

Генетическая изменчивость индивидуального и группового подростка кедр сибирского (*Pinus sibirica* Du Tour) на юге лесной зоны Западной Сибири

Genetic variation in Siberian stone pine (*Pinus sibirica* Du Tour) group and individuals seedlings from the south of Western Siberia forest zone

Петрова Е. А.¹, Белоконь Ю. С.², Белоконь М. М.², Политов Д. В.²

Petrova E. A.¹, Belokon Yu. S.², Belokon M. M.², Politov D. V.²

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

¹ Institute 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 лесах с участием кедр сибирского часто можно встретить групповой подрост - молодые растения кедр растут группами, тесно примыкая друг к другу. Причиной этому является зоохорный способ распространения семян кедр сибирского – групповые всходы появляются из семян, спрятанных кедровкой в напочвенном покрове. В статье представлены результаты анализа изменчивости 23 аллозимных локусов у группового и индивидуального подростка кедр сибирского (16 выборок группового подростка и выборка из 16 индивидуально растущих молодых растений). Молодые растения, произрастающие индивидуально, имели в среднем более высокую долю полиморфных локусов и среднее число аллелей на локус ($P_{99\%} = 43,48\%$, $N_A = 1,5$) по сравнению с групповым подростком ($P_{99\%} = 23,37\%$, $N_A = 1,25$). Средние наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготности в выборке индивидуально произрастающих растений ($H_O = 0,111$ и $H_E = 0,113$) были выше по сравнению с групповым подростком ($H_O = 0,081$ и $H_E = 0,075$). Среднее значение попарных коэффициентов родства W_{Est} в группе индивидуально растущих молодых растений кедр $W_{Est} = -0,166$, для выборок группового подростка $W_{Est} = 0,206$. Из 16 выборок группового подростка 12 имели $W_{Est} \geq 0$, у девяти выборок $0,25 \leq W_{Est} \leq 0,5$, т. е. более половины исследованных выборок группового подростка представлены смесью сибсового и полусибсового потомства. Зоохорный тип распространения оказывает значительное влияние на структуру изменчивости подростка кедр сибирского в популяциях южной части лесной зоны Западной Сибири.

Ключевые слова. Аллозимы, генетический полиморфизм, зоохория, коэффициент родства, подрост, сосна кедровая сибирская.

Summary. In forests with the participation of Siberian stone pine, you can often find group seedlings – young plants grow in groups, closely adjacent to each other. The reason for this is the zoochoric method of spreading Siberian stone pine seeds – group seedlings appear from seeds hidden by nutcracker in the ground cover. The article presents the results of analysis of 23 allozyme loci variation in 141 Siberian Stone pine seedlings (16 samples of group seedlings, and a sample of 16 individually growing young plants). Young plants growing individually had, on average, a higher proportion of polymorphic loci and an average number of alleles per locus ($P_{99\%} = 43.48\%$, $N_A = 1.5$) compared with the group seedlings ($P_{99\%} = 23.37\%$, $N_A = 1.25$). The average value of pairwise relatedness coefficients W_{Est} in a group of individually growing young plants $W_{Est} = -0.166$, for samples of group seedlings $W_{Est} = 0.206$. 12 samples of group seedlings had average $W_{Est} \geq 0$, nine samples $0.25 \leq W_{Est} \leq 0.5$, i.e. more than half of the studied samples of group seedlings are represented by a mixture of sibs and halfsibs offspring. The zoochoric type of distribution has a significant impact on the structure of variability in Siberian stone pine seedlings in populations of southern part of the Western Siberia forest zone.

Key words. Allozymes, genetic polymorphism, relatedness, seedlings, Siberian stone pine, zoochory.

Кедр сибирский, или сосна кедровая сибирская (*Pinus sibirica* Du Tour), является одним из основных эдификаторов лесных экосистем бореальной зоны Евразии. Ареал вида простирается от по-

лярного круга на севере до горных систем Южной Сибири и от границы вечной мерзлоты на востоке до Северо-Востока европейской части России (Семечкин и др., 1985). Кедр сибирский имеет огромное хозяйственное значение: издавна коренные народы Сибири ценили кедр за вкусные и питательные семена (орехи), в настоящее время заготовка ореха ведется как на культурных орехоплодных плантациях, так и в дикой природе. Знание закономерностей генотипического разнообразия кедров сибирского необходимо для разработки научных основ сохранения генетических ресурсов этого ценного вида. Исследования аллозимной изменчивости в популяциях кедров сибирского проводятся с конца 80 годов XX века, 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, 1998). Согласно современным представлениям популяционной генетики, естественную динамику генофондов древесных растений определяют история формирования ареалов и дрейф генов, миграция и генные потоки, система скрещивания и микродифференциация популяций (Алтухов и др., 2004). Одним из факторов, оказывающих влияние на интенсивность миграции и внутривидовую микродифференциацию древесных растений, является способ распространения семян. При анемохорном способе распространения, который характерен для большинства лесообразующих видов древесных растений Западной Сибири, семена разносятся ветром потенциально на значительные расстояния, однако эффективный разнос семян экранируется растущими вблизи деревьями. Значительное количество семян падает и прорастает вблизи материнского дерева, образуются «семейные» структуры, которые и обуславливают внутривидовую микродифференциацию у этих видов. Для кедров сибирского характерен зоохорный способ распространения — птицы семейства врановых кедровки (*Nucifraga caryocatactes*) переносят семена кедров иногда на расстояние до нескольких километров, обеспечивая тем самым эффективный поток генов между насаждениями. Одна кедровка в течение осени потребляет на собственное питание около 5 кг кедровых орехов, а распространяет за осенний сезон более 55 кг (Воробьев, 1982). Кедровка делает запасы орехов (кладовки) в напочвенном покрове (чаще в мхе), невостребованные за зиму птицами орехи прорастают, и появляются групповые всходы — иногда десятки растений из одной кладовки. Есть предположение, что кедровка собирает орешки на одном дереве, и групповые всходы представляют собой группу родственных растений. Целью исследования является сравнительный анализ генетической изменчивости и степени родства индивидуального и группового подраста кедров сибирского на юге лесной зоны Западной Сибири.

Проведен генетический анализ растительного материала подраста кедров сибирского — 141 растение из естественной популяции на юге лесной зоны Западной Сибири (Томская область): 16 отдельно растущих растений, и 16 групп растений от трех до 17 особей в группе.

С помощью горизонтального электрофореза изоферментов в крахмальном геле установлены индивидуальные генотипы растений 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 (PEPCase, 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). В программе Coancestry 1.0.1.9 (Wang, 2011) были рассчитаны попарные коэффициенты родства WEst — Wang estimator (Wang, 2002), модифицированные для обработки малых выборок, что позволило получить объективные оценки родства на основе небольшого количества данных о мультилокусных генотипах (Wang, 2017).

Полностью мономорфными у исследованных всходов кедров сибирского оказались локусы *Gdh*, *Got-1*, *Got-3*, *Idh*, *Mdh-1*, *6-Pgd-2*, *6-Pgd-3*, *Pgi-1*, *Pgm-2*, *Sod-2*, *Sod-3*, *Mnr-1* и *Pepca*. По остальным 10 локусам частота встречаемости редких аллелей превышает 5 %, доля полиморфных локусов по 99 % критерию ($P_{99\%}$) составляет 43 %. В выборке одиночных всходов значение $P_{99\%}$ было максимальным, среди групповых всходов ($P_{99\%}$) варьировал от 13 до 35%, в среднем составил 23,37% (табл.). Среднее число аллелей на локус (N_A) также было максимальным в выборке одиночных всходов ($N_A = 1,5$), у групповых всходов показатель варьировал от 1,167 до 1,375, в среднем составил 1,250.

Таблица

Генетическая изменчивость и коэффициенты родства индивидуального и группового подростка кедрового сибирского

Группа	N	P _{99%}	N _A	H _O	H _E	F	W _{Est}
1	16	43,48	1,522 ± 0,139	0,111 ± 0,034	0,113 ± 0,035	- 0,033 ± 0,038	-0,166 ± 0,049
2	3	17,39	1,174 ± 0,081	0,058 ± 0,034	0,072 ± 0,034	0,158 ± 0,137	-0,106 ± 0,114
3	3	17,39	1,174 ± 0,081	0,058 ± 0,027	0,048 ± 0,022	-0,200 ± 0,000	0,404 ± 0,298
4	5	21,74	1,304 ± 0,147	0,074 ± 0,036	0,087 ± 0,039	0,099 ± 0,117	-0,089 ± 0,195
5	4	21,74	1,217 ± 0,088	0,105 ± 0,045	0,078 ± 0,032	-0,329 ± 0,026	0,417 ± 0,110
6	5	13,04	1,174 ± 0,102	0,087 ± 0,048	0,063 ± 0,035	-0,370 ± 0,031	0,515 ± 0,083
7	13	26,09	1,261 ± 0,094	0,123 ± 0,049	0,108 ± 0,042	-0,132 ± 0,052	-0,106 ± 0,066
8	11	21,74	1,217 ± 0,088	0,083 ± 0,038	0,066 ± 0,030	-0,213 ± 0,023	0,460 ± 0,037
9	6	21,74	1,304 ± 0,132	0,087 ± 0,039	0,069 ± 0,030	-0,221 ± 0,021	0,392 ± 0,066
10	8	26,09	1,304 ± 0,117	0,065 ± 0,028	0,078 ± 0,035	0,046 ± 0,066	0,010 ± 0,084
11	5	21,74	1,217 ± 0,088	0,087 ± 0,039	0,066 ± 0,029	-0,266 ± 0,033	0,425 ± 0,071
12	6	26,09	1,261 ± 0,094	0,058 ± 0,032	0,083 ± 0,033	0,186 ± 0,135	-0,170 ± 0,099
13	10	26,09	1,348 ± 0,149	0,052 ± 0,024	0,058 ± 0,025	0,031 ± 0,073	0,356 ± 0,055
14	9	21,74	1,174 ± 0,102	0,048 ± 0,022	0,050 ± 0,025	-0,029 ± 0,040	0,247 ± 0,086
15	10	30,43	1,348 ± 0,119	0,100 ± 0,039	0,092 ± 0,037	-0,102 ± 0,025	0,106 ± 0,070
16	10	26,09	1,304 ± 0,117	0,104 ± 0,046	0,083 ± 0,035	-0,192 ± 0,041	0,349 ± 0,051
17	17	34,78	1,391 ± 0,122	0,105 ± 0,044	0,098 ± 0,038	-0,059 ± 0,058	0,092 ± 0,038

Примеч.: обозначения выборок: 1 – выборка индивидуально произрастающих молодых растений кедрового сибирского; 2–17 – групповой подросток кедрового сибирского. N – число особей, N_A – среднее число аллелей на locus, H_O – наблюдаемая гетерозиготность, H_E – ожидаемая гетерозиготность, P_{99%} – доля полиморфных локусов по 99 % критерию, F – коэффициент инбридинга, W_{Est} – попарный коэффициент родства. В таблице приведены средние значения ± стандартная ошибка.

Установленные нами значения N_A и P_{99%} несколько ниже опубликованных для кедрового сибирского другими авторами (Крутовский и др., 1989; Гончаренко, Силин, 1997), однако достаточно 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), и при исследовании популяций Алтае-Саянской горной области N_A = 1,54, P_{99%} = 44,57 % (Петрова и др., 2020). 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. В среднем 8–9 % локусов у исследованных молодых деревьев кедрового сибирского находятся в гетерозиготном состоянии. Более высокая наблюдаемая гетерозиготность (0,111) отмечена в выборке одиночно растущих деревьев кедрового сибирского. У подростка, произрастающего в группах, гетерозиготность варьировала от 0,048 до 0,105, в среднем составила 0,081 (табл.). Средняя ожидаемая гетерозиготность (генетическое разнообразие) (H_E) в выборке одиночно растущих молодых деревьев имела значения, близкие к наблюдаемой, что свидетельствует о соответствии распределения генотипов ожидаемому при равновесии по Харди-Вайнбергу. В выборках подростка, растущего группами, существенная разница между H_O и H_E (средне значение 0,075) также не выявлена. Коэффициент инбридинга, который характеризует степень близкородственности скрещиваний в популяции, имеет близкие к нулю значения во всех выборках.

В популяциях древесных растений, и в частности кедрового сибирского, при изучении взрослых деревьев чаще наблюдается избыток гетерозигот относительно равновесия Харди-Вайнберга, что связывают с отбором в пользу гетерозиготных генотипов (Крутовский и др., 1989). Полученные нами зна-

чения средней наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности несколько ниже значений, сообщенных ранее при исследовании аллозимного полиморфизма популяций кедров сибирского. Так, при анализе девяти популяций кедров 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 Казахского Алтая, Алтайского края, Томской и Тюменской областей по 20 изоферментным локусам H_o составила 0,154, H_e – 0,165 (Гончаренко, Силин, 1997). При изучении изменчивости экотипов кедров сибирского, представляющих широтный и долготный профили ареала вида, получены значения $H_o = 0,110$, $H_e = 0,104$, в частности в популяции кедров сибирского с юго-востока Западно-Сибирской равнины (Томская область) они составили $H_o = 0,126$ и $H_e = 0,119$ (Петрова и др., 2014). Вероятно, полученные нами невысокие значения H_o и H_e у подростка кедров сибирского, а также отсутствие различий между H_o и H_e , являются следствием того, что молодые растения кедров находятся в начале своего развития, им еще предстоит конкурентная борьба за выход в первый ярус и достижение генеративного состояния, которая, можно предположить, будет сопровождаться отбором в пользу гетерозиготных генотипов.

Для оценки микродифференциации выборок подростка, произрастающих индивидуально и в группах, мы использовали F-статистики (Wright, 1978), которые характеризуют подразделенность генетического разнообразия. На долю межгрупповой изменчивости между всеми 17 выборками подростка приходится 19,3 % общей генетической изменчивости. Это означает, что генетическое разнообразие подростка кедров сибирского в значительной степени зависит от принадлежности растения к группе, берущей начало из одной кладовки орехов кедров. Обычно в популяционно-генетических исследованиях используют материал деревьев, достигших репродуктивного возраста, и для генетической подразделенности географически разобщенных популяций кедров сибирского характерны гораздо более низкие значения F_{st} : 2,5 % (Крутовский и др., 1989), 3% (Подогас, 1993), 4 % (Гончаренко, Силин, 1997), 6,3 % (Politov, 1998). 8,1 % (Петрова и др., 2014), 8,4 % (Петрова, Белоконов, 2020).

нами впервые для оценки степени родства группового подростка кедров сибирского были применены попарные коэффициенты родства WEst (Wang, 2002). Среднее значение коэффициента WEst = 0,5 это номер выборки? родителя (полусибсы). В выборке индивидуальных молодых растений значения коэффициента родства находились в пределах от -1,391 до 0,830, а среднее = -0,166 (рис.). Это свидетельствует о наличии в выборке растений, генетически мало сходных, не являющихся родственными. Среднее значение для выборок группового подростка WEst = 0,206. Из 16 выборок группового подростка у 12 средние значения WEst ≥ 0 (0,010 – 0,515). У девяти выборок группового подростка (3, 4, 6–8, 13–15, 17) попарные коэффициенты родства достигали максимального значения – 1, при минимальных от -1,860 (7), то есть более половины исследованных выборок группового подростка представлены смесью сибсового и полусибсового потомства. Только одна из выборок группового подростка (2) была представлена тремя неродственными особями, с максимальным значением попарного коэффициента родства 0,064.

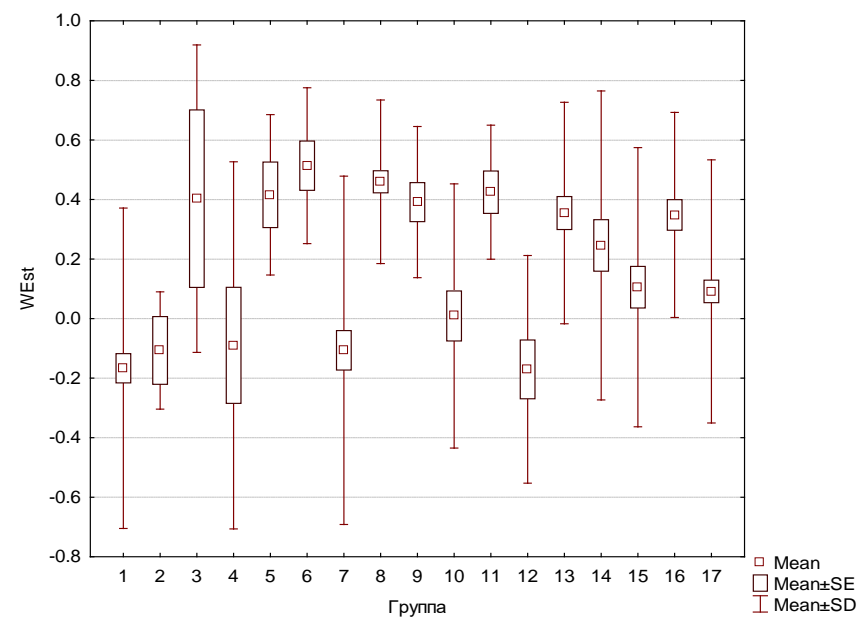


Рис. Средние значения попарного коэффициента родства (WEst) в группах подростка *Pinus sibirica*.

Таким образом, в большинстве случаев растения, выросшие из семян одной кладовки кедровки, оказываются близкородственными. Генетическое разнообразие группового подростка кедров сибирского

меньше по сравнению с подростом произрастающим индивидуально. Известно, что система скрещивания кедрового сибирского представляет собой сочетание самоопыления (около 15 %) и ауткроссинга (около 85 %) (Политов, Крутовский, 1990). Среди зародышей семян наблюдается дефицит гетерозигот. Однако к стадии сеянцев у многих сосен происходит элиминация инбредного потомства, соотношение генотипов приходит в равновесие, после чего идет нарастание гетерозиготности с возрастом насаждения (Алтухов и др., 2004). Внутригрупповая конкуренция всходов приводит к выживанию наиболее адаптированных к условиям среды особей. Поскольку межгрупповое разнообразие довольно высоко, выживание отдельных сеянцев из группы родственных не нарушает структуру популяции и не приводит к дальнейшему инбридингу. Зоохорный тип распространения оказывает значительное влияние на структуру изменчивости подростов кедрового сибирского в популяциях южной части лесной зоны Западной Сибири.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект № FWGR-2021-0007).

ЛИТЕРАТУРА

Алтухов Ю. П., Салменкова Е. А., Курбатова О. Л., Победоносцева Е. Ю., Политов Д. В., Евсюков А. Н., Жукова О. В., Захаров И. А., Моисеева И. Г., Столповский Ю. А., Пухальский В. А., Поморцев А. А., Уелник В. П., Калабушкин Б. А. Динамика популяционных генофондов при антропогенных воздействиях. / Под ред. Ю. П. Алтухова. – М.: Наука, 2004. – 618 с.

Воробьев В. Н. Кедровка и ее взаимосвязи с кедром сибирским (опыт количественного анализа). – Новосибирск: Наука, 1982. – 114 с.

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., 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.

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

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., Белоконов Ю. С. Сравнительный анализ генетического полиморфизма в популяциях кедрового сибирского (*Pinus sibirica* Du Tour) из Уральской и Алтае-Саянской горных областей // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии, 2020. – Т. 19, № 2. – С. 81–86. DOI: 10.14258/pbssm.2020080

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

Подозас А. В. Генетическая дифференциация рода *Pinus* по аллелимным локусам: Дис. ... канд. биол. наук. – М.: Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН, 1993. – 154 с.

Политов Д. В., Крутовский К. В. Генетическая изменчивость сибирской кедровой сосны *Pinus sibirica* Du Tour. Сообщение V. Анализ системы скрещивания // Генетика, 1990. – Т. 26, № 11. – С. 1309–1316.

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

Peakall R., Smouse P. E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // Molecular Ecology Notes, 2006. – Vol. 6. – P. 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. – P. 2537–2539.

Polítov D. V. Coniferous forests of Baikal Lake region: native population genetic structure and human impact. UNESCO Programme on Man and the Biosphere (MAB), MAB Young Scientist Research Award Scheme – Final Scientific Report, 1998.

Wang J. An estimator for pairwise relatedness using molecular markers // Genetics, 2002. – Vol. 160. – P. 1203–1215.

Wang J. Coancestry: A program for simulating, estimating and analysing relatedness and inbreeding coefficients // Molecular Ecology Resources, 2011. – Vol. 11, № 1. – P. 141–145.

Wang J. Estimating pairwise relatedness in a small sample of individuals. – Heredity, 2017. – Vol. 119. – P. 302–313.

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