

Сравнительный анализ генетического полиморфизма в популяциях кедров сибирского (*Pinus sibirica* Du Tour) из Уральской и Алтае-Саянской горных областей

Genetic polymorphism in Siberian stone pine (*Pinus sibirica* Du Tour) populations from Ural and Altai-Sayan mountains

Петрова Е. А.¹, Белоконов Ю. С.²

Petrova E. A.¹, Belokon Yu. S.²

¹ Институт мониторинга климатических и экологических систем СО РАН, г. Томск, Россия. E-mail: e_a_petrova@mail.ru

¹Institute of monitoring of climatic and ecological systems of SB RAS, Tomsk, Russia

² Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН, г. Москва, Россия. E-mail: yuri_b@vigg.ru

² Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia

Реферат. В статье представлены результаты анализа изменчивости 23 аллозимных локусов в 10 популяциях кедров сибирского (*Pinus sibirica* Du Tour). Популяции из горных районов Южной Сибири имели в среднем более высокую долю полиморфных локусов и среднее число аллелей на локус ($P_{99\%} = 44,57\%$, $N_A = 1,543 \pm 0,014$) по сравнению с уральскими популяциями ($P_{99\%} = 29,57\%$, $N_A = 1,348 \pm 0,015$). Средние наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготности в популяциях Алтае-Саянской ($H_O = 0,087 \pm 0,007$ и $H_E = 0,090 \pm 0,004$) и Уральской ($H_O = 0,083 \pm 0,008$ и $H_E = 0,082 \pm 0,005$) горных областей имели близкие значения. Около 8,4 % общего генетического разнообразия объясняется различиями между изученными популяциями. Результаты многомерного анализа данных подтверждают существование Алтае-Саянского и Уральского рефугиумов в постледниковый период и расселение кедров сибирского на север из Уральского ледникового убежища.

Ключевые слова. Аллозимы, генетический полиморфизм, кедр сибирский, популяционная генетика, рефугиумы.

Summary. The article presents the results of analysis of the variability of 23 allozyme loci in 10 populations of Siberian Stone pine. Populations from South Siberia mountain regions had higher percentage of polymorphic loci in average and mean number of alleles per loci ($P_{99\%} = 44,57\%$, $N_A = 1,543 \pm 0,014$) compared to Ural populations ($P_{99\%} = 29,57\%$, $N_A = 1,348 \pm 0,015$). The average values of the observed and expected heterozygosity in the populations of the Altai-Sayan ($H_O = 0,087 \pm 0,007$ and $H_E = 0,090 \pm 0,004$) and the Ural mountain region ($H_O = 0,083 \pm 0,008$ и $H_E = 0,082 \pm 0,005$) were close. About 8.4% of the total genetic diversity is due to differences between the studied populations. The results of multidimensional data analysis confirm the existence of the Altai-Sayan and Ural refugia in the post-glacial period and the dispersal of Siberian stone pine to the North from the Ural glacier refugium.

Key words. Allozymes, genetic polymorphism, population genetics, refugia, Siberian stone pine.

Кедр сибирский, или сосна кедровая сибирская (*Pinus sibirica* Du Tour) – хозяйственно-ценный вид, который является одним из основных эдификаторов лесных экосистем бореальной зоны Евразии. Ареал кедров простирается от полярного круга на севере до горных систем Южной Сибири, от границы вечной мерзлоты на востоке до северо-востока Европейской части России, где ареал ограничен конкуренцией с елью европейской и антропогенным фактором (Семечкин и др., 1985). Есть данные, что в ледниковое время кедр сибирский сохранился в трех рефугиумах – Уральском, Алтае-Саянском и Прибайкальском (Бляхарчук, 2010), из которых распространялся, формируя современный ареал. Высокая экологическая пластичность и хозяйственная ценность кедров сибирского давно привлекает внимание генетиков и селекционеров к проблеме изучения, сохранения и воспроизводства генофонда вида. Современная пространственная структура генофондов большинства видов Северной Америки и Евразии сформирована динамикой ареалов в четвертичный период, обусловленной климатическими колебани-

ями (Hewitt, 2000; 2004). Для изучения генофонда древесных растений часто используют генетические маркеры – аллозимы. Исследования аллозимной изменчивости в популяциях кедр сибирского проводятся с конца 80-х гг. XX в., за этот период проанализирована генетическая структура, получены оценки подразделенности и дифференциация ряда популяций (Гончаренко и др., 1987; Гончаренко и др., 1988; Крутовский и др., 1989, Politov D. V., Krutovskii K. V., 2004). Нами ранее выявлены закономерности изменения частоты встречаемости ряда аллозимов вдоль широтного и долготного профилей ареала кедр, что, возможно, связано с историей расселения вида в плейстоцене (Петрова и др., 2014).

Целью исследования является сравнительный анализ генетической изменчивости и подразделенности популяций кедр сибирского Уральской и Алтае-Саянской горных областей, где в постледниковую эпоху сформировались первые эдификаторные ядра ареала вида.

Проведен генетический анализ растительного материала 284 деревьев кедр сибирского из 10 популяций: четыре популяции из Алтае-Саянской горной области, пять – из Уральской горной области, а также популяция с севера Западной Сибири, которая включена в исследование с целью тестирования гипотезы о распространении кедр сибирского на север ареала из Уральского рефугиума (табл.).

Таблица

Генетическая изменчивость в популяциях кедр сибирского Алтае-Саянской и Уральской горной областей и с севера Западной Сибири.

| | Название выборки | Обозначение | Географ. координаты | N | N_A | H_O | H_E | $P_{99\%}$ | F |
|------------------|-------------------------------|-------------|---------------------------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|
| 1 | Джазатор | Дж | 49°44' с. ш. 87°23' в. д. | 47 | 1,522 ± 0,152 | 0,081 ± 0,026 | 0,094 ± 0,034 | 43,48% | 0,035 ± 0,041 |
| 2 | Чекырский перевал | Чк | 51°01' с. ш. 85°07' в. д. | 22 | 1,522 ± 0,152 | 0,099 ± 0,036 | 0,094 ± 0,033 | 43,48% | -0,029 ± 0,039 |
| 3 | Кыга | Кг | 51°19' с. ш. 87°50' в. д. | 45 | 1,565 ± 0,164 | 0,071 ± 0,028 | 0,079 ± 0,031 | 43,48% | 0,058 ± 0,028 |
| 4 | Большой Он | БО | 52° | 22 | 1,565 ± 0,138 | 0,095 ± 0,030 | 0,092 ± 0,030 | 47,83% | -0,050 ± 0,022 |
| Регион | Алтае-Саянская горная область | | | 136 | 1,543 ± 0,014 | 0,087 ± 0,007 | 0,090 ± 0,004 | 44,57% | 0,004 ± 0,039 |
| 5 | Невьянск | Нв | 57° | 14 | 1,391 ± 0,122 | 0,106 ± 0,038 | 0,095 ± 0,033 | 34,78% | -0,097 ± 0,042 |
| 6 | Новая Ляля | НЛ | 59°03' с. ш. 60°36' в. д. | 17 | 1,348 ± 0,135 | 0,079 ± 0,033 | 0,088 ± 0,035 | 26,09% | 0,083 ± 0,039 |
| 7 | Конжаковский камень | КК | 59°37' с. ш. 59°08' в. д. | 20 | 1,304 ± 0,117 | 0,083 ± 0,032 | 0,071 ± 0,027 | 26,09% | -0,147 ± 0,021 |
| 8 | Корткерос | Кртк | 61°48' с. ш. 51°32' в. д. | 35 | 1,348 ± 0,119 | 0,057 ± 0,024 | 0,068 ± 0,028 | 30,43% | 0,133 ± 0,046 |
| 9 | Кедровый Шор | КШ | 64°48' с. ш. 57°32' в. д. | 36 | 1,348 ± 0,119 | 0,088 ± 0,037 | 0,086 ± 0,033 | 30,43% | -0,005 ± 0,057 |
| Регион | Уральская горная область | | | 122 | 1,348 ± 0,015 | 0,083 ± 0,008 | 0,082 ± 0,005 | 29,57% | -0,007 ± 0,059 |
| 10 | Хантыпитляр | Хп | 65°48' с. ш. 65°52' в. д. | 26 | 1,478 ± 0,152 | 0,117 ± 0,042 | 0,124 ± 0,042 | 39,13% | 0,013 ± 0,057 |
| Регион | Север Западной Сибири | | | 26 | 1,478 ± 0,152 | 0,117 ± 0,042 | 0,124 ± 0,042 | 39,13% | 0,013 ± 0,057 |
| Среднее значение | | | | 28,322 ± 0,729 | 1,439 ± 0,043 | 0,088 ± 0,010 | 0,089 ± 0,010 | 36,52% ±2,53% | -0,001 ± 0,013 |

Примеч.: N – число особей, N_A – среднее число аллелей на локус, H_O – наблюдаемая гетерозиготность, H_E – ожидаемая гетерозиготность, $P_{99\%}$ - доля полиморфных локусов по 99 % критерию, %, F – коэффициент инбридинга. В таблице приведены средние значения ± стандартная ошибка.

С помощью горизонтального электрофореза изоферментов в крахмальном геле установлены индивидуальные генотипы деревьев по 23 аллозимным локусам, кодирующим 15 ферментных систем: алкогольдегидрогеназа (ADH, КФ 1.1.1.1), формиатдегидрогеназа (FDH, КФ 1.2.1.2), флуоресцентная эстераза (FEST, КФ 3.1.1.1), глутаматдегидрогеназа (GDH, КФ 1.4.1.2), глутаматоксалоацетаттрансаминаза (GOT, КФ 2.6.1.1), изоцитратдегидрогеназа (IDH, КФ 1.1.1.42), лейцинаминопептидаза (LAP, КФ 3.4.11.1), малатдегидрогеназа (MDH, КФ 1.1.1.37), менадионредуктаза (MNR, КФ 1.6.99.2), 6-фосфоглюконатдегидрогеназа (6-PGD, КФ 1.1.1.44), фосфоглюкоизомераза (PGI, КФ 5.3.1.9), фосфоглюкомутаза (PGM, КФ 2.7.5.1), фосфоенолпируваткарбоксилаза (PEPСА, КФ 4.1.1.31), шикиматдегидрогеназа (SKDH, КФ 1.1.1.25), супероксиддисмутаза (SOD, КФ 1.15.1.1). Обработку генетических данных проводили в программе GenAlEx V6.502 (Peakall, Smouse, 2006; 2012). Полностью мономорфными в исследованных популяциях оказались локусы *Gdh*, *Got-3*, *Mdh-1*, *6-Pgd-3*, *Pgm-2*, *Sod-2*, *Mnr-1* и *Pepca*. Анализ частот аллелей показал, что к слабо полиморфным можно отнести локусы *Got-1*, *Lap-2*, *Mdh-2*, частота встречаемости редких аллелей по которым в отдельных популяциях не превышает 5 %.

Доля полиморфных локусов по 99 % критерию ($P_{99\%}$) в популяциях Уральской горной области в среднем на 30 % ниже, чем в Алтае-Саянских популяциях (табл.). Горы Южной Сибири занимают значительную территорию, и в ледниковое время кедр сибирский мог сохраниться в большем количестве локальных убежищ, по сравнению с Уралом. Это увеличивает вероятность сохранения генного разнообразия в Южно-Сибирских популяциях кедра сибирского.

Популяция с северной границы распространения кедра сибирского в Западной Сибири характеризуется средними значениями по отношению к значениям параметров аллельного разнообразия в изучаемых регионах (табл.). Установленные нами значения N_A и $P_{99\%}$ несколько ниже опубликованных для кедра сибирского другими авторами (Крутовский и др., 1989; Гончаренко, Силин, 1997), однако очень близки к полученным нами ранее при исследовании 11 экотипов широтного и долготного профиля по 26 аллозимным локусам: $N_A = 1,45$, $P_{99\%} = 39,51$ % (Петрова и др., 2014). Различия наших данных и результатов ранее проведенных исследований связаны, вероятнее всего, с различными наборами исследованных локусов, в частности, с вовлечением в анализ большего числа изоферментных систем, кодируемых, в том числе, и мономорфными локусами.

Наблюдаемая гетерозиготность (H_O) в популяциях Алтае-Саянской и Уральской горных областей имеет сходные значения – в среднем 8–9 % исследованных локусов произрастающих здесь деревьев кедра сибирского находятся в гетерозиготном состоянии. Более высокая гетерозиготность (12 %) отмечена в популяции с северной границы распространения кедра сибирского (Хп). Средняя ожидаемая гетерозиготность (генетическое разнообразие) (H_E) в большинстве случаев имела значения, близкие к наблюдаемой, что свидетельствует о соответствии распределения генотипов ожидаемому при равновесии по Харди-Вайнбергу. Исключением являются выборки КК и Кртк, для которых выявлена существенная разница между H_O и H_E . Коэффициент инбридинга, который характеризует степень близкородственности скрещиваний в популяции, имеет отличные от нуля значения именно в этих выборках. Отрицательное значение коэффициента инбридинга ($-0,147 \pm 0,021$) получено нами для популяции с предгорий одной из самых высоких вершин Северного Урала «Конжаковский камень», что, вероятно, связано с естественным отбором в пользу гетерозиготных генотипов. Положительное значение F , свидетельствующее о наличии в популяции близкородственных скрещиваний, выявлено в выборке Кртк. Данная популяция представляет собой изолят, который отделен от зоны сплошного произрастания кедра сибирского расстоянием 320–400 км. По нашим данным, доля кедра сибирского в этом насаждении довольно мала, в первом ярусе насаждения кедр встречается в примеси, подрост кедра малочисленный. Это является, по сути, крайней точкой распространения кедра сибирского на запад. Под влиянием глобального изменения климата и антропогенного воздействия кедр сокращает свое присутствие на территории европейской части континента, его ареал фрагментируется, а популяционный генофонд претерпевает изменения, первые признаки которого мы наблюдаем в популяции «Корткерос».

Полученные нами значения средней наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности несколько ниже значений, сообщенных ранее при исследовании аллозимного полиморфизма популяций кедра сибирского. Так, при анализе девяти популяций кедра сибирского из Западных Саян, Горного Алтая и Томской области, средняя наблюдаемая гетерозиготность по 19 изоферментным локусам составила

0,163, ожидаемая – 0,156 (Крутовский и др., 1989). В исследовании девяти популяций из Казахстанского Алтая, Алтайского края, Томской и Тюменской областей по 20 изоферментным локусам H_o составила 0,154, H_E – 0,165 (Гончаренко, Силин, 1997). Нами ранее при изучении изменчивости экотипов кедра сибирского, представляющих широтный и долготный профили ареала вида, получены значения $H_o = 0,110$, $H_E = 0,104$ (Петрова и др., 2014). Вероятно, сравнительно низкая гетерозиготность и генное разнообразие популяций Уральской и Алтае-Саянской горных областей связано с их произрастанием на «отступающих» границах ареала вида, где присутствие кедра сокращается в связи с изменением климатических условий. В настоящее время отмечено влияние климатических изменений на динамику ареалов бореальных видов хвойных, продвижение ареалов в широтном направлении – на север (Rehfeldt et al., 2004; Savolainen et al., 2011), в частности в Сибири – перераспределение растительных зон и популяций лесообразующих древесных видов (Чебакова и др., 2003). Выборка Хп представляет собой фрагмент «наступающей», самой северной популяции с относительно высокой численностью (200 шт./га) взрослых генеративных деревьев кедра (возраст 120–240 лет). Здесь вид плодоносит и имеет возобновительный потенциал (Велисевич, 2017). Вероятно, поэтому величины H_o и H_E здесь выше, чем в популяциях изучаемых горных областей.

Подразделенность популяций оценивали с помощью F -статистик (Wright, 1978). Поскольку задачей исследования является сравнение генетического разнообразия *P. sibirica* в Уральской и Алтае-Саянской горных областях, нами были рассчитаны показатели подразделенности в этих группах популяций. Оказалось, что на долю изменчивости между популяциями Алтае-Саянского региона приходится 2,1 % общей генетической изменчивости, в то время как межпопуляционная изменчивость в пределах Уральского региона составила 5,4 %. Анализ F_{ST} показал, что изоферментные локусы вносят различный вклад в генетическую подразделенность популяций кедра сибирского. Наибольший вклад в подразделенность Южно-Сибирских популяций внесли локусы *Skdh-1* ($F_{ST} = 0,052$), *Fe-2* ($F_{ST} = 0,039$) и *Lap-2* ($F_{ST} = 0,035$), а в подразделенность уральских популяций – локусы *Skdh-1* ($F_{ST} = 0,062$), *Fe-2* ($F_{ST} = 0,198$) и *Adh-1* ($F_{ST} = 0,074$).

При анализе 10 исследуемых популяций кедра сибирского, по нашим данным, на долю межпопуляционной изменчивости приходится 8,4 % общего генетического разнообразия, это практически совпадает с полученными нами ранее значением F_{ST} для экотипов широтного и долготного профилей ареала ($F_{ST} = 0,081$) (Петрова и др., 2014). Ранее другими исследователями были получены более низкие оценки генетической подразделенности популяций кедра сибирского – 2,5 % (Крутовский и др., 1989), 4% (Гончаренко, Силин, 1997), 6,3 % (Politov D. V., Krutovskii K. V., 2004), что, вероятно, связано различиями в наборах ферментных систем и исследованных популяций. По отдельным локусам значения F_{ST} варьировали от 0,019 (*Got-1*) до 0,231 (*Skdh-2*). Более чем на величину стандартного отклонения отличались от среднего значения F_{ST} по локусам *Skdh-2* ($F_{ST} = 0,263$), *Skdh-1* ($F_{ST} = 0,163$), *Fe-2* ($F_{ST} = 0,220$) и *Pgm-1* ($F_{ST} = 0,100$).

Наглядно картину взаимного расположения исследуемых выборок представляет собой их распределение в плоскости главных компонент, полученных при анализе матрицы F_{ST} (рис. 1). Первые две главные компоненты объясняют около 60 % подразделенности между изучаемыми выборками. На рисунке видно, что по первой главной компоненте, вклад которой в общую изменчивость составляет 40,85 %, выделяется компактная группа Алтае-Саянских популяций, далее следуют Уральские популяции с примыкающей к ним выборкой с северной границы ареала. В плоскости второй компоненты, которая объясняет 18,69 % вариации F_{ST} , популяции Алтае-Саянской горной области плотно сгруппированы, популяции из Уральского региона более разрознены, а популяция с северной границы распространения (Хп) в значительной степени дифференцирована от остальных. Своеобразие популяции Хп обусловлено, в первую очередь, частотой аллелей по локусам, которые вносят максимальный вклад в генетическую подразделенность популяций. Например, редкий аллель по второму локусу шикиматдегидрогеназы *Skdh-2*¹¹⁰ (обозначения аллелей даны по: Петрова и др., 2014) встречается в популяциях Алтае-Саянской группы с частотой 2–5 %, в популяциях Уральской группы – 2–4 %, а в популяции с северной границы леса его частота составляет 44 %. Частота аллеля *Pgm-1*⁹⁶ в Южно-Сибирских популяциях варьирует от 4 до 9 %, в Уральских – от 11 до 25 %, а в ХП – 44 %. Аллель *Fe-2*¹⁰⁰ является наиболее часто встречающимся (частота 68–88 %) в Алтайских выборках, его частота варьирует от 22

до 80 % в насаждениях кедра на Урале, на севере составляет 48 %. Также отметим наличие в северной популяции редких аллельных вариантов по локусам *Idh* и *6Pgd-2*, мономорфным в остальных изученных выборках.

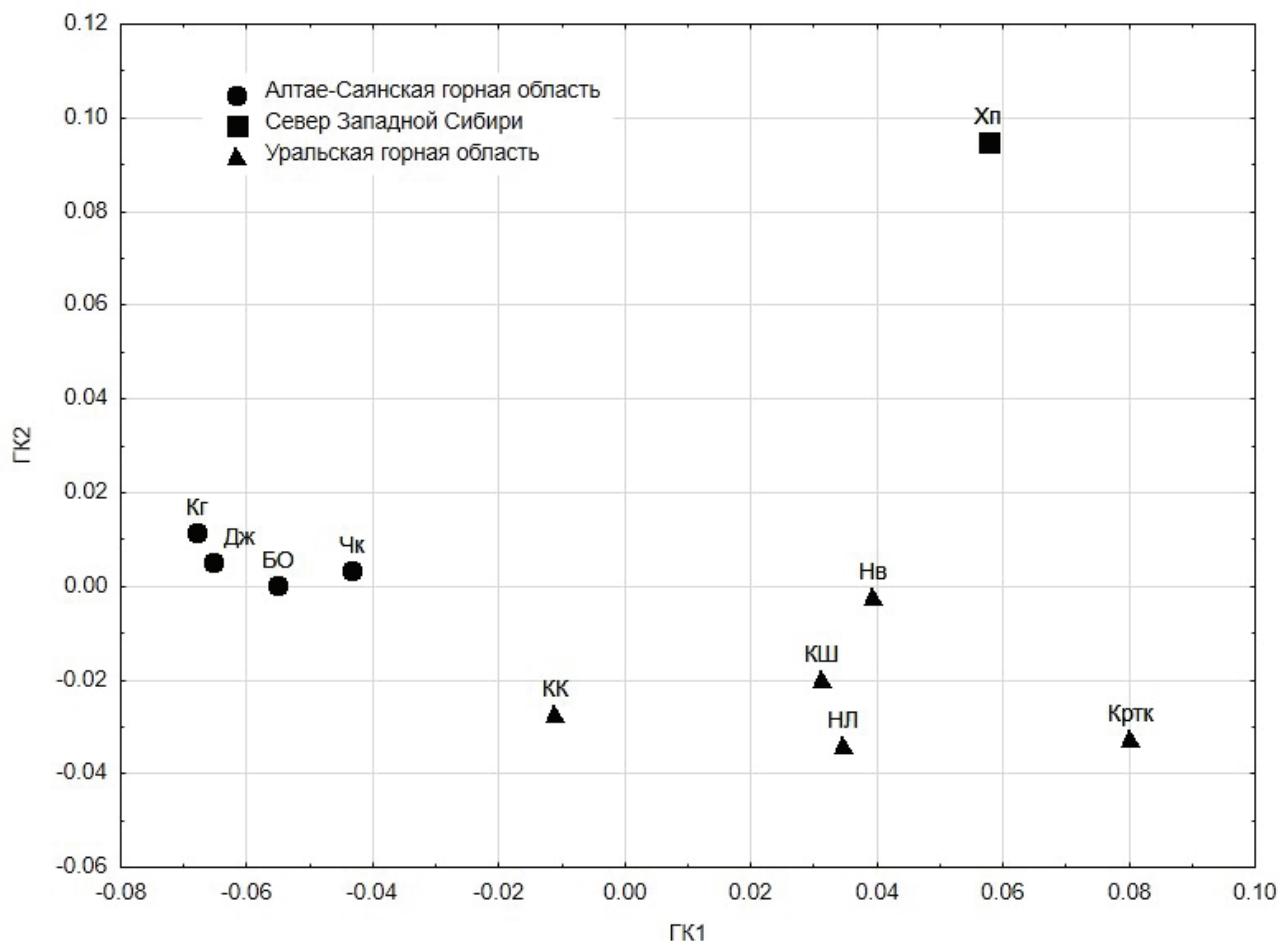


Рис. 1. Распределение популяций в плоскости главных координат, полученных на основании матрицы значений генетической подразделенности популяций (F_{ST}).
Примечание: обозначения популяций см. табл.

Таким образом, по результатам многомерного анализа данных изученные популяции группируются в соответствии с их географическим положением, что может служить подтверждением существования Алтае-Саянского и Уральского центров расселения кедра в постледниковый период. Подразделенность популяций Уральской горной области объясняется фрагментированностью ареала кедра сибирского на западном пределе распространения вида в связи с глобальными климатическими изменениями и антропогенным воздействием. Близость популяции с северной границы кедра к популяциям Уральской горной области в плоскости первой главной координаты, а также описанные выше особенности ее генетической структуры, можно рассматривать как доказательство распространения кедра сибирского на север из Уральского рефугиума.

ЛИТЕРАТУРА

- Бляхарчук Т. А.** Последледниковая динамика растительного покрова Западно-Сибирской равнины и Алтае-Саянской горной области: Дис. ... доктора биол. наук. – Томск: ТГУ, 2010. – 519 с.
- Велисевич С.Н.** Качество урожая кедра сибирского на северном пределе распространения // Вестник Алтайского государственного аграрного университета, 2017. – № 12(158). – С. 70–74.

Гончаренко Г. Г., Падутов В. Е., Крутовский К. В., Поджарова З. С., Киргизов Н. Ю., Политов Д. В. Уровень генетической изменчивости у *Pinus sibirica* на Алтае // Доклады академии наук СССР, 1988. – Т. 299, № 1. – С. 222–225.

Гончаренко Г. Г., Силин А. Е. Популяционная и эволюционная генетика сосен Восточной Европы и Сибири. – Минск: Тэхналогія, 1997. – 191 с.

Гончаренко Г. Г., Падутов В. Е., Поджарова З. С., Крутовский К. В. Генетическая изменчивость у кедровой сосны сибирской // Доклады Академии наук БССР, 1987. – Т. 31, № 9. – С. 848–851.

Крутовский К. В., Политов Д. В., Алтухов Ю. П. Генетическая изменчивость сибирской кедровой сосны *Pinus sibirica* Du Tour. Сообщение IV. Генетическое разнообразие и степень генетической дифференциации между популяциями // Генетика, 1989. – Т. 25, № 11. – С. 2009–2032.

Петрова Е. А., Горошкевич С. Н., Белоконь М. М., Белоконь Ю. С., Политов Д. В. Генетическое разнообразие кедрового *Pinus sibirica* Du Tour: распределение вдоль широтного и долготного профилей // Генетика, 2014. – Т. 50, № 5. – С. 1–16.

Семечкин И. В., Поликарпов Н. П., Ирошников А. И. Кедровые леса Сибири. – Новосибирск, 1985. – 257 с.

Чебакова Н. М., Рейфельдт Д., Парфенова Е. И. Перераспределение растительных зон и популяций лиственницы сибирской и сосны обыкновенной в Средней Сибири при потеплении климата // Сибирский экологический журнал, 2003. – Т. 6. – С. 677–686.

Hewitt G. M. The genetic legacy of the Quaternary ice ages // Nature, 2000. – Vol. 405. – Pp. 907–913.

Hewitt G. M. Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary // Phil. Trans. R. Soc. Lond., 2004. – Vol. 359. – Pp. 183–195.

Politov D. V. and Krutovskii K. V. Phylogenetics, population genetics and hybridization of 5-needle Pines in Russia and neighboring countries // Five-needle pine species: genetic improvement, disease resistance, and conservation (Ed. by R. Sniezko and S. Schlarbaum) / July 24–25; Medford, OR. IUFRO Working Party 2.02.15. Proceedings RMRS-P-000. Ogden, UT: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station. 2004. P. 38–50.

Peakall R., Smouse P. E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // Molecular Ecology Notes, 2006. – Vol. 6. – Pp. 288–295.

Peakall R., Smouse P. E. GenALEX 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update // Bioinformatics, 2012. – Vol. 28. – Pp. 2537–2539.

Rehfeldt G. E., Tchebakova N. M., Parfenova E. Genetic responses to climate and climate change in conifers of the temperate and boreal forests // Recent. Res. Dev. Genet. Breed, 2004. – Vol. 1. – Pp. 113–130.

Savolainen O., Kujala S. T., Sokol C. Adaptive potential of northernmost tree populations to climate change, with emphasis on Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) // Journal of Heredity, 2011. – Vol. 102. – Pp. 526–536.

Wright S. Evolution and the genetics of population. Variability within and among natural populations. Vol. 4. – Chicago, Illinois: University of Chicago Press, 1978. – 580 pp.