЗ) гетерозиготностью, чем *P.sibirica* (таблица 2). Высокая внутривидовая генетическая изменчивость *P.pumila* относительно других видов сосен подсемейства *Cembrae* отмечалась ранее

(Polítov, Krutovskii, 2004). Поскольку в генотипах естественных гибридов сочетаются аллели, специфичные для родительских видов, генетическая изменчивость в выборках гибридных растений максимальна. При этом наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность гибридов из популяции БЗ несколько выше, чем из ДВА.

Генотипы эмбрионов семян *P. sibirica*, *P. pumila* и естественных гибридов были установлены по 23 изоферментным локусам. Анализ эмбрионального пула показал, что в районе с преобладанием *P. sibirica* (БЗ) от опыления его пыльцой сформировалось примерно 27% зародышей в семенах кедрового стланика, в то время как в генотипах эмбрионов семян кедра сибирского аллелей, специфичных для кедрового стланика, не обнаружено. Около 8% пыльцевых гаплотипов, выявленных при анализе

генотипов зародышей кедрового стланика, сочетали специфические аллели *P. pumila* и *P. sibirica*, т.е. в качестве опылителя выступали гибридные растения. В районе с альтернативным соотношением родительских видов (ДВА) все проанализированные семена кедрового стланика были опылены пыльцой своего вида, лишь 1,4% эмбрионов в семенах *P. sibirica* имели пыльцевой вклад *P. pumila*, столько же - пыльцевой вклад гибридов. Исследование структуры скрещивания гибридных растений позволяет заключить, что основную часть потомства (из числа перекрестноопыленных) составляют эмбрионы, развившиеся в результате опыления семян родительским видом, который доминирует в данном насаждении. Так, в БЗ 82,61% зародышей семян гибридов имели пыльцевой вклад кедра сибирского, 14,13% - кедрового стланика.

Таблица 2 - Генетическая изменчивость *P. pumila*, *P. sibirica* и естественных гибридов

Район	Баргузинский заповедник				Дельта Верхней Ангары			
Показатель	Na	P	H _O	H _E	Na	P	H _O	H _E *
<i>P. pumila</i>	2,24	82,76	0,269	0,271	2,07	82,76		0,259
Гибриды	2,48	93,10	0,383	0,308	2,55	86,21	0,343	0,268
<i>P. sibirica</i>	1,83	58,62	0,130	0,125	1,86	62,07		0,166

* - Рассчитано по частотам аллелей, полученным при анализе гаплотипов эндоспермов семян (для видов) и генотипов (для гибридов).

В ДВА, напротив, большинство (75,49%) семян гибридных растений были опылены пыльцой кедрового стланика, 12,75% - пыльцой кедра сибирского. В обоих исследованных районах нами установлены случаи опыления гибридов пыльцой других гибридных растений (не самоопыление). Доля гибридной пыльцы в эффективном пыльцевом пуле семян гибридных растений в ДВА составляет 11,76%, что более чем в три раза выше по сравнению с БЗ, где аналогичный показатель составляет 3,26%.

Таким образом, в обоих исследованных районах Прибайкалья происходит достаточно интенсивная естественная гибридизация между *P. sibirica* и *P. pumila*, гибриды встречаются в количестве 2-5% от общего числа плодоносящих деревьев. Промежуточное положение между видами по структурным признакам, таким как размер шишек и семян, подчеркивает гибридную природу этих растений. Существенно повышенный по сравнению с "чистыми" видами уровень смертности и недоразвития репродуктивных структур на всех этапах генеративного цикла свидетельствует о пониженной продуктивности естественных гибридов. Вместе с тем, фертильность гибридов в дельте Верхней Ангары по нашим оценкам составила около 25% и, следовательно, в благоприятные годы вполне сравнима с фертильностью растений родительских видов. Генетическая структура выборки гибридных растений характеризуется сочетанием аллелей, специфичных для *P. sibirica* и *P. pumila*, что объясняет их повышенную относительно родительских видов генетическую изменчивость. Анализ структуры скрещивания показал, что чуть больше процента семян

кедра сибирского опыляется пыльцой стланика в насаждении с численным преобладанием последнего, в то время как в насаждении с контрастным численным соотношением родительских видов доля семян *P. pumila*, опыленных *P. sibirica*, почти в двадцать раз больше. Это свидетельствует о предпочтительном участии кедрового стланика в качестве материнского растения и кедра сибирского - в качестве опылителя при естественной гибридизации этих видов. Основную роль в опылении гибридов играет родительский вид, который доминирует в данном насаждении. Также установлено наличие бэк-кроссов и гибридов второго поколения на стадии зародышей. Этих фактов вполне достаточно для того, чтобы утверждать: естественная гибридизация между *P. pumila* и *P. sibirica* в Прибайкалье не ограничивается наличием гибридов первого поколения, а приобретает вид настоящей интрогрессии видовых геномов.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 07-04-00593), Программы фундаментальных исследований СО РАН, проект № 6.3.1.16 "Разнообразие в экосистемах бореальных лесов: динамические и функциональные аспекты"; проект № 7.10.1.3 "Исследование современных экосистемных изменений в Сибири и связанных с ним рисков природопользования", Программы фундаментальных исследований Президиума РАН, "Происхождение и эволюция биосферы, Подпрограмма II, Направление 7": проект "Закономерности структурно-функциональной реорганизации геномов в биологической эволюции" (2003-2007), Гранта Президента РФ для поддержки ведущих научных школ РФ НШ-8596.2006.4 (2006-2008).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Белоконь, М.М. Генетическая дифференциация сосен подсекции *Strobus*: данные изоферментного анализа / М.М. Белоконь [и др.] // Доклады Академии наук. - 1998. - Т. 358. - № 5. - С. 699-702.
- Бобров, Е.Г. Интрогрессивная гибридизация во флоре Байкальской Сибири / Е.Г. Бобров // Ботанический журнал. - 1961. - Т. 46. - №3. - С. 317-327.
- Бобров, Е.Г. Лесообразующие хвойные СССР [Текст] / Е.Г. Бобров. - Л.: Наука, 1978. - 208 с.
- Галазий, Г.И. Вертикальный предел древесной растительности в горах Восточной Сибири и его динамика / Г.И. Галазий // Тр. Ботанического ин-та АН СССР. - С-П, Наука, 1954. - Т. 3. - № 9. - С. 210-329.
- Горошкевич, С.Н. О возможности естественной гибридизации *Pinus sibirica* и *Pinus pumila* в Прибайкалье / С.Н. Горошкевич // Ботанический журнал. - 1999. - Т. 84. - № 9. - С. 48-57.
- Грант, В. Эволюция организмов [Текст] / В. Грант. - М.: Мир, 1980. - 407 с.
- Комаров, В.Л. Флора полуострова Камчатки [Текст] / В.Л. Комаров. - Л.: Изд-во АН СССР, 1927. - Т. 1. - 339 с.
- Коропачинский, И.Ю. Ботанико-географические и лесоводственные аспекты естественной гибридизации древесных растений / И.Ю. Коропачинский // Лесоведение. - 1992. - №2. - С.3-10.
- Литвинцева, М.В. Особенности строения клеток паренхимы хвои у видов *Cembrae* рода *Pinus* / М.В. Литвинцева // Бот. журн. - 1974. - Т. 59. - № 10. - С. 1501-1505.
- Милютин, Л.И. Взаимоотношения и изменчивость близких видов древесных растений в зонах контакта их ареалов на примере лиственниц сибирской и даурской / Л.И. Милютин // автореф. дис. ... д-ра биол. наук. - Красноярск, 1983. - 45 с.
- Моложников, В.Н. Кедровый стланик горных ландшафтов Северного Прибайкалья [Текст] / В.Н. Моложников. - М.: Наука, 1975. - 203 с.
- Поздняков, Л.К. Древовидная форма кедрового стланика / Л.К. Поздняков // Ботанический журнал. - 1952. - Т. 37. - С. 688-691.
- Попов, П.П. Влияние интрогрессивной гибридизации елей европейской и сибирской на структуру и дифференциацию популяций / П.П. Попов // Экология. - 1992. - №5. - С.10-17.
- Попов, П.П. Гибридная ель на северо-востоке Европы / П.П. Попов // Лесоведение. - 1996. - №2. - С.62-72.
- Сукачев, В.Н. Предварительный отчет о Байкальской экспедиции АН в 1926 г. [Текст] / В.Н. Сукачев. - Л.: Наука, 1929. - С.10-18.
- Critchfield, W.B. Hybridization and classification of the white pines (*Pinus* section *Strobus*) / W.B. Critchfield // Taxon. - 1986. - V.35. - No 4. - P. 647 - 656.
- Goroshkevich, S. N. Natural hybridization between Russian stone pine (*Pinus sibirica*) and Japanese stone pine (*Pinus pumila*) / S.N. Goroshkevich // In: Snieszko, Richard A.; Samman, Safiya; Schlarbaum, Scott E.; Kriebel, Howard B. eds. 2004. Breeding and genetic resources of five-needle pines: growth, adaptability, and pest resistance; 2001 July 23-27; Medford, OR, USA. IUFRO Working Party 2.02.15. Proceedings RMRS-P-32. Fort Collins, CO: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station. - P. 169-171.
- Liu, Gui-feng. Analysis of genetic relationship in 12 species of section *Strobus* with ISSR markers / Gui-feng Liu, Jing-xiang Dong, Ying Jiang, Yan-fang Lu, Guang-yi Zhao // Journal of Forestry Research. - 2005. - V. 16. - N 3. - P. 213-215.
- Manchenko, G.P. Handbook of detection of enzymes on electrophoretic gels. / G.P. Manchenko // CRC Press, 1994. - 574 p.
- Peacall, R. GenAlEx V5: Genetic Analysis in Excel. Population Genetic Software for Teaching and Research. / R. Peacall, P.E. Smouse // Canberra, Australia, Austr. Nat. Univ., 2001. <http://www.anu.edu.au/BoZo/GenAlEx>.
- Petrova, E.A. Population Genetic Structure and Mating System in the Hybrid Zone Between *Pinus sibirica* Du Tour and *Pinus pumila* (Pall.) Regel at the eastern Baikal Lake shore / E. A. Petrova, S. N. Goroshkevich, M.M. Belokon, Yu.S. Belokon, D.V. Politov // Abstracts of IUFRO Conference: «Breeding and Genetic Resources of Five-Needle Pines». Romania. - 2006. - P. 18.
- Politov, D.V. Allozyme polymorphism, genetic differentiation and mating system of Siberian stone pine *Pinus sibirica* Du Tour. Ph. D. Thesis. Moscow, 1989, 170 pp. 1989.
- Politov, D.V. Genetic evidence of natural hybridisation between siberian stone pine, *Pinus sibirica* Du Tour, and dwarf Siberian pine, *P. pumila* (Pall.) Regel / D.V. Politov, M.M. Belokon, O.P. Maluchenko, Yu.S. Belokon, V.N. Molozhnikov, L.E. Mejnartowicz and K.V. Krutovskii // Forest Genetics. - 1999. - V. 6. - 1. - P. 41-51.
- Politov, D.V. Phylogenetics, Genogeography and Hybridization of Five-Needle Pines in Russia and Neighboring Countries / D.V. Politov, K.V. Krutovskii // In: Snieszko, Richard A.; Samman, Safiya; Schlarbaum, Scott E.; Kriebel, Howard B. eds. 2004. Breeding and genetic resources of five-needle pines: growth, adaptability, and pest resistance; 2001 July 23-27; Medford, OR, USA. IUFRO Working Party 2.02.15. Proceedings RMRS-P-32. Fort Collins, CO: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station. P.85-97
- Stebbins, G.L. Variation and Evolution in Plants / G.L. Stebbins // Columbia University Press, New York. 1950.

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