

И.И. Коршиков¹, Е.М. Горлова¹, В.П. Коба²**ВЫСОТНО-ПОЯСНАЯ ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ПОПУЛЯЦИЙ СОСНЫ КРЫМСКОЙ (*PINUS PALLASIANA* D. DON) В ГОРНОМ КРЫМУ**

Горный Крым, сосна крымская, популяции, высотно-поясная подразделенность и дифференциация

Введение

В горных системах в пределах одного макросклона возможна пространственная генетическая подразделенность популяций растений, даже при отсутствии выраженных изоляционных барьеров [10]. Контрастность природно-климатических условий в градиенте высотной поясности приводит к естественной фенологической изоляции растений разного высотного положения, что ограничивает свободный обмен наследственным материалом по высотному профилю популяции [11, 14]. Календарное несовпадение фаз цветения крайних групп особей в высотном ряду – причина их репродуктивной изоляции, что способствует субпопуляционной фрагментации континуума вдоль высотного ряда [10, 11]. Для хвойных Ю.К. Подгорным [11] сформулировано правило “давления восходящего потока генов”, согласно которому растения верхних поясов популяции могут ежегодно получать наследственную информацию с пыльцой от растений нижних поясов, в то время как противоположно направленный поток генов возможен лишь за счет эстафетных связей, на осуществление которых требуются десятки лет. Представления о пространственной организации популяционных локусов в горных системах разработаны, как правило, на основе фенологических методов наблюдений [12], которые не позволяют в полной мере оценить особенности генетической структуры отдельных элементов популяции, не говоря уже об определении направленности генетических процессов в пределах континуума.

В природе, как правило, не существует свободно скрещивающихся панмиктических популяций с неограниченной численностью. Чаще природные популяции состоят из полуизолированных исторически сложившихся совокупностей субпопуляций. Эти субпопуляции постоянно обмениваются генетическим материалом и подвержены различным формам отбора и случайному дрейфу генов [1, 9]. Типичный пример подразделенных популяций – мозаично-диффузная локализация сосны крымской (*Pinus pallasiana* D. Don) на макросклонах гор Крыма. Из-за разного рода изоляционных барьеров природного, а в последнее время и антропогенного происхождения свободное скрещивание, по всей видимости, чаще происходит внутри отдельных изолированных локальных групп растений *P. pallasiana*, нежели между ними. Условия периферийного и ограниченного ареала, мозаичность локалитетов, а значит и частичная их изоляция приводят к тому, что в отличие от популяций ели европейской (*Picea abies* (L.) Karst.) и сосны горной (*Pinus mugo* Turta) Украинских Карпат популяции *P. pallasiana* в Крыму более дифференцированы по вертикальному профилю горных макросклонов [5]. Как нами ранее было установлено, дифференциация по высотному горному профилю двух популяций *P. pallasiana* соотносится с таковой для популяций в пределах ареала этого вида в Крыму [3, 6–8, 13]. С предложенных представлений о внутренней организации популяций горных видов важно изучение их дифференциации не только по высотному профилю, а выяснение генетических особенностей локалитетов в пределах одного пояса (по горизонтали). Между этими локалитетами изоляция расстоянием заметно больше, чем по высотному профилю вдоль одного макросклона, а значит и более ограничен свободный обмен гаметам. Можно предположить, что по этой причине одноярусные локалитеты *P. pallasiana* будут более генетически дифференцированы, чем разновысотные группы особей в популяции на макросклоне.

Цель работы – анализ высотно-поясной генетической подразделенности и дифференциации популяций *P. pallasiana* в Горном Крыму.

Объекты и методика

Исследования проводили в 10 локалитетах трех популяций *P. pallasiana*, расположенных на трех макросклонах Крымских гор возле поселков Никита (Н), Иограф (И) и Алупка (А). В каждой

из популяций в трех высотных поясах: нижнем ~ до 400 м над уровнем моря (н.у.м.) (локалитеты мМ, Н1, И1, А1), среднем ~ 600 м н.у.м. (Н2, И2, А2) и верхнем ~ 900–1200 м н.у.м. (Н3, И3, А3) проводили отбор шишек в случайных выборках растений. Количество исследованных деревьев в выборках варьировало от 9 до 31, всего было изучено 191 дерево. Для определения их генотипа использовали экстрагируемые из эндоспермов ферменты, которые электрофоретически разделяли в вертикальных пластинках 7,5 % полиакриламидного геля. Условия экстракции ферментов, их электрофоретического разделения, гистохимического окрашивания, а также номенклатура локусов и аллелей подробно описана в наших предыдущих работах [3, 6–8, 13]. На основании частот аллелей 20 локусов 9 ферментных систем были рассчитаны значения F_{ST} и коэффициенты генетической дистанции Нея (D_N) [1].

Результаты и обсуждение

В анализе были использованы 20 аллозимных локусов, из которых 18 были полиморфными в исследуемых локалитетах *P. pallasiana*. По 13 локусам обнаружены случаи существенной аллельной и генотипической гетерогенности у однопоясных локалитетов, а всего для них было установлено, соответственно, 18 и 15 таких случаев (табл. 1). Наибольшее различие локалитеты в среднем поясе: 7 случаев аллельной и 6 генотипической гетерогенности. Неоднозначно проявляется генетическая неоднородность однопоясных локалитетов *P. pallasiana* по отдельным локусам. Так, например, по локусу Mdh-4 достоверная аллельная гетерогенность установлена для локалитетов нижнего, среднего и верхнего высотных поясов, а по локусам Dia-2 и Asp в двух поясах – нижнем и среднем. Значимая генотипическая гетерогенность по трем высотным поясам установлена для локуса Dia-2 и для двух поясов по локусам Mdh-2 и Adh-2. По высотному профилю макросклонов случаев значимой аллельной и генотипической гетерогенности было меньше, всего, соответственно, 8 и 10 (табл. 2). Только по 2 таким случаям выявлено в популяциях в районе Алупки и Йографа. Наиболее генетически неоднородной была популяция *P. pallasiana* на макросклоне у поселка Никита. Локус Dia-2 чаще других проявлялся в генетической гетерогенности разновысотных локалитетов.

В четырех локалитетах (А1, А3, И1, И2) фактическое распределение генотипов соответствовало теоретически ожидаемому, согласно закону Харди-Вайнберга. В остальных локалитетах отмечены существенные отклонения в этом распределении: один случай в А2, по два – Н1, Н2, три – И3, четыре – мМ и шесть – Н3. Значимое несоответствие в распределении генотипов установлено для 10 из 18 полиморфных, у Mdh-3 и Dia-2 оно встречалось в трех локалитетах, Gdh, Got-2, Dia-4, Lap-1 – в двух локалитетах и Got-3, Adh-1, Adh-2, Fdh – в одном из локалитетов.

В 10 исследуемых локалитетах *P. pallasiana* доля полиморфных локусов варьировала от 60 % до 80 % (табл. 3). Заметно различилось и среднее количество аллелей и генотипов на локус в этих локалитетах. Однако, оба этих показателя зависят от объема выборки, в отличие от средней гетерозиготности. Наблюдаемая гетерозиготность в локалитетах варьировала в пределах 0,155–0,220. Наиболее контрастные отличия в гетерозиготности были свойственны разновысотным локалитетам популяции на горном склоне возле поселка Никита. Общей тенденцией для всех трех популяций является некоторое повышение гетерозиготности растений по направлению от нижнего к верхнему поясу. Судя по значениям индекса фиксации Райта для 6 из 10 исследуемых локалитетов свойствен 1,1–11,7 %-ный недостаток, а для трех локалитетов избыток гетерозигот в 3,6–17 %.

С помощью коэффициента F_{ST} – статистики Райта установлена подразделенность однопоясных локалитетов *P. pallasiana*, а также в целом трех популяций (табл. 4). Следует отметить, что средние значения F_{ST} для однопоясных локалитетов были в 2–2,8 раза больше, нежели значения этого коэффициента в целом для популяций. Можно утверждать, что генетическая структура локалитетов менее “выравнена”, чем структура популяций, в которые они входят. Другое следствие этого анализа – наибольший вклад в подразделенность разновысотных однопоясных локалитетов вносят не всегда одни и те же локусы. Так, например, для локалитетов нижнего пояса это локусы Mdh-4, Adh-2, Got-3; среднего пояса – Got-1, Dia-1, Mdh-4; верхнего пояса – Mdh-2, Mdh-4, Sod-1, Adh-2. Среди локусов, определяющих подразделенность всех 10-ти локалитетов, выделяются Got-1, Mdh-4 и Dia-2, а в целом трех популяций – Got-1 и Dia-1. Исходя из представлений Ю.П. Алтухова [1] о том, что локусы с высокими значениями F_{ST} находятся под влиянием локального дизруптивного отбора, можно отметить, что этот отбор в локалитетах и целом в популяциях касается в большей степени разных локусов.

Таблица 1. Случаи существенной аллельной и генотипической гетерогенности однопоясных локалитетов природных популяций *Pinus pallasiana* D. Дон Горного Крыма, χ^2 -тест

Локус	Локалитеты поясов					
	нижнего: А1, И1, Н1		среднего: А2, И2, Н2		верхнего: А3, И3, Н3	
	аллели	генотипы	аллели	генотипы	аллели	генотипы
Got-1	n.s.	n.s.	26,1*** (2)	15,0** (4)	n.s.	n.s.
Got-3	12,7* (4)	15,9** (4)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Sod-1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	11,5* (4)	12,1* (4)
Mdh-2	n.s.	n.s.	n.s.	21,7*** (4)	9,1* (2)	8,1* (2)
Mdh-3	18,6** (6)	22,6* (10)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Mdh-4	33,1*** (6)	n.s.	22,9*** (4)	n.s.	14,9** (4)	n.s.
Dia-1	n.s.	n.s.	20,5*** (4)	19,5** (6)	n.s.	n.s.
Dia-2	16,9** (6)	18,5** (6)	16,5** (4)	13,4* (6)	n.s.	13,6* (6)
Dia-4	n.s.	n.s.	n.s.	17,3* (8)	n.s.	n.s.
Acp	13,4* (6)	n.s.	15,0* (6)	17,2* (8)	n.s.	n.s.
Adh-1	n.s.	n.s.	19,3** (6)	n.s.	17,6** (6)	16,6* (8)
Adh-2	22,3*** (4)	14,4* (6)	n.s.	n.s.	14,0** (4)	15,6* (6)
Lap-1	n.s.	n.s.	10,8* (4)	n.s.	n.s.	n.s.

Примечания: отличия достоверны при * $P \leq 0,05$, ** $P \leq 0,01$, *** $P \leq 0,001$; в скобках указано число степеней свободы; n.s. – недостоверно.

Таблица 2. Случаи существенной аллельной и генотипической гетерогенности разновысотных локалитетов природных популяций *Pinus pallasiana* D. Дон Горного Крыма, χ^2 -тест

Локус	Никита (4 локалитета)		Алупка (3 локалитета)		Иограф (3 локалитета)	
	аллели	генотипы	аллели	генотипы	аллели	генотипы
Got-1	n.s.	n.s.	15,4**(4)	13,0*(6)	n.s.	n.s.
Got-3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	12,1*(4)	14,0**(4)
Mdh-2	n.s.	n.s.	6,4*(2)	6,6*(2)	n.s.	n.s.
Mdh-3	n.s.	48,7***(15)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Dia-1	26,5***(9)	26,6*(15)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Dia-2	45,8***(9)	47,1***(15)	n.s.	n.s.	10,5*(4)	15,4*(6)
Dia-4	n.s.	37,5***(15)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Adh-1	25,5***(9)	44,5***(18)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Adh-2	n.s.	13,5*(6)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Lap-1	13,2*(6)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Примечания: отличия достоверны при * $P \leq 0,05$, ** $P \leq 0,01$, *** $P \leq 0,001$; в скобках указано число степеней свободы; n.s. – недостоверно.

Таблица 3. Значения основных показателей генетического полиморфизма в разновысотных локалитетах *Pinus pallasiana* D. Don из природных популяций Горного Крыма

Локалитеты (высота над уровнем моря)	Количество деревьев	Доля поли- морфных локусов по 99 % критерию	Среднее число на локус		Средняя гетерозиготность		Индекс фиксации Райта
			аллелей	генотипов	ожидаемая	наблюдаемая	
мыс Мартьян (0-100)	19	0,700	2,150	2,368	0,196±0,018	0,155±0,017	0,209
Никита 1 (400)	31	0,700	2,250	2,579	0,187±0,014	0,185±0,014	0,011
Никита 2 (600)	20	0,700	2,200	2,474	0,212±0,018	0,205±0,018	0,033
Никита 3 (900)	25	0,700	2,150	2,684	0,249±0,017	0,220±0,015	0,117
По популяции	95	0,750	2,450	3,684	0,218±0,008	0,193±0,008	0,115
Алупка 1 (400)	18	0,800	1,950	2,200	0,178±0,018	0,178±0,018	0,000
Алупка 2 (600)	10	0,750	2,000	2,250	0,215±0,027	0,195±0,025	0,093
Алупка 3 (900)	9	0,650	1,700	1,750	0,176±0,025	0,206±0,025	-0,170
По популяции	37	0,900	2,400	2,850	0,194±0,013	0,189±0,013	0,026
Иограф 1 (300-400)	14	0,600	1,850	2,250	0,213±0,021	0,189±0,020	0,113
Иограф 2 (500-700)	30	0,800	2,350	2,750	0,193±0,015	0,200±0,014	-0,036
Иограф 3 (900-1200)	15	0,650	1,750	2,000	0,187±0,020	0,210±0,020	-0,123
По популяции	59	0,750	2,050	3,050	0,200±0,010	0,200±0,010	0,000
В целом по виду	191	0,900	2,550	4,550	0,213±0,006	0,194±0,006	0,089

Таблица 4. Значения F_{ST} для однополосных локалитетов и в целом популяций *Pinus pallasiana* D. Don в Горном Крыму

Локус	Локалитеты поясов				
	нижнего- И1,А1,Н1	среднего- И2,А2,Н2	верхнего- И3,А3,Н3	В среднем по 10 локалитетам (И1,И2,И3, А1,А2,А3, ММ,Н1,Н2,Н3)	В целом по трем популяциям (группы локалитетов А, И, Н)
Gdh	0,019	0,013	0,013	0,019	0,009
Got-1	0,020	0,217	-	0,155	0,053
Got-2	0,015	0,006	0,012	0,011	0,005
Got-3	0,066	0,008	0,015	0,037	0,005
Sod-1	-	0,023	0,056	0,050	0,011
Sod-2	-	-	-	-	-
Sod-3	-	-	-	-	-
Sod-4	0,020	0,034	0,031	0,039	0,011
Mdh-2	0,028	0,023	0,092	0,037	0,011
Mdh-3	0,046	0,018	0,006	0,032	0,007
Mdh-4	0,094	0,084	0,080	0,083	0,020
Dia-1	0,017	0,088	0,031	0,063	0,035
Dia-2	0,043	0,067	0,038	0,083	0,012
Dia-4	0,017	0,027	0,024	0,038	0,014
Acp	0,030	0,042	0,026	0,037	0,016
Adh-1	0,013	0,048	0,053	0,053	0,024
Adh-2	0,084	0,036	0,058	0,056	0,022
Fdh	0,016	0,009	0,020	0,021	0,005
Lap-1	0,023	0,056	0,042	0,063	0,014
Lap-2	0,015	0,007	0,027	0,019	0,009
Среднее	0,028	0,040	0,031	0,045	0,014

Примечание: знаком “-” отмечено, что в данных локалитетах локус был мономорфным.

Внутренняя высотная подразделенность трех популяций на макросклонах была несколько ниже, чем подразделенность их локалитетов в пределах одного и разновысотных поясов (табл. 5). Если средние значения в первом случае варьировали от 0,017 до 0,034, то во втором варианте анализа они были выше – 0,028–0,040. В подразделенность трех популяций вдоль высотного градиента наибольший вклад также вносят в основном разные локусы.

Степень генетической дифференциации, определенная с помощью коэффициента генетической дистанции Нея (D_N), была выше у одноярусных локалитетов, в среднем составив для нижнего пояса 0,017, среднего – 0,019, верхнего – 0,013, чем у разновысотных локалитетов популяций (табл. 6). Так, например, для популяции у поселков Иограф среднее значение D_N равнялось 0,010, Никита – 0,012 и Алупка – 0,013. Для всех десяти локалитетов среднее значение D_N было 0,016. Этот уровень сравним с дифференциацией 15 равнинных и горных популяций сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в пределах природного ареала в Украине [4], а также центральных и краевых популяций этого вида в Восточной Европе и Сибири ($D_N=0,017$) [2].

На основании значений коэффициентов генетической дистанции, используя невзвешенный парно-групповой метод кластерного анализа (UPGMA), построена дендрограмма (рис.), позволяющая проиллюстрировать степень межлокалитетной дифференциации *P. pallasiana* в Горном Крыму. Вопреки ожиданию не выявлено закономерностей в распределении локалитетов *P. pallasiana* в зависимости от высотного или поясного расположения. Локалитеты мозаично-дисперсно разбросаны по кластерам.

Таблица 5. Значения F_{ST} для разновысотных локалитетов популяций *Pinus pallasiana* D. Don в Горном Крыму

Локус	Иограф (И1-И2-И3)	Алупка (А1-А2-А3)	Никита (ММ-Н1-Н2-Н3)
Gdh	0,014	0,027	0,011
Got-1	-	0,118	-
Got-2	0,012	0,009	0,005
Got-3	0,064	0,048	0,002
Sod-1	0,019	0,043	-
Sod-2	-	-	-
Sod-3	-	-	-
Sod-4	-	0,015	0,040
Mdh-2	0,013	0,086	0,013
Mdh-3	0,024	0,028	0,032
Mdh-4	0,002	0,033	0,027
Dia-1	0,001	0,007	0,049
Dia-2	0,057	0,005	0,089
Dia-4	0,013	0,045	0,028
Аср	0,042	0,035	0,019
Adh-1	0,003	0,036	0,040
Adh-2	0,034	0,046	0,040
Fdh	0,012	0,026	0,012
Lap-1	0,008	0,041	0,043
Lap-2	0,018	0,029	0,009
Среднее	0,017	0,034	0,023

Примечание: знаком “-” отмечено, что в данных локалитетах локус был мономорфным.

5. Коршиков И.И. Высотная дифференциация горных популяций видов семейства Pinaceae в Украинских Карпатах и Крыму / И.И. Коршиков, С.Н. Привалихин, Е.М. Горлова и др. // Ботан. журн. – 2005. – 90, № 9. – С. 1412–1420.
6. Коршиков И.И. Генетическая изменчивость сосны крымской (*Pinus pallasiana* D. Don) вдоль высотного профиля в Горном Крыму / И.И. Коршиков, Н.С. Терлыга, С.А. Бычков // Доп. Нац. акад. наук України. – 2000. – № 2. – С. 157–161.
7. Коршиков И.И. Популяционно-генетические проблемы дендротехногенной интродукции (на примере сосны крымской) / И.И. Коршиков, Н.С. Терлыга, С.А. Бычков. – Донецк: ООО “Лебедь”, 2002. – 328 с.
8. Коршиков И.И. Популяційно-генетична різноманітність та диференціація гірських популяцій сосни кримської (*Pinus pallasiana* D. Don) в Криму / І.І. Коршиков, Н.С. Терлига, С.А. Бичков // Бюл. Никит. ботан. сада. – 2003. – Вып. 88. – С. 45–48.
9. Ли Ч. Введение в популяционную генетику / Ч. Ли. – М.: Мир, 1978. – 556 с.
10. Малиновский К.А. О границах природных популяций растений / К.А. Малиновский, И.В. Царик, Г.Г. Жиляев. // Журн. общ. биол. – 1988. – 49, № 1. – С. 46–58.
11. Подгорный Ю.К. Закономерности формирования популяционной структуры горных растений и пути их использования в интродукции, селекции, охране генофондов (на примере сосны крымской): автореф. дис. на соискание науч. степени д-ра биол. наук: спец. 03.00.05 “Ботаника” / Юлий Кириллович Подгорный. – Москва, 1995. – 52 с.
12. Царик И.В. Некоторые аспекты пространственной организации сообществ и популяции растений / И.В. Царик, Г.Г. Жиляев, К.А. Малиновский // Экологія та ноосфера. – 1995. – 1, № 1–2. – С. 91–98.
13. Korshikov I.I. Allozyme variation of *Pinus pallasiana* D. Don in natural Crimean populations and in plantations in technogenously-polluted areas of the Ukraine steppes / I.I. Korshikov, F. Ducci, N.S. Terliga et al. // Ann. For. Sci. – 2004. – 61. – P. 389–396.
14. Williams C.F. Spatial genetic structure of *Delphinium nuttallianum* populations: Inferences about gene flow / C.F. Williams, N.M. Waser // Heredity. – 1999. – 83, № 5. – P. 541–550.

Донецкий ботанический сад НАН Украины

Получено 17.06.2009

Никитский ботанический сад УААН – Национальный научный центр

УДК 575.111:634.942

ВЫСОТНО-ПОЯСНАЯ ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ПОПУЛЯЦИЙ СОСНЫ КРЫМСКОЙ (*PINUS PALLASIANA* D. DON) В ГОРНОМ КРЫМУ

И.И. Коршиков¹, Е.М. Горлова¹, В.П. Коба²

¹Донецкий ботанический сад НАН Украины

²Никитский ботанический сад УААН – Национальный научный центр

Изучена высотно-поясная подразделенность и дифференциация трех популяций сосны крымской (*Pinus pallasiana* D. Don) в Горном Крыму с использованием 20 аллозимных локусов. Установлено, что однопоясные локалитеты разных популяций и разновысотные локалитеты на одном макросклоне характеризуются высокой подразделенностью, имея средние значения коэффициента F_{st} в первом случае 0,028–0,040 и втором – 0,017–0,034. Средний уровень генетической дифференциации 10 исследуемых локалитетов ($D_N=0,016$) достигал межпопуляционных отличий.

UDC 575.111:634.942

HIGH-ALTITUDE AND ZONAL GENETIC DIFFERENTIATION OF THE CRIMEAN PINE (*PINUS PALLASIANA* D. DON) POPULATIONS IN THE MOUNTAINOUS CRIMEA

I.I. Korshikov¹, E.M. Gorlova¹, V.P. Koba²

¹Donetsk Botanical Garden, National Academy of Sciences of Ukraine

²Nikita Botanical Garden, UAAS – National Scientific Centre

High-altitude zonal subdivision and differentiation of three Crimean pine populations (*Pinus pallasiana* D. Don) in the Mountainous Crimea using 20 allozyme loci have been studied. It has been found that one-zone localities of different populations and those of various altitudes on one macroslope are characterized by high subdivision, having average values for the index F_{st} 0,028–0,040 in the first and 0,017–0,034 in the second case. The average level of genetic differentiation of 10 localities under discussion ($D_N=0,016$) reached interpopulation differences.