

И.В. Макогон, С.Н. Привалихин

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ *PICEA ABIES* (L.) KARST. В ПРИРОДНОЙ ПОПУЛЯЦИИ И ИНТРОДУКЦИОННОМ НАСАЖДЕНИИ

Picea abies (L.) Karst., популяция, интродукционное насаждение, гетерогенность

Генетические аспекты интродукции растений, несмотря на их приоритетную значимость, остаются достаточно малоизученными [5, 7, 8]. Одна из важнейших задач интродукции - разработка принципов и приёмов создания высокопродуктивных насаждений, устойчивых к различным стрессовым факторам. Она может успешно решаться на основе эффективной методологии воспроизводства генетического разнообразия природных популяций вида в его интродукционных насаждениях [5]. Утверждается, что сохранение генетического разнообразия вида при интродукции является неперенным условием его выживания, эволюции и последующей эффективной селекции [7]. В этом контексте первичной эмпирической задачей является оценка возможных потерь генетического разнообразия вида в ходе его интродукции [5]. Эта проблема особо острой становится, когда вид перемещают далеко за пределы ареала в другую климатическую и растительную зону. Обеднение генофонда в новых условиях произрастания может происходить не только вследствие искусственного отбора, но и в результате усиливающегося действия неблагоприятных природно-климатических и фито-ценотических факторов.

В последние годы в степную зону Украины стихийно и целенаправленно начали интродуцировать главную лесохозяйственную породу Украинских Карпат - ель европейскую (*Picea abies* (L.) Karst.). В дендрарии Донецкого ботанического сада НАН Украины (ДБС), в искусственном насаждении (более 60 особей), этот вид произрастает более 25 лет.

Цель данной работы - сравнительный анализ параметров аллозимной изменчивости *Picea abies* в интродукционном насаждении ДБС и природной популяции Украинских Карпат.

Для генетических исследований в ходе самостоятельной экспедиции был собран семенной материал с 43 деревьев в природной популяции *Pabies* Украинских Карпат, расположенной на высоте 1250-1300 м над уровнем моря. Возраст этих деревьев - 80-100 лет. В насаждении дендрария ДБС семена были собраны с 45 деревьев. Генетическое разнообразие природной популяции и интродукционного насаждения *Picea abies* оценивали на основе исследования полиморфизма 9 ферментных систем. Электрофорез ферментов, экстрагируемых из гаплоидных эндоспермов семян, проводили в вертикальных пластинках 7,5 % полиакриламидного геля. Для определения материнского генотипа анализировали по 8 эндоспермов. В количественном анализе уровня генетической изменчивости *P. abies* использовали стандартные методы и показатели наиболее часто применяющиеся в популяционно-генетических исследованиях.

В результате проведенного электрофоретического анализа 9 ферментных систем у каждого из 88 растений *Picea abies* определён характер расщепления аллелей у гаплоидных эндоспермов. На основании анализа расщепления аллелей у гетерозиготных растений установлен генетический контроль этих ферментов по 19 локусам. Четыре локуса - Sod-3, Sod-4, Got-1, Dia-2 оказались мономорфными в обоих изучаемых древостоях; локус Mdh-2 был изменчивым только в насаждении дендрария ДБС, а локус Mdh-4 - в природной популяции Карпат (табл. 1). В ходе исследований описано 52 различных аллельных варианта по 19 локусам. Обнаружено 43 аллеля в природной популяции Украинских Карпат и 41 в интродукционном насаждении ДБС, 33 из которых были общими. Генотипов в этих древостоях было соответственно 48 и 50, из них 38

Таблица 1. Описание изученных ферментов и локусов, число их аллелей и генотипов, гетерозиготность *Picea abies* (L.) Karst. в природной популяции Украинских Карпат и искусственном насаждении в дендрарии Донецкого ботанического сада

Фермент, его обозначение, кодový номер	Локус	Популяция (43)				Насаждение (45)			
		кол-во аллелей	кол-во генотипов	гетерозиготность		кол-во аллелей	кол-во генотипов	гетерозиготность	
				Ho	He			Ho	He
Аспаратаминотрансфераза (GOT, 2.6.1.1)	Got-1	1	1	0,000	0,000	1	1	0,000	0,000
	Got-2	2	2	0,140	0,130	3	4	0,178	0,203
	Got-3	3	4	0,512	0,508	2	3	0,622	0,494
Глутаматдегидрогеназа (GDH, 1.4.1.2)	Gdh	3	3	0,047	0,047	2	2	0,022	0,022
	Dia-1	2	2	0,047	0,045	4	5	0,133	0,166
	Dia-2	1	1	0,000	0,000	1	1	0,000	0,000
	Dia-3	2	3	0,628	0,447	3	4	0,422	0,515
Малатдегидрогеназа, (MDH, 1.1.1.37)	Dia-4	2	3	0,419	0,422	2	3	0,422	0,500
	Mdh-2	1	1	0,000	0,000	2	2	0,067	0,064
	Mdh-3	2	2	0,256	0,241	2	2	0,178	0,163
	Mdh-4	3	3	0,279	0,244	1	1	0,000	0,000
Формиатдегидрогеназа, (FDH, 1.2.1.2)	Fdh	3	3	0,047	0,047	2	2	0,022	0,022
	Asp-2	5	6	0,465	0,417	5	6	0,156	0,185
Кислая фосфатаза, (ACP, 3.1.3.2)	Asp-3	2	2	0,047	0,045	2	2	0,044	0,043
	Lap-1	4	4	0,163	0,155	3	4	0,356	0,441
Лейцинаминопептидаза, (LAP, 3.4.11.1)	Lap-2	3	4	0,465	0,483	2	3	0,244	0,247
	Adh-2	2	2	0,070	0,068	2	3	0,067	0,106
Алкогольдегидрогеназа, (ADH, 1.1.1.1)	Sod-3	1	1	0,000	0,000	1	1	0,000	0,000
	Sod-4	1	1	0,000	0,000	1	1	0,000	0,000

Таблица 2. Сравнительный анализ гетерогенности аллелей и генотипов *Picea abies* (L.) Karst. в природной популяции Украинских Карпат и в насаждении дендрария Донецкого ботанического сада

Локус	Гетерогенность, χ^2	
	аллельная	генотипическая
Got-2	2,957 (2)	4,064 (3)
Got-3	1,124 (2)	2,610 (3)
Gdh	1,091 (2)	1,049 (2)
Dia-1	17,441 (4)**	6,406 (4)
Dia-3	3,958 (2)	12,594 (3)**
Dia-4	7,948 (1)*	7,267 (2)*
Mdh-2	2,887 (1)	2,983 (1)
Mdh-3	0,694 (1)	6,895 (1)**
Mdh-4	13,525 (2)*	14,537 (2)***
Fdh	1,091 (2)	1,049 (2)
Acp-2	17,875 (5)**	18,321 (7)*
Acp-3	3,962 (2)	4,007 (2)
Lap-1	22,196 (3)***	17,090 (4)**
Lap-2	12,709 (2)**	12,379 (3)**
Adh-2	7,986 (2)*	6,986 (3)

Примечание: в скобках указаны степени свободы; различия достоверны при * $P < 0,95$; ** $P < 0,99$; *** $P < 0,999$

присутствовали в обеих выборках растений. Аллелей и генотипов, встречающихся только в природной популяции *Picea abies* в Карпатах, было 10, а в насаждении дендрария ДБС таких аллелей было 8 и генотипов 13. Большое количество редких аллелей и генотипов в интродукционном насаждении может быть связано с тем, что при его формировании исходный материал мог быть взят с разных популяций *P. abies*. Естественно, что в маргинальной популяции *P. abies* из Украинских Карпат не в полной мере представлено аллельное и генотипическое разнообразие данного вида. Наибольшее аллельное и генотипическое представительство было свойственно локусам Acp-2 и Lap-1 как в природной популяции Карпат, так и в насаждении дендрария ДБС. Однако значение наблюдаемой гетерозиготности для локуса Lap-1 в природной популяции Карпат было в 2 раза меньше, чем в насаждении дендрария. В естественном древостое наиболее изменчивыми были локусы Acp-2, Lap-2, Mdh-4, для которых значения наблюдаемой гетерозиготности в 2-3 раза выше, чем в интродукционном насаждении ДБС. Для локусов Dia-4, Got-3, Dia-3 показатели наблюдаемой гетерозиготности близки как в природной популяции, так и в искусственном насаждении. Больше количество аллелей и генотипов в насаждении дендрария ДБС обнаружено в локусах Dia-1, Dia-3, Got-2, Mdh-2. При этом и наблюдаемая гетерозиготность была выше, чем в природной популяции, за исключением локуса Dia-3. В искусственном насаждении у 8 из 14 полиморфных локусов наблюдался недостаток гетерозигот, в то время как в 10 локусах природной популяции отмечен их избыток.

Наблюдаемое распределение генотипов в полиморфных локусах природной популяции и интродукционном насаждении *Picea abies*, в целом, соответствовало ожидаемому, согласно закону Харди-Вайнберга. Достоверные отклонения от этого соотношения обнаружены в локусе Dia-3 в природной популяции и в локусе Adh-2 в искусственном насаждении. Во всех изученных древостоях самые представительные аллели встречались с частотой $\geq 0,500$, за исключением локуса Dia-4 в искусственном насаждении (0,489). Однако, при анализе аллельной и

Таблица 3. Значения основных показателей генетического полиморфизма *Picea abies* (L.). Karst. в природной популяции и интродукционном насаждении.

Место произрастания	Доля полиморфных локусов по 99 % критерию	Среднее число аллелей на локус	Средняя гетерозиготность		Индекс фиксации Райта, F
			наблюдаемая Ho	ожидаемая He	
Карпаты	0,737	2,263	0,188±0,012	0,174±0,012	-0,08
Дендрарий ДБС	0,737	2,158	0,154±0,011	0,167±0,011	0,08

генотипической гетерогенности данных древостоев (стандартный χ^2 -тест) установлены достоверные различия для 7 полиморфных локусов (табл. 2). Причём по 5 локусам отмечена существенная неоднородность сравниваемых древостоев как по аллелям, так и по генотипам.

На основании аллельных частот 19 аллозимных локусов рассчитаны значения основных показателей генетического полиморфизма для природной популяции и интродукционного насаждения *Picea abies* (табл. 3). Доля полиморфных локусов в обоих древостоях составила 73,7%. Наблюдаемая гетерозиготность в популяции *P. abies* из Украинских Карпат на 18 %, а ожидаемая – на 4 % выше, чем в её пионерном насаждении из степной зоны. При этом в естественном древостое отмечен 8%-ный избыток, а в искусственном насаждении – такой же недостаток гетерозигот. Установленные нами значения основных показателей генетической изменчивости для природной популяции *P. abies* из Украинских Карпат были близки к данным, полученным ранее другими исследователями для популяций этого вида в Украине, Белоруссии и Латвии [1, 3].

Значения коэффициента инбридинга изучаемых выборок *Picea abies* относительно вида в целом (F_{st}) и доли межвыборочного разнообразия (G_{st}), характеризующих подразделённость этих выборок, имели очень близкие и невысокие значения – 0,016 и 0,020 соответственно. Это свидетельствует о том, что только 2% приходится на различия в генетической структуре сравниваемой популяции и интродукционного насаждения *Picea abies*. Коэффициент генетической дистанции Нея (D_N), отражающий степень дифференциации изучаемых древостоев, составил 0,014. Такое значение D_N свидетельствует о невысокой генетической дифференциации интродукционного насаждения в отношении природной популяции. Показатель сходства (r) по Л.А. Животовскому [4] между изучаемыми древостоями по аллельному разнообразию составил 0,965, а по генотипическому составу – 0,932.

Как правило, искусственным насаждениям хвойных присущ более низкий уровень генетической изменчивости, чем природным популяциям [9, 10]. Хотя есть сведения и противоположного характера. Так, например, уровень генетической изменчивости *Pinus pallasiana* D. Don в искусственных насаждениях Криворожья оказался выше, чем в природных популяциях Крыма. Авторы это рассматривают как возможное следствие искусственного отбора лучших фенотипов при закладке этих насаждений [6]. Также было обнаружено, что уровень генетической изменчивости на лесосеменной плантации у *Picea abies* был выше, чем в природной популяции [2]. Однако, в малочисленных насаждениях интродуцентов со смещённой генетической структурой может развиваться инбредная депрессия, а её следствием будет снижение генетического разнообразия, гетерозиготности и ослабление жизненного потенциала семенного потомства местной репродукции [5].

Таким образом, в ходе первичной интродукции *Picea abies* в неблагоприятные природно-климатические условия степной зоны Украины не происходит значительной потери генетического потенциала природной популяции Украинских Карпат. Более низкий уровень гетерозиготности в пионерном насаждении *P. abies* в дендрарии ДБС, а также возможный дефицит пыльцы, свойственный молодым древостоям, создают определённые предпосылки к повышению гомозиготизации семенного потомства. Последующее размножение *P. abies* семенами местной репродукции возможно при условии проведения надлежащего контроля за генетическими параметрами потомства и посевными показателями качества семян.

1. Гончаренко Г.Г., Задейка И.В., Биргелис Я.Я. Генетическая структура, изменчивость и дифференциация ели европейской в Латвии // Лесоведение. – 1994. – №1. – С. 55–64.
2. Гончаренко Г.Г., Падутов В.Е., Потенко В.В. Руководство по исследованию древесных видов методом электрофоретического анализа изоферментов. – Гомель: Б.и., 1989. – 164 с.
3. Гончаренко Г.Г., Потенко В.В. Изменчивость и дифференциация у ели европейской *Picea abies* (L.) Karst в популяциях Украины, Белоруссии и Латвии // Докл. АН СССР. – 1990. – 314, №2. – С. 492–496.
4. Животовский Л.А. Популяционная биометрия. – М.: Наука, 1991. – 271 с.
5. Коршиков И.И. Теоретические основы популяционно-генетического подхода в интродукции растений // Эколого-біологічні дослідження на природних та антропогенно змінених територіях: Мат. наук. конф. молодих вчених, 13-16 травня 2002р. – Кривий Ріг, 2002. – С. 177–181.
6. Коршиков И.И., Терлыга Н.С. Генетическая изменчивость сосны крымской в природных популяциях Крыма и искусственных насаждениях Кривбасса // Цитология и генетика. – 2000. – 34, №6. – С. 21–29.
7. Некрасов В.И. Генетические аспекты естественного и искусственного отборов в интродукции растений // Журн. общ. биологии. – 1993. – 54, №3. – С. 333–340.
8. Скворцов А.К. Интродукция растений и ботанические сады: размышления о прошлом, настоящем и будущем // Бюл. Гл. ботан. сада. – 1996. – Вып.173. – С. 4–16.
9. Шуганов З.Х. Сравнительный генетический анализ лесосеменных плантаций и природных популяций сосны обыкновенной // Лесоведение. – 1995. – №3. – С. 19–24.
10. Moran G.F., Bell J.C., Matheson A.C. The genetic structure and levels of inbreeding in a *Pinus radiata* D. Don seed orchard // Silvae Genet. – 1980. – 29, №1. – P. 190–193.

Донецкий ботанический сад НАН Украины

Получено 17.03.2003

УДК: 581. 15: 582. 475.2 (477. 60)

Сравнительный анализ генетической изменчивости *Picea abies* (L.) Karst. в природной популяции и интродукционном насаждении И.В. Макогон, С.Н. Привалихин // Промышленная ботаника. – 2003. – Вып. 3. – С. 108–112.

Проведен сравнительный анализ генетической изменчивости *Picea abies* в интродукционном насаждении дендрария Донецкого ботанического сада и природной популяции Украинских Карпат. В качестве генетических маркеров использовали изоферменты 9 ферментных систем. Установлено, что количество аллелей и генотипов в изучаемых древостоях почти одинаково, а уровень наблюдаемой гетерозиготности в популяции *P. abies* ($H_o=0,188$) на 18% выше, чем в искусственном насаждении ($H_o=0,154$). В естественном древостое отмечен 8%-ый избыток, а в насаждении такой же недостаток гетерозигот. Коэффициент генетической дистанции Нея равен 0,014. При анализе аллельной и генотипической гетерогенности по χ^2 -тесту установлены достоверные отличия для 7 из 14 полиморфных локусов. Показатель генетического сходства (r) по аллельному разнообразию составил 0,965, а по генотипическому – 0,932. Полученные результаты свидетельствуют, что в ходе интродукции *P. abies* в неблагоприятные природно-климатические условия степной зоны не происходит значительной потери генетического потенциала природной популяции Украинских Карпат.

UDC: 581. 15: 582. 475.2 (477. 60)

Comparative analysis of genetic variation of *Picea abies* (L.) Karst. in a natural population and introduced plantation / I.V. Makogon, S.N. Privalikhin // Industrial botany. – 2003. – V. 3. – P. 108–112.

A comparative analysis of genetic variation in *Picea abies* from the introductional stand of the Donetsk Botanical Gardens Dendrium and a natural population of the Ukrainian Carpathians was performed. As genetic markers, isozymes of 9 enzyme systems were used. It showed, that the number of alleles and genotypes is almost equal in all the studied tree-stands, and the observed heterozygosity in the Norway spruce population ($H_o=0,188$) was 18% higher than in the plantation ($H_o=0,154$). An 8% excess of heterozygotes was indicated in the natural tree-stand, and the deficit of them was the same in plantation. Nei's genetic distance coefficient was 0.014. In the course of analysis of the allele and genotypic heterogeneity (by χ^2 -test) the valid differences were detected for 7 out of 14 polymorphic loci. Genetic similarity index (r) by allele diversity was 0.965, and by genotypic one – 0.932. The obtained results testify to the fact, that in the process of introduction of *P. abies* into the adverse natural and climatic conditions of the steppe zone no significant loss of the genetic potential of the natural population from the Ukrainian Carpathians is observed.