

УДК 575.174:630*17:582.475.4

ИЗМЕНЧИВОСТЬ АЛЛОЗИМОВ И УРОВЕНЬ ИНБРИДИНГА В ВОЗРАСТНЫХ ГРУППАХ ЮЖНО-ТАЕЖНЫХ И ЛЕСОСТЕПНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В СРЕДНЕЙ СИБИРИ

И. В. Тихонова¹, А. К. Экарт², К. Г. Зацепина¹, А. Н. Кравченко²

¹ Западно-Сибирское отделение Института леса им. В. Н. Сукачева СО РАН – филиал ФИЦ КНЦ СО РАН
630082, Новосибирск, ул. Жуковского, 100/1

² Институт леса им. В. Н. Сукачева СО РАН – обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН
660036, Красноярск, Академгородок, 50/28

E-mail: selection@ksc.krasn.ru, aekart@yandex.ru, kseniya-zacepina@yandex.ru, kravchenko-anna.n@yandex.ru

Поступила в редакцию 06.03.2019 г.

Представлены результаты исследования аллозимной изменчивости популяций сосны обыкновенной, произрастающих в южной тайге и лесостепи Средней Сибири. Сравниваются две возрастные группы (взрослых деревьев и подроста) по основным показателям генетической изменчивости 16 полиморфных локусов. Наибольший дефицит гетерозигот и статистически значимый уровень инбридинга выявлены в потомстве наиболее нарушенной вырубками небольшой изолированной популяции из окрестностей г. Ачинска. Эта популяция отличалась высокой генетической дистанцией Неи (Nei, 1972) между сравниваемыми поколениями деревьев, сопоставимой с дистанциями между географически удаленными популяциями. В большинстве остальных популяционных выборок, подверженных меньшей антропогенной нагрузке, отмечены средний уровень гетерозиготности, либо превышение наблюдаемой гетерозиготности над ожидаемой в двух возрастных группах деревьев, а также выявлены отклонения от равновесного состояния по отдельным локусам, как правило, не совпадающие у взрослых деревьев и подроста. Результаты исследования показывают, что генетическая структура популяций вида довольно устойчива к среднему уровню антропогенной (рекреационной) нагрузки, однако больший негативный эффект от лесопользования связан с повышением риска утраты аллельного разнообразия (в трех популяциях из восьми до 10.0–14.5 %) и, следовательно, адаптивного генетического полиморфизма популяций. Отмечена необходимость использования более чувствительных, чем аллозимные, маркеров генетического разнообразия популяций вида (ДНК-маркеров ядерного и особенно цитоплазматических геномов) с целью обнаружения более тонких нарушений и начальных стадий негативных для возобновления генофонда популяций процессов.

Ключевые слова: *Pinus sylvestris*, аллозимная изменчивость, гетерозиготность, возобновление генофонда популяций.

DOI: 10.15372/SJFS20190509

ВВЕДЕНИЕ

Сосновые леса широко распространены в центральных и южных районах Средней Сибири. Однако, несмотря на большое значение этих лесов, они мало изучены в отношении генетического полиморфизма, как необходимого компонента сохранения общего биоразнообразия и устойчивости природных экосистем (Динамика..., 2004; Тараканов, 2009; Видякин, 2014). Не

разработаны критерии и методы мониторинга их генетической изменчивости.

Одним из способов изучения динамики генетических процессов в популяциях является сравнение возрастных групп внутри популяций по основным статистическим показателям генетической изменчивости изоферментных локусов (Muona et al., 1987; Алтухов, 2003). В результате сравнения деревьев старше 30–40 лет с проростками и сеянцами в сосняках европейской части

ареала и на Урале установлен более высокий уровень гетерозиготности на более поздних этапах роста и развития по сравнению с ранними этапами (Linhart et al., 1981; Muona et al., 1987; Старова и др., 1990; Шигапов, 2005; Коршиков, Мудрик, 2006). Некоторыми исследователями отмечена связь роста деревьев сосны обыкновенной с уровнем их гетерозиготности (Исаков, 1974; Mitton, 1978; Bush et al., 1987; Голиков, 2007; Тихонова Н. А., Тихонова И. В., 2016). Предполагается также, что величина средней гетерозиготности в популяциях может зависеть от условий их роста (Ларионова, 1988; Голиков, 2007; Тихонова, Семериков, 2010). Установлены факты влияния лесохозяйственной деятельности человека на генетические процессы в популяциях: сдвиги частот аллелей и генотипов, снижение адаптивного генетического полиморфизма видов (Ledig, 1992; Динамика..., 2004; Тараканов и др., 2004; Шигапов, 2005; Падутов и др., 2008; Ивановская, 2015).

Целью данного исследования был сравнительный анализ показателей генетической изменчивости аллозимов в двух возрастных группах деревьев в южно-таежных и лесостепных популяциях сосны обыкновенной в Средней Сибири и выяснение возможности его использования для мониторинга генетического разнообразия и структуры популяций сосны обыкновенной.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в восьми популяциях сосны обыкновенной *Pinus sylvestris* L., в каждой из которых сделана выборка по 20–39 особей взрослых деревьев и подроста. Географические координаты популяций приведены в таблице (табл. 1).

Возраст взрослых деревьев в разных популяциях 40–150 лет, подроста – 8–15 лет. Все выборки относятся к Среднесибирскому подтаежно-лесостепному району (Приказ..., 2014). Популяции из окрестностей с. Большая Мурта и г. Лесосибирск растут в условиях южной тайги, Юксеевский, Погорельский, Краснотуранский боры и боры из окрестностей городов Назарово и Ачинск, пос. Шира – в условиях лесостепи. Отметим, что на современном этапе популяционно-генетических исследований пока не разработаны единые, проверенные разными исследователями методы генетического мониторинга популяций и нет четких критериев того или иного внешнего влияния, приводящего к снижению генетического разнообразия и изменениям структуры популяций. Особенно важно принимать во внимание сведения о состоянии популяций, изолированности и степени их нарушенности при сборе образцов для генетического анализа. Поэтому учитывали также состояния насаждений.

Таблица 1. Краткая характеристика и географические координаты популяций

Популяция		n	Состав древостоя	Возраст, лет	Полнота	Географические координаты	
						с. ш.	в. д.
«Ачинск» ⁴	П	30	6С4Б	60	0.3	56°10′	90°29′
	В	30					
«Шира» ³	П	27	8С2Б	50–120	0.5	54°25′	89°60′
	В	39					
«Юксеево» ²	П	30	10С	40–70	0.6	59°30′	93°14′
	В	30					
«Лесосибирск» ¹	П	20	10С	80–120	0.8	58°08′	92°18′
	В	30					
«Погорелка»	П	30	10С	50–120	1.0	56°03′	92°34′
	В	28					
«Назарово»	П	30	10С	40–100	0.9	56°02′	90°15′
	В	30					
«Большая Мурта»	П	30	10С	40–90	0.8	56°54′	93°11′
	В	30					
«Краснотуранск» (заказник)	П	30	9С1Б	100–150	0.9	54°10′	91°19′
	В	30					

Примечание. n – объем выборки, П – подрост, В – взрослые деревья. ¹...⁴ – степень нарушенности.

Все популяции расположены недалеко от населенных пунктов и подвержены антропогенному влиянию (от рекреации и пожаров до вырубки). Наиболее нарушена небольшая популяция из окрестностей г. Ачинска, окруженная березняками. В ней вырублена большая часть взрослых, не достигших возраста спелости 60-летних деревьев, оставлено около 50 в основном отстающих в росте деревьев с диаметром ствола до 24 см. Подрост был немногочисленным и располагался на площади несколькими небольшими группами. Вторая по степени нарушенности популяция – в окрестностях пос. Шира: на стволах видны следы пожаров, встречаются обугленные остатки взрослых деревьев и очень редкого и распределенного неравномерно подроста. На третьем и четвертом месте выборки из Юкеевского бора и окрестностей г. Лесосибирска с признаками рекреационного использования: с сетью тропинок, частично вытопанным и размещенным куртинами подростом. В месте отбора образцов популяции «Юкеево» травяной покров съеден скотом, из-за чего подрост также немногочисленный и расположен куртинами в приствольных кругах. Остальные выборки слабо нарушены, во всех отмечаются следы рекреационного воздействия, но древостой не поврежден, и при наличии небольшого числа тропинок численность подроста, распределенного относительно равномерно, составляет 3–12 тыс. шт./га. Из исследованных популяций наименее нарушен Краснотуранский бор, на территории которого в 1963 г. организован заказник.

Электрофоретический анализ изоферментов проводили согласно методике, описанной ранее (Экарт и др., 2014). Всего проанализировано 20 локусов, 17 из которых были полиморфными: *Mdh-2*, *Mdh-3*, *Mdh-4*, *Got-1*, *Got-2*, *Got-3*, *Skdh-1*, *kdh-2*, *6-Pgd-2*, *Fdh*, *Pgm-1*, *Gdh*, *Fe-2*, *Adh-1*, *Adh-2*, *Lap-1*, *Lap-2*.

Для каждой популяции с помощью программы GenAlex 6 (Peakall, Smouse, 2006) вычисляли следующие показатели генетической изменчивости: долю полиморфных локусов (P), среднее число аллелей на локус (N_a), эффективное число аллелей (N_e), наблюдаемую (H_o) и ожидаемую (H_e) гетерозиготности, коэффициент инбридинга (F), число иммигрантов на поколение (N_m). Соответствие распределения генотипов уравнению Харди–Вайнберга считали по каждому локусу в каждой популяции, используя критерий χ^2 , по всем локусам в каждой популяции, по каждому локусу во всех популяциях и в целом по всем локусам во всех выборках, используя Мар-

ковские цепи, в программе Genepop (Rousset, 2008) по В. S. Weir и С. С. Cockerham (1984). Популяционную структуру и степень генетической подразделенности популяций исследовали с помощью F -статистик Райта; F_{is} (уровень инбридинга особи относительно популяции), F_{it} (уровень инбридинга особи относительно вида), F_{st} (показатель подразделенности популяций) (Nei, 1977; Wright, 1978; Хедрик, 2003), уровень значимости F_{is} , F_{it} и F_{st} определялся также с помощью χ^2 (Wright, 1978). Степень генетических различий между популяциями и возрастными группами определяли с помощью генетического расстояния Неи (Nei, 1972).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что в изученных выборках сосны обыкновенной 70–80 % генов находится в полиморфном состоянии. Основные параметры генетической изменчивости варьируют в пределах: $N_a = 2.10$ – 2.50 , $N_e = 1.288$ – 1.464 , $H_o = 0.195$ – 0.258 ; $H_e = 0.191$ – 0.252 (табл. 2), что согласуется с полученными ранее данными по аллозимной изменчивости сосны обыкновенной (Семериков и др., 1993; Гончаренко и др., 1996; Санников, Петрова, 2003; Ларионова, Экарт, 2010; Экарт и др., 2014; Зацепина и др., 2016).

Уровень гетерозиготности, как известно, является важной характеристикой, влияющей на формирование и поддержание генетической структуры популяций древесных растений (Алтухов, 2003), а существенное превышение доли гомозигот (F) в общем анализе является прямым указанием на инбридинг (Хедрик, 2003). В исследуемых популяционных выборках наиболее высокая гетерозиготность установлена для популяций «Краснотуранск» и «Лесосибирск», низкая – «Ачинск» (см. табл. 2). Самый низкий уровень гетерозиготности оставшихся после вырубки отстающих в росте взрослых деревьев этой популяции (из всех ранее нами исследованных популяций вида), возможно, является косвенным подтверждением существования прямой связи между уровнем гетерозиготности и интенсивностью роста деревьев, отмеченной некоторыми исследователями (Исаков, 1974; Mitton, 1978; Bush et al., 1987; Тихонова Н. А., Тихонова И. В., 2016). Из всех выборок при многолокусном анализе каждой выборки достоверное положительное значение коэффициента инбридинга F получено только для подроста популяции «Ачинск», в остальных выборках наблюдался либо избыток гетерозигот, либо от-

Таблица 2. Показатели генетической изменчивости в исследованных популяциях сосны

Популяция		P , %	r	N_a	N_e	H_o	H_e	F
«Ачинск» ⁴	П	75	45	2.250	1.357	0.195	0.216	0.064*
	В	75	43	2.200	1.288	0.197	0.191	-0.020
«Шира» ³	П	75	45	2.250	1.464	0.257	0.252	-0.031
	В	80	43	2.200	1.374	0.217	0.224	0.008
«Юкseeво» ²	П	80	48	2.400	1.395	0.224	0.228	0.019
	В	80	49	2.450	1.377	0.215	0.216	-0.001
«Лесосибирск» ¹	П	75	47	2.350	1.434	0.258	0.247	-0.027
	В	80	44	2.200	1.368	0.228	0.223	-0.030
«Погорелка»	П	75	44	2.200	1.359	0.205	0.212	0.011
	В	80	46	2.500	1.418	0.231	0.239	0.028
«Назарово»	П	75	45	2.250	1.368	0.222	0.222	-0.021
	В	70	43	2.150	1.346	0.227	0.208	-0.086**
«Б. Мурта»	П	70	42	2.100	1.373	0.229	0.213	-0.064
	В	70	44	2.200	1.382	0.233	0.214	-0.075
«Краснотуранск»	П	75	46	2.300	1.392	0.235	0.227	-0.003
	В	75	44	2.200	1.436	0.257	0.246	-0.041
Среднее	П	75	45.1	2.256	1.393	0.228	0.227	-0.007
	В	76.3	44.5	2.263	1.374	0.226	0.220	-0.027

Примечание. P – полиморфность, r – суммарное число аллелей, N_a – среднее число аллелей на локус; N_e – эффективное число аллелей; H_o – наблюдаемая и H_e – ожидаемая гетерозиготность; F – коэффициент инбридинга; уровни достоверности различий отклонения от равновесия Харди–Вайнберга * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$; ^{1...4} – степень нарушенности.

клонение от равновесия Харди–Вайнберга было недостоверным. В большинстве популяций подрост по сравнению со взрослыми деревьями характеризуется таким же или более высоким уровнем гетерозиготности, что отличает их от отмеченной выше возрастной генетической структуры тех природных популяций сосны в таежной зоне западной части ареала, в которых сравнивались возрастные группы (Muona et al., 1987; Старова и др., 1990; Шигапов, 2005). В восточной части ареала вида такого исследования не проводили. Более высокая гетерозиготность у взрослых деревьев, чем у подростка, наблюдалась только в двух выборках из Краснотуранского и Погорельского боров.

Отсутствие в исследованных выборках положительной корреляции между показателями наблюдаемой гетерозиготности и возрастом деревьев может быть следствием не только нарушения естественного хода лесообразовательного процесса, но и усиления потока генов (Wright, 1978; Алтухов, 2003) в результате изменения интенсивности и направления ветров в период рассеивания пыльцы, появления подростка из семян, сформировавшихся преимущественно от перекрестного опыления, а также вариаций системы скрещивания, разной густоты насаждений и естественного отбора в пользу гетерозигот, включая самые ранние стадии онтогенеза,

изменений климата, влияющего на перечисленные процессы (Хромова и др., 1990; Кузнецова, Исаков, 1996; Тихонова и др., 2016).

Для уточнения влияния различных факторов на генетическую структуру популяций использовали дополнительные генетические характеристики – коэффициенты инбридинга Райта (F), по величине которых судят об уровне дифференциации популяций и соотношении процессов интеграции и дезинтеграции на внутри- и межпопуляционном уровнях (Nei, 1977; Wright, 1978; Хедрик, 2003). Их достоверные положительные значения свидетельствуют о преобладании инбридинга (близкородственного скрещивания) и частичной изоляции особей или групп особей внутри популяции (F_{is}), популяций внутри вида (F_{st}). Высокий уровень инбридинга, по мнению многих исследователей, может привести к таким негативным эффектам, как сокращение генетической изменчивости в популяциях из-за их недостаточно эффективной численности и случайного дрейфа генов в каждой, и в результате к снижению средней приспособленности популяции (Bush et al., 1987; Алтухов, 2003; Хедрик, 2003; Политов, 2007 и др.). Приводятся примеры высокой инбредной депрессии для нескольких хвойных видов, проявляющейся в полной неспособности производить полноценное потомство (Lande et al., 1994).

Таблица 3. Значения индексов F -статистик Райта для полиморфных локусов деревьев всех исследованных популяций

Локус	Число аллелей	F_{is}	F_{it}	F_{st}	N_m
<i>Mdh-2</i>	3	-0.032	0.003	0.034***	7.2
<i>Mdh-3</i>	2	-0.062	-0.043	0.017	14.2
<i>Mdh-4</i>	3	-0.005	0.000	0.005	49.8
<i>Got-1</i>	2	-0.022	-0.007	0.014	17.3
<i>Got-2</i>	5	0.056	0.085*	0.031***	7.9
<i>Got-3</i>	3	-0.016	-0.006	0.010	25.1
<i>Skdh-1</i>	8	0.058	0.095*	0.039***	6.2
<i>Skdh-2</i>	2	-0.027	0.030	0.055***	4.3
<i>Lap-1</i>	2	-0.034	-0.002	0.031**	7.7
<i>Lap-2</i>	4	0.091*	0.126**	0.039***	6.2
<i>6-Pgd-2</i>	3	-0.048	-0.007	0.039***	6.2
<i>Fdh</i>	4	-0.015	0.006	0.021	11.8
<i>Pgm-1</i>	3	-0.074	-0.056	0.017	14.6
<i>Gdh</i>	2	-0.103*	-0.081	0.020	12.3
<i>Adh-1</i>	2	-0.053	-0.008	0.043***	5.6
<i>Adh-2</i>	4	0.019	0.045	0.027**	9.2
<i>Fe-2</i>	5	-0.027	-0.007	0.020	12.1
Среднее	3	-0.017 ± 0.011	0.010 ± 0.012	0.027 ± 0.003	10.9

Примечание. r – число аллелей на локус, индексы фиксации: F_{is} – особи относительно популяции, F_{it} – особи относительно вида, F_{st} – популяции относительно вида; N_m – число иммигрантов на одно поколение, уровни достоверности различий отклонения от равновесия Харди–Вайнберга * $p < 0.05$... *** $p < 0.001$.

В общем наборе выборок сосна, произрастающая в исследованной части ареала, находится в состоянии, близком к равновесному, о чем свидетельствуют низкие средние значения индексов фиксации Райта ($F_{is} = -0.017$, $F_{it} = 0.010$) и отсутствие достоверного отклонения от равновесия Харди–Вайнберга ($p = 0.147$) в обобщенном анализе всех выборок и всех локусов. 2.7 % (F_{st}) общей изменчивости приходится на межпопуляционные различия, а 97.3 % – на внутривидовые различия, что в целом характерно для хвойных видов (табл. 3).

По низким значениям F_{st} можно сделать вывод о преобладании процессов интеграции и об отсутствии тенденции к дивергенции и генетической изоляции популяций внутри вида на исследуемой территории. По отдельным локусам F_{st} варьировал от 0.005 до 0.055. Из табл. 3 видно, что достоверная, хотя и небольшая, подразделенность или частичное ограничение панмиксии (свободного скрещивания) популяций наблюдаются в девяти полиморфных локусах из 16. Для трех из них (*Lap-2*, *Skdh-1*, *Got-2*) отмечается дефицит гетерозиготных генотипов относительно популяции и вида (F_{it} равны 0.126, 0.095, 0.085 соответственно, $p < 0.05$).

Согласно расчетам (Хедрик, 2003), значения F_{st} 0.2 и выше, когда число иммигрантов на одно поколение N_m меньше 1, свидетельствуют о недостаточном потоке генов извне для поддержания генетического разнообразия внутри популяций вида, что нередко наблюдается у одомашненных видов животных и растений.

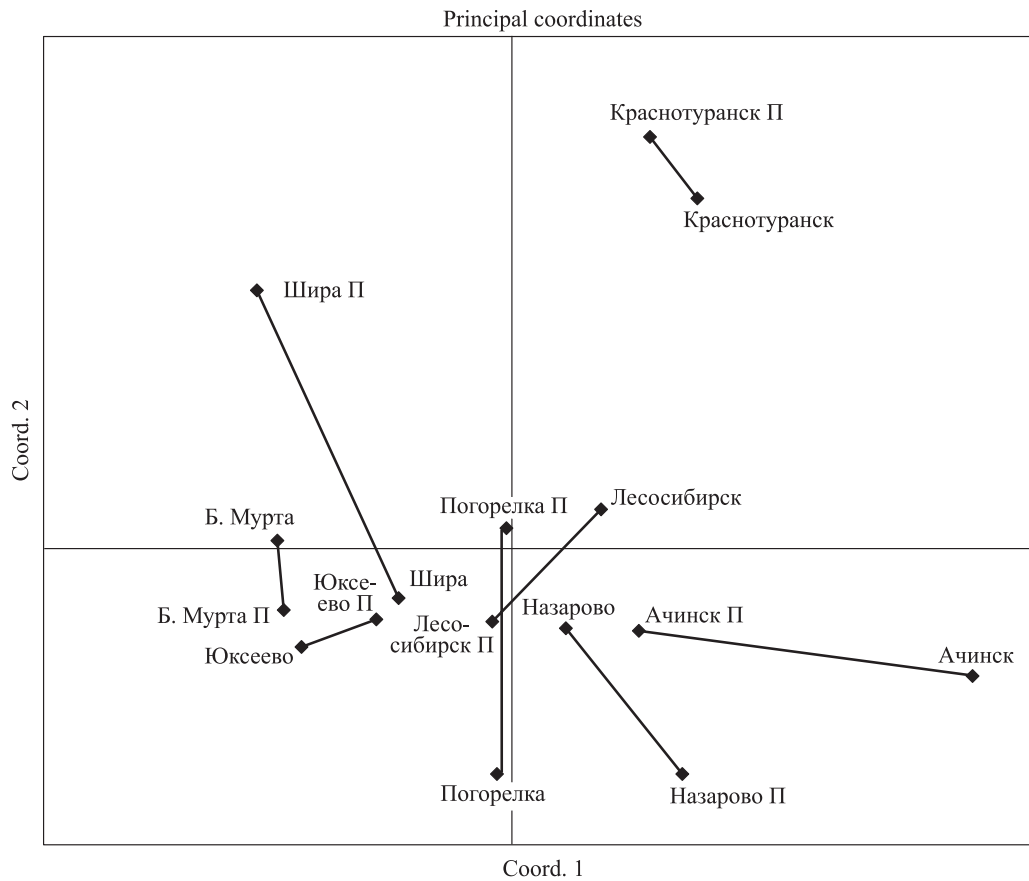
Для природных популяций такой порог пока не установлен, но на некоторых примерах показано, что эта величина должна быть значительно ниже, чем 0.2, особенно для редких и исчезающих видов. Для природных популяций хвойных видов, включая сосну обыкновенную в исследованной части ареала, значения N_m на порядок выше требуемой величины.

В результате полокусного анализа в каждой выборке у взрослого поколения выявлен дефицит гетерозигот в следующих выборках и локусах: «Ачинск» (*Adh-2*, *Got-2*), «Шира» (*Skdh-1*), «Погорелка» (*Lap-2*), «Краснотуранск» (*Adh-2*), «Лесосибирск» (*Got-2*); у подростка – «Ачинск» (*Fe-2*, *Got-2*), «Шира» (*Got-3*), «Погорелка» (*Mdh-4*), «Краснотуранск» (*Lap-2*), «Юксеево» (*Skdh-1*) (табл. 4). По перечисленным локусам в данных популяциях (для одной из двух возрастных групп) индекс фиксации F достигает

Таблица 4. Индекс фиксации Райта F_{is} по локусам (по Weir, Sockerham, 1984)

Популяция		Локусы															
		Mdh-2	Mdh-3	Mdh-4	Got-1	Got-2	Got-3	Skdh-1	Skdh-2	Lap-2	6-Pgd-2	Fdh	Pgm-1	Gdh	Adh-1	Adh-2	Fe-2
«Ачинск»	П	-0.036	-0.036	0.074	Без изм.	0.270*	0.188	-0.074	0.360	-0.094	0.007	-0.043	-0.018	0.169	0.114	0.004	0.319*
	В	-0.055	-0.036	0.137	»	0.404*	-0.350	-0.064	-0.055	-0.024	-0.139	0.185	-0.115	-0.177	-0.184	0.457	0.231
«Лесосибирск»	П	0.337	-0.056	0.240	»	-0.064	0.212	-0.086	-0.086	-0.086	-0.120	-0.073	Без изм.	-0.357	0.123	0.059	0.084
	В	-0.160	-0.017	-0.025	-0.018	0.361**	0.263	0.175	-0.160	Без изм.	-0.172	-0.036	-0.036	-0.215	-0.069	0.058	-0.178
«Шира»	П	-0.066	-0.040	0.138	Без изм.	0.216	0.090	0.308	0.308	-0.020	-0.364	-0.010	-0.061	-0.333	-0.168	-0.112	-0.257
	В	-0.134	-0.056	-0.006	»	0.088	-0.063	0.563***	-0.070	Без изм.	0.059	-0.031	-0.086	-0.179	0.039	0.227	-0.014
«Погорелка»	П	-0.018	-0.018	0.532**	»	-0.171	-0.009	-0.094	-0.094	»	0.345	-0.036	Без изм.	0.012	0.262	-0.182	-0.062
	В	-0.175	Без изм.	-0.001	»	0.020	-0.050	0.155	Без изм.	0.321*	0.299	0.066	-0.025	0.224	-0.237	-0.016	0.125
«Юкеево»	П	0.478	-0.055	0.024	»	0.183	-0.076	-0.074	-0.074	Без изм.	-0.082	-0.018	-0.055	0.169	-0.069	-0.004	0.075
	В	-0.018	Без изм.	-0.208	»	-0.018	0.246	-0.097	Без изм.	0.286	-0.055	Без изм.	-0.018	-0.006	0.007	0.127	0.003
«Назарово»	П	0.015	-0.036	-0.044	»	0.154	0.084	-0.097	-0.036	Без изм.	0.354	0.077	-0.074	-0.261	0.016	0.024	-0.226
	В	-0.115	Без изм.	-0.119	»	-0.227	-0.184	0.138	-0.055	»	-0.128	-0.018	-0.074	-0.137	-0.050	-0.020	0.024
«Б. Мурга»	П	-0.018	»	-0.015	»	0.157	-0.148	0.006	-0.036	-0.036	-0.229	-0.024	Без изм.	-0.101	-0.118	-0.045	-0.078
	В	-0.005	»	-0.184	»	0.074	0.107	0.264	-0.055	-0.018	-0.082	-0.018	»	-0.289	-0.324	-0.104	-0.142
«Красногуранск»	П	Без изм.	-0.055	-0.015	»	-0.027	-0.156	-0.190	0.085	0.659*	0.125	-0.036	-0.036	-0.025	-0.234	0.176	-0.100
	В	-0.018	-0.074	-0.137	»	-0.103	-0.082	0.049	-0.289	0.275	-0.374	-0.115	-0.036	0.065	0.298	0.105*	0.065

Примечание. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ –0.000 – уровни достоверности отклонения от равновесия Харди–Вайнберга.



Генетические расстояния D (Nei, 1972) между возрастными группами внутри популяций на плоскости двух главных координат (П – подрост).

довольно высоких значений 0.081–0.659 (8.1–65.9 %). Причем он наблюдается наряду с отсутствием многолокусного инбридинга по результатам анализа гетерозиготности (кроме подростка в «Ачинске»). Это может являться признаком подразделенности популяции на субпопуляции из-за различий между ними в распределении частот аллелей – так называемого эффекта Валунда, либо ограниченного аллельного разнообразия основателей популяции (Nei, 1977; Хедрик, 2003). Так как у взрослых деревьев и подростка одних и тех же популяций отмечены отклонения по разным локусам, а по одноименным локусам в обеих возрастных группах отклонения по знаку часто не совпадают, то можно предположить, что большая часть отклонений нивелируется отбором в период интенсивного роста и изреживания древостоев или является результатом ошибки выборки.

В дополнение к сравнительному анализу F -статистик Райта были посчитаны генетические дистанции Неи (Nei, 1972) между выборками возрастных групп деревьев внутри популяций на основе сравнения распределений частот аллелей исследованных полиморфных локусов.

Из рисунка видно, что на плоскости главных координат дальше всех отстоят выборки из Краснотуранского бора, расположенного на правом берегу р. Енисей, остальные – по левую сторону от него. Тест Мантела не выявил достоверной корреляции между генетическими расстояниями и географической удаленностью выборок. При этом большей общностью возрастных групп по разнообразию аллелей характеризуются популяции «Краснотуранск», «Б. Мурта», «Юксеево», «Лесосибирск». Наибольшие генетические дистанции Неи получены между взрослыми деревьями и подростом в популяциях «Ачинск», «Шира» и «Погорелка» (0.009, 0.008, 0.007 соответственно), сопоставимые с различиями между географически удаленными популяциями внутри региона. Наличие в этом списке двух сильно нарушенных популяций («Ачинск» и «Шира»), на наш взгляд, указывает на большую вероятность недавнего (в пределах возраста сравниваемых поколений деревьев) внешнего негативного воздействия на взрослый древостой или подрост (пожара, вырубок, вредителей и др.), повлиявшего на генетическую структуру перечисленных популяций (см. рисунок).

Следует отметить, что, хотя Краснотуранский бор и отличается хорошим состоянием и охраняется, его изолированное положение от других популяций вида и хозяйственное использование до организации заказника наложили свой отпечаток на современную генетическую структуру популяции, что обнаруживается по дефициту гетерозигот в локусах *Lap-2* и *Adh-2* в двух возрастных группах. Максимальное число аллелей исследованных локусов (50–52 из 60 в совокупности) зафиксировано в популяциях «Юкеево» и «Лесосибирск».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования установлено, что лесостепные и южно-таежные популяции сосны обыкновенной в Средней Сибири находятся в относительно равновесном состоянии. Низкие значения F_{st} свидетельствуют об отсутствии тенденций к дивергенции и генетической изоляции популяций в этой части ареала вида. В то же время отмечен ряд достоверных отклонений в генетической структуре отдельных популяций. В частности, в наиболее нарушенной рубками популяции выявлен самый низкий уровень гетерозиготности особей, что в дальнейшем может привести к существенному снижению продуктивности нового поколения сосен, если принять во внимание корреляции интенсивности и стабильности роста деревьев с уровнем их гетерозиготности. Кроме того, для нее и двух других популяций получены высокие генетические дистанции Неи между молодым и взрослым поколениями деревьев внутри популяций, сопоставимые с географически удаленными друг от друга популяциями внутри региона.

В итоге из проанализированных нами показателей наиболее информативными для целей мониторинга оказались высокие генетические дистанции Неи между выборками внутри популяций, низкий уровень гетерозиготности, высокие значения индекса фиксации F , существенное сокращение числа аллелей (в исследованных выборках до 10.0–14.5 %). Возможность использования в качестве критерия «нормальности» течения лесообразовательного процесса такого показателя, как «более высокое значение величины гетерозиготности в старшей возрастной группе», пока не доказана и требует проведения дополнительных более широких исследований в азиатской (менее нарушенной) части ареала вида. Отметим, что важность наблюдаемых изменений в генетической структуре популя-

ций зависит также от природно-климатической зоны, в которой расположена популяция (чем сильнее она антропогенно преобразована, как лесостепь, например, тем значимее перечисленные отклонения); от удаленности ее от соседних популяций вида (степени ограниченности притока генов); от площади произошедших нарушений относительно размеров всей популяции. Поэтому для долговременного мониторинга, на наш взгляд, необходимо разработать поправочные коэффициенты к показателям степени обеднения генофонда и нарушенности структуры популяции, исходя из особенностей ее месторасположения (более высокие для таких природно-климатических зон, как лесотундра, горы Субарктики, лесостепь, степь, для изолированных популяций небольшой численности в любом месторасположении).

Результаты исследования в целом показывают, что генетическая структура популяций вида довольно устойчива к среднему уровню антропогенной нагрузки (рекреации) и может достаточно быстро восстанавливаться, однако больший негативный эффект от лесопользования может быть связан с утратой части редких аллелей и адаптивного генетического полиморфизма популяций. Поэтому одним из возможных способов сохранения и даже восстановления утраченного генетического разнообразия популяций такого хозяйственно ценного вида, история расселения которого тесно связана с пожарами и катастрофическими событиями в лесах, может быть создание в каждом из изолированных лесостепных боров нескольких (на случай пожаров) генетических резерватов деревьев репродуктивного возраста. Полнота древостоя в таких резерватах должна быть оптимальной (0.6–0.7) для обеспечения свободного перекрестного опыления. Также возможно введение в них микрокультур (небольшой площади) сосны из семян, собранных в ближайших популяциях, сохранивших естественную генетическую структуру и уровень разнообразия для восстановления утраченного разнообразия отсутствующих в данной популяции аллелей (гаплотипов).

Особого внимания также заслуживает немногочисленность выявленных отклонений для популяций с явными признаками чрезмерных («Ачинск») и заметных («Шира», «Юкеево») антропогенных нарушений, что свидетельствует о необходимости использования более чувствительных, чем аллозимные, маркеров генетического полиморфизма популяций вида (различных типов ДНК-маркеров ядерного и

цитоплазматических геномов) для обнаружения более тонких нарушений и начальных стадий негативных для возобновления генофонда популяций процессов. В дальнейшем будут проведены исследования генетического полиморфизма популяций с использованием микросателлитных маркеров на большем числе выборок разной степени нарушенности и стадии восстановления.

Работа выполнена в рамках бюджетного проекта Западно-Сибирского отдела ИЛ СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН (проект № 0346-2016-0301) и при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, Правительства Красноярского края, Красноярского краевого фонда науки в рамках научного проекта № 18-44-240002.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алтухов Ю. П. Генетические процессы в популяциях: учеб. пособ. 3-е изд., перераб. М.: Академкнига, 2003. 431 с.
- Видякин А. И. Применение результатов феногеографических исследований в практике лесного хозяйства России // Сиб. лесн. журн. 2014. № 4. С. 29–34.
- Голиков А. М. Рост и формовая структура потомства ели европейской в зависимости от гетерозиготности деревьев и условий произрастания // Лесоведение. 2007. № 4. С. 51–58.
- Гончаренко Г. Г., Дробышевская В. В., Силин А. Е., Падутов В. Е. Генетические ресурсы сосен России и сопредельных государств // Докл. РАН. 1996. Т. 346. № 3. С. 419–423.
- Динамика популяционных генофондов при антропогенных воздействиях / Под ред. акад. Ю. П. Алтухова. М.: Наука, 2004. 618 с.
- Зацепина К. Г., Тараканов В. В., Кальченко Л. И., Экарт А. К., Ларионова А. Я. Дифференциация популяций сосны обыкновенной в ленточных борах Алтайского края, выявленная с применением маркеров различной природы // Сиб. лесн. журн. 2016. № 5. С. 21–32.
- Ивановская С. И. Генетические ресурсы сосны обыкновенной в Беларуси, их сохранение и использование в селекционном семеноводстве: автореф. дис. ... канд. биол. наук. 06.03.01. Гомель: Ин-т леса Нац. акад. наук Беларуси, 2015. 24 с.
- Исаков Ю. Н. Опыт изучения относительного уровня гетерозиготности на примере центрального прироста у сосны обыкновенной // Теоретические основы внутривидовой изменчивости и структура популяций хвойных пород: тр. Ин-та экол. раст. и животн. Вып. 10. Свердловск: Урал. науч. центр АН СССР, 1974. С. 90–94.
- Коршиков И. И., Мудрик Е. А. Сравнительный анализ генетической гетерогенности семенного потомства в изолированной популяции *Pinus sylvestris* var. *cretacea* Kalenicz. ex Kom. в Донбассе // Цитол. генет. 2006. № 3. С. 17–23.
- Кузнецова Н. Ф., Исаков Ю. Н. Проявление уровня самофертильности у сосны обыкновенной в зависимости от климатических условий года // Экология. 1996. Т. 27. № 4. С. 256–259.
- Ларионова А. Я. Изоэнзимный полиморфизм // Сосна обыкновенная в Южной Сибири. Красноярск: Ин-т леса и др. им. В. Н. Сукачева СО АН СССР, 1988. С. 75–93.
- Ларионова А. Я., Экарт А. К. Генетическое разнообразие и дифференциация болотных популяций сосны // Хвойные бореальной зоны. 2010. Т. XXVII. № 1–2. С. 120–126.
- Падутов В. Е., Хотылева Л. В., Баранов О. Ю., Ивановская С. И. Генетические эффекты трансформации лесных экосистем // Экол. генет. 2008. Т. VI. № 1. С. 3–11.
- Политов Д. В. Генетика популяций и эволюционные взаимоотношения видов сосновых (сем. Pinaceae) Северной Евразии: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. 03.00.15. М.: Ин-т общ. генет. РАН, 2007. 48 с.
- Приказ Министерства природных ресурсов и экологии Российской Федерации от 18 августа 2014 г. № 367 «Об утверждении Перечня лесорастительных зон Российской Федерации и Перечня лесных районов Российской Федерации» (ред. от 19.02.2019 г.). (Зарег. в Минюсте России 29.09.2014 № 34186). М.: Минприроды России, 2014.
- Санников С. Н., Петрова И. В. Дифференциация популяций сосны обыкновенной. Екатеринбург: УрО РАН, 2003. 250 с.
- Семериков В. Л., Подогаз А. В., Шурхал А. В. Структура изменчивости аллозимных локусов в популяциях сосны обыкновенной // Экология. 1993. № 1. С. 18–25.
- Старова Н. В., Ямбаев Ю. А., Юмадилов Н. Х., Адлер Э. Н., Духарев В. А., Шигапов З. Х. Генетическая изменчивость сосны обыкновенной в возрастных группах // Генетика. 1990. Т. 26. № 3. С. 498–505.
- Тараканов В. В. Достижения и ошибки в области сохранения и рационального использования лесных генетических ресурсов Сибири // Лесн. хоз-во. 2009. № 5. С. 10–12.
- Тараканов В. В., Самсонова А. Е., Ильичев Ю. Н. Влияние естественных и антропогенных факторов на генетическую изменчивость сосны в Приобье: состав терпентинных масел хвои // Лесоведение. 2004. № 5. С. 50–57.
- Тихонова И. В., Семериков В. Л. Генетический полиморфизм карликовых сосен на юге Средней Сибири // Экология. 2010. № 5. С. 330–335.
- Тихонова И. А., Тихонова И. В. Индивидуальная изменчивость сосны обыкновенной по признакам засухоустойчивости в лесостепных борах Южной Сибири // Сиб. лесн. журн. 2016. № 5. С. 114–124.
- Тихонова И. В., Экарт А. К., Кравченко А. Н., Зацепина К. Г. Неравновесие распределения генотипов по парам изоферментных локусов в популяциях сосны обыкновенной в лесостепных районах Сибири // Генетика. 2016. Т. 52. № 9. С. 1042–1054.

- Хедрик Ф. Мир биологии. Генетика популяций. М.: Техносфера, 2003. 592 с.
- Хромова Л. В., Романовский М. Г., Духарев В. А. Частичная стерильность сосны в 1986 и 1987 гг. в зоне Чернобыльской АЭС // Радиобиология. 1990. Т. 30. Вып. 4. С. 450–457.
- Шуганов З. Х. Внутривидовая изменчивость и дифференциация видов семейства Pinaceae на Урале: автореф. дис... д-ра биол. наук. 03.00.05. Пермь: Перм. гос. ун-т, 2005. 46 с.
- Экерт А. К., Ларионова А. Я., Зацепина К. Г., Кравченко А. Н., Жамъянсурэн С., Тихонова И. В., Тараканов В. В. Генетическое разнообразие и дифференциация популяций сосны обыкновенной в Южной Сибири и Монголии // Сиб. экол. журн. 2014. Т. 21. № 1. С. 69–78.
- Bush R. M., Smouse P. E., Ledig F. T. The fitness consequences of multiplelocus heterozygosity: the relationship between heterozygosity and growth rate in pitch pine (*Pinus rigida* Mill.) // Evolution. 1987. V. 41. N. 4. P. 787–798.
- Lande R., Schentske D. W., Schultz S. T. High inbreeding depression, selective interference among loci, and the threshold selfing rate for purging recessive lethal mutations // Evolution. 1994. V. 48. N. 4. P. 965–978.
- Ledig F. T. Human impacts on genetic diversity in forest ecosystems // Oikos. 1992. V. 63. P. 87–108.
- Linhart Y. B., Mitton J. B., Sturgeon K. B., Davis M. L. Genetic variation in space and time in a population of ponderosa pine // Heredity. 1981. V. 46. Iss. 3. P.407–426.
- Mitton J. B. Relationship between heterozygosity for enzyme loci and variation of morphological characters in natural populations // Nature. 1978. V. 273. N. 5664. P. 661–662.
- Muona O., Yazdani R., Rudin D. Genetic change between life stages in *Pinus sylvestris*: allozyme variation in seeds and planted seedlings // Silv. Genet. 1987. V. 36. N. 1. P. 39–42.
- Nei M. Genetic distance between populations // Amer. Naturalist. 1972. V. 106. P. 283–292.
- Nei M. F-statistics and the analysis of gene diversity in subdivided populations // Ann. Hum. Genet. 1977. V. 41. P. 225–233.
- Peakall R., Smouse P. E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // Mol. Ecol. Notes. 2006. N. 6. P. 288–295.
- Rousset F. Genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux // Mol. Ecol. Res. 2008. V. 8. N. 1. P. 103–106.
- Weir B. S., Cockerham C. C. Estimating F-statistics for the analysis of population structure // Evolution. 1984. V. 38. P. 1358–1370.
- Wright S. Evolution and the genetics of populations. V. 4. Variability within and among natural populations. Chicago: Univ. Chicago, 1978. 590 p.

VARIABILITY OF ALLOZYME LOCUS AND INBREEDING LEVEL IN THE AGE GROUPS OF SOUTHERN-TAIGA AND FOREST-STEPPE PINE POPULATIONS OF THE CENTRAL SIBERIA

I. V. Tikhonova¹, A. K. Ekart², K. G. Zatsepina¹, A. N. Kravchenko²

¹ West-Siberian Branch of V. N. Sukachev Institute of Forest, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch Federal Research Center Krasnoyarsk Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch Zhukovsky str., 100/1, Novosibirsk, 630082 Russian Federation

² Federal Research Center Krasnoyarsk Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch V. N. Sukachev Institute of Forest, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch Akademgorodok, 50/28, Krasnoyarsk, 660036, Russian Federation

E-mail: selection@ksc.krasn.ru, aekart@yandex.ru, kseniya-zacepina@yandex.ru, kravchenko-anna.n@yandex.ru

The results of the study of isozymes variability of Scots pine populations growing in the southern taiga and forest-steppe of Central Siberia are presented. For the analysis 16 polymorphic loci were used. Two age groups (adult trees and undergrowth) are compared for the main indicators of genetic variation. The greatest deficiency of heterozygotes and a statistically significant level of inbreeding was found in the progeny of a small isolated population most disturbed by cuttings from the vicinity of the city of Achinsk. This population was distinguished by the high genetic distance of Nei (1972) between compared generations of trees, comparable to the distances between geographically remote populations. In the majority of other population samples exposed to lower anthropogenic pressure, the average level of heterozygosity was noted, or the observed heterozygosity was higher than expected in two age groups of trees, and deviations from the equilibrium state were found for individual loci, which, as a rule, do not coincide in adult trees and sprouts. The results of the study show that the genetic structure of the populations of Scotch pine *Pinus sylvestris* L. is quite resistant to the average level of anthropogenic (recreational) load. But the greater negative effect of using forest is associated with an increased risk of loss of allelic diversity (in 3 populations from 8 to 10.0–14.5 %) and, accordingly, the adaptive genetic polymorphism of populations. The necessity of using more sensitive than allozyme markers of genetic polymorphism of species populations (DNA markers of the nuclear and, especially, of the cytoplasmic genomes) in order to detect more subtle disturbances and initial stages of negative processes for the resumption of the gene pool of the processes was noted.

Keywords: *Pinus sylvestris*, allozyme variability, heterozygosity, restoration of gene pool of populations.

How to cite: Tikhonova I. V., Ekart A. K., Zatsepina K. G., Kravchenko A. N. Variability of allozyme locus and inbreeding level in the age groups of southern-taiga and forest-steppe pine populations of the Central Siberia // *Sibirskij Lesnoj Zurnal* (Sib. J. For. Sci.). 2019. N. 5. P. 70–80 (in Russian with English abstract).