

На правах рукописи

БЕЛОКОНЬ ЮРИЙ СЕРГЕЕВИЧ

**ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ КЕДРОВОГО
СТЛАНИКА, *PINUS PUMILA* (PALL.) REGEL, В ВОСТОЧНОЙ ЧАСТИ
АРЕАЛА**

1.5.7. Генетика

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2024

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук (ИОГен РАН)

**Научный
руководитель:**

ПОЛИТОВ Дмитрий Владиславович
доктор биологических наук, заведующий лабораторией популяционной генетики им. академика Ю.П. Алтухова Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, г. Москва

**Официальные
оппоненты:**

ЯНБАЕВ Юлай Аглямович
доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры лесоводства и ландшафтного дизайна Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный аграрный университет», г. Уфа

СЕМЕРИКОВ Владимир Леонидович
доктор биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной экологии растений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт экологии растений и животных Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург

**Ведущая
организация:**

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь

Защита состоится «__» _____ 20__ г. в ____ часов на заседании диссертационного совета 24.1.088.01 (Д 002.214.01) в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук по адресу: 119991, Москва, ГСП-1, ул. Губкина, 3. Тел: (499) 135-62-13, факс: (499) 132-89-62, e-mail: dissovvet@vigg.ru. С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Института www.vigg.ru.

Автореферат разослан «__» _____ 2025 года.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор биологических наук

И.И. Горячева

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и степень разработанности проблемы. В современном мире глобальные климатические изменения и деятельность человека приводят к стремительному сокращению биоразнообразия и исчезновению не только отдельных видов, но и целых экосистем. От понимания необходимости сохранения отдельных видов живых организмов исследователи постепенно переходят к пониманию необходимости сохранения экосистем как целостной среды обитания связанных между собой видов. Одной из актуальных научных задач является исследование механизмов функционирования экосистем через изучение становления и поддержания генетической структуры видов-эдификаторов (Алтухов, 2003; Динамика популяционных генофондов..., 2004).

Кедровый стланик, *Pinus pumila* (Pallas) Regel (Pinaceae, Pinophyta, Gymnospermae), широко распространен от восточного побережья оз. Байкал до тихоокеанского побережья Азии, включая Сахалин, Курилы и Японию. В отличие от большинства других сосен рода *Pinus*, представляющих собой прямостоячие деревья, стланик обладает уникальной кустовидной, стелящейся или щетковидной формой. Его ветви способны полегать под снегом с наступлением морозов, что помогает снизить риск гибели особей от низких температур. Многие исследователи отмечают долговечность стланика (по некоторым оценкам до 1000 лет) и практически неограниченную способность к росту за счет укоренения полегающих ветвей и постепенного отмирания старых частей куста (Тихомиров, 1949, Гроссет, 1959, Моложников, 1975, Хоментовский, 1995). Высокая экологическая пластичность позволяет ему заселять разнообразные местообитания, часто обедненные и не приспособленные для роста других древесных растений, в том числе зону вечной мерзлоты. При этом стланик зачастую выступает как пионерный вид, способный одним из первых заселять вулканические почвы, пожарища и т.п. Стланик является видом-эдификатором, формирующим вокруг себя специфическую экосистему. Крупные, как и у других кедровых сосен, семена стланика богаты белками и жирами. Они представляют собой важный кормовой ресурс для птиц и млекопитающих. Как и большинство хвойных, кедровый стланик преимущественно перекрестно-опыляемый вид со смешанной системой скрещивания, включающей некоторую долю самоопыления, механизмы самостерильности у него не развиты. Семена стланика распространяются в основном птицами, что способствует перемешиванию генетического материала внутри популяции и формированию особой групповой (кластерной) структуры насаждения (Lanner 1990; 1996; Tomback *et al.*, 1990; 1994).

Хвойные растения являются объектами популяционно-генетических исследований с 70-х годов XX века. Для многих видов хорошо изучена генетическая структура популяций, установлены уровни генетической изменчивости, исследована межпопуляционная дифференциация. Также с помощью генетических маркеров установлены филогенетические связи видов и уточнена систематика в пределах родов и подродов семейства Сосновые. Как показал ряд сравнительных исследований, кедровый стланик обладает самыми высокими показателями генетического полиморфизма среди сосен и других хвойных (Крутовский и др., 1990, Гончаренко и др., 1991, 1992, Политов и др., 1992, Goncharenko *et al.*, 1992, 1993, Politov, Krutovskii, 1994, Krutovskii *et al.*, 1994, 1995, Tani *et al.*, 1996, 1998, Гончаренко, Силин, 1997, Белоконь, 2007, Политов, 2007). Имеющиеся в литературе данные по исследованию уровней генетической изменчивости стланика охватывают отдельные небольшие части ареала, расположенные в одной климатической зоне, либо небольшое число популяций из разных регионов. В этих исследованиях, как правило, приводятся показатели внутривидовой изменчивости отдельных популяций и уровни межпопуляционной дифференциации, но мало внимания

уделяется механизмам формирования генетической изменчивости за счет системы скрещивания, способа распространения семян и условий обитания.

Таким образом, исследование уровней генетического разнообразия, пространственной подразделённости на ареале и системы скрещивания, а также факторов их формирования актуально, поскольку будет способствовать познанию адаптивной генетической структуры популяций важнейшего вида-эдификатора широкораспространённых в северо-восточном секторе Палеарктики экосистем и сохранению биоразнообразия в условиях современных климатических и антропогенных вызовов.

Цель и задачи исследования. Цель данной работы – изучение генетической структуры и механизмов ее формирования в популяциях кедрового стланика из восточной части ареала.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Оценить по аллозимным локусам генетическое разнообразие популяций кедрового стланика в восточной части ареала.
2. Исследовать гибридизационные отношения между стлаником и сосной кедровой сибирской на юге Якутии.
3. Получить оценки межпопуляционной дифференциации стланика в пределах отдельных подрегионов (Камчатка, Сахалин, Кунашир, Амурская область).
4. Установить степень родства и родственных отношений между особями в популяции.
5. Изучить систему скрещивания в популяциях *P. pumila* Тихоокеанского региона.
6. Сравнить показатели генетической изменчивости на разных стадиях жизненного цикла и сопоставить их с параметрами системы скрещивания.
7. Исследовать распределение аллозимной изменчивости *P. pumila* на ареале и ее зависимость от биоклиматических параметров.

Научная новизна работы. В работе впервые получены данные о генетической изменчивости по универсальному набору аллозимных локусов в 29 популяциях кедрового стланика из восточной части ареала, установлены уровни генетического полиморфизма в этих популяциях и степень дифференциации между ними. Впервые в северо-восточной части зоны симпатрии *Pinus pumila* и сибирской кедровой сосны *P. sibirica* выявлена однонаправленная межвидовая гибридизация с образованием гибридов первого и последующих поколений, при этом митохондриальная ДНК у всех гибридов наследуется от *P. pumila*. Впервые проведен анализ родства особей в популяции кедрового стланика и исследованы паттерны кластерной структуры естественного насаждения. Впервые на материале из 11 популяций восточной части ареала изучена система скрещивания и динамика гетерозиготности на разных стадиях жизненного цикла *P. pumila*. Исследованы факторы, влияющие на поддержание высокого уровня полиморфизма в популяциях. С использованием аллозимных локусов в 32 популяциях из разных частей ареала кедрового стланика впервые проведен сравнительный анализ распределения частот аллелей на ареале и выявлены корреляции частот аллелей ряда локусов и показателей генетического разнообразия с географическими координатами и биоклиматическими переменными, отражающие паттерны расселения и экологическую дифференциацию в гетерогенных условиях среды.

Теоретическая и практическая значимость исследования. Данное исследование выполнено с применением классических для популяционной генетики маркеров – аллозимных локусов, которые частично селективно нагружены, и вследствие своей функциональности позволяют оценить взаимодействие организма со средой. Эти

маркеры дают возможность изучать формирование генетической изменчивости в популяциях под воздействием естественного отбора и выявлять факторы пространственно-временной динамики генетической изменчивости. Понимание механизмов реализации генетической изменчивости популяций стланика через аллозимные фенотипы может помочь в дальнейших геномных исследованиях отдельных приспособительных черт этого вида, таких как неограниченная способность к росту и высокая продолжительность жизни. Механизмы поддержания оптимального уровня генетического разнообразия и его распределения в пределах видовых ареалов являются общими для популяций древесных растений. Полученные результаты имеют не только теоретическое, но и практическое значение и могут быть использованы для целей оценки состояния генофондов древесных растений как основы разнообразных широко распространённых экосистем. Полученные результаты могут применяться в практике принятия решений по управлению особо охраняемыми природными территориями и другими важными в экологическом отношении биоценозами Восточной Сибири и Дальнего Востока. Результаты также могут быть использованы в практике высшего образования как примеры применения молекулярно-генетических подходов в популяционно-генетическом мониторинге и природоохранной деятельности при обучении студентов, магистрантов и аспирантов по специальностям «генетика», «экология» и «ботаника».

Методология и методы исследования. Исследование выполнено с помощью методов анализа полиморфизма изоферментов и мтДНК. Статистическая обработка полученных данных проведена с использованием соответствующего программного обеспечения: .BIOSYS-2, POPGENE, GenAIEx V.6.5, PHYLIP v3.695, STATISTICA, STRUCTURE v.2.3.4, NewHybrids 1.1_b3, Coancestry, ML-Relate, MLTR 3.4, MDStudio2 и среды статистических вычислений R 4.1.3.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. *Pinus pumila* Тихоокеанского региона обладает высокими уровнями внутривидового аллельного и генного разнообразия, сопоставимыми с оценками, полученными для вида ранее в Байкальском регионе и в целом в западной и центральной частях ареала. Поддержание высокого уровня аллозимного полиморфизма является адаптивной стратегией в условиях динамично изменяющихся условий среды на протяжении длинного жизненного цикла вида.
2. Высокая межпопуляционная дифференциация в восточной части ареала стланика – результат взаимодействия истории расселения, формирования популяций в контрастных условиях обитания и разнонаправленных внешних воздействий в настоящее время (вулканизм, пожары, деятельность человека и др.).
3. Естественные насаждения стланика состоят из отдельных неродственных особей и куртин, в которых особи родственны друг другу на уровне сибсов и полусибсов. Кластерная (клоново-семенная) структура насаждения влияет на общий уровень генетического разнообразия в популяции.
4. Система скрещивания *P. pumila* включает в себя как перекрестное, так и самоопыление. Отдельные популяции могут различаться по уровням самоопыления. На систему скрещивания влияет не только родственная структура популяции и сомкнутость зарослей, но и климатические факторы.
5. В большинстве популяций наблюдаемая гетерозиготность среди взрослых особей выше, чем среди зародышей семян, что свидетельствует об отборе против инбредного потомства и в пользу гетерозигот.

6. Распределение генетической изменчивости (полиморфизма и частоты аллелей) на ареале неравномерно и зависит прежде всего от истории расселения, а также древних и современных экологических факторов.

Личный вклад автора. Автор диссертации принимал непосредственное участие в формировании концепции диссертационной работы, формулировке цели и задач, а также в планировании и проведении экспериментов, обработке данных, статистическом анализе, интерпретации результатов и написании текста. Экспериментальные данные, представленные в диссертации, получены лично диссертантом или в соавторстве с сотрудниками, работавшими совместно с автором в процессе выполнения исследований. Основные положения и выводы диссертационной работы сформулированы автором.

Апробация работы. Материалы работы были представлены в виде устных докладов на следующих конференциях: IUFRO Working Party 2.02.15. The breeding and genetic resources of five-needle pines (16–23 сентября 2006 г., Вальюг, Румыния); IUFRO Working Party 2.02.15. The breeding and genetic resources of five-needle pines (22–26 сентября 2008 г., Янгянг, Корея); Российско-австрийском семинаре «Молекулярно-генетические маркеры, филогеография и популяционная генетика для устойчивого лесного хозяйства: Евроазиатская перспектива» (8-10 декабря 2008 г., Вена, Австрия), The 4th Conference on the breeding and genetic resources of five-needle pines (9-18 августа 2011 г., Томск, Россия); 3-е международное совещание «Сохранение лесных генетических ресурсов Сибири» (23–29 августа 2011 г., Красноярск, Россия); Международная научная конференция «Генетика популяций: прогресс и перспективы» (17–21 апреля 2017 г., Звенигородская биологическая станция им. С.Н. Скадовского Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова); Научной конференции с международным участием «Генетические процессы в популяциях» (11–14 ноября 2022 г., Москва, Россия); Всероссийской научной конференции с международным участием «Научные основы устойчивого управления лесами» (25–29 апреля 2022 г., Москва, Россия) и других.

Публикации. Результаты исследования представлены в 10 научных статьях, в том числе 5 статей в журналах, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus и рекомендованных ВАК для защиты диссертаций, а также в 20 тезисах и статьях в сборниках научных конференций.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 183 страницах и включает следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Список литературы», «Приложения». Работа содержит 20 таблиц в тексте и 4 в Приложениях, и 51 рисунок. Список литературы включает 216 литературных источников (из которых 145 на иностранном языке).

Благодарности. Автор выражает искреннюю признательность и благодарность научному руководителю Д.В. Политову за всестороннюю помощь и поддержку; С.Н. Горошкевичу, В.П. Ветровой, Е.С. Захарову, А.П. Ефимовой, Н.А. Еременко - за предоставленные образцы семян и вегетативных тканей использованных в данном исследовании образцов; М.М. Паленовой, Е.А. Мудрик, Т.А. Поляковой, Е.В. Игнатенко, С.Ю. Игнатенко, Г.А. Карпову, С.И. Лысикову – за помощь в сборе материала в экспедициях; М.М. Белоконь, Е.А. Петровой – за помощь при проведении лабораторных экспериментов. Автор благодарит Д.В. Политова, К.В. Крутовского, А.А. Поморцева, Е.А. Салменкову и М.М. Белоконь за ценные замечания и обсуждение в ходе подготовки рукописи.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В обзоре литературы описаны биологические особенности кедрового стланика, *Pinus pumila*, среда его обитания, способ размножения и распространение семян, особенности формирования естественных насаждений. Проанализирована литература по истории возникновения вида, формированию его ареала, гибридизации с другими видами кедровых сосен. Рассмотрены особенности применения различных классов молекулярно-генетических маркеров в популяционно-генетических исследованиях хвойных. Проанализированы работы по популяционной генетике стланика.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Растительный материал. В исследовании были использованы сборы семян и вегетативных тканей от взрослых деревьев кедрового стланика из 42 популяций. Названия, сокращенные обозначения, численности выборок и их географическое расположение приведены на Рисунке 1 и Таблицах 1 и 2.



Рисунок 1 – Ареал *Pinus pumila* и географическое расположение мест взятия выборок. Названия выборок приведены в соответствии с Таблицей 1.

Большинство выборок из восточной части ареала, а также выборка Мамай (Прибайкалье), представлены индивидуальными сборами семян от взрослых деревьев. Из каждой популяции собирали материал от не менее 16, а обычно от 20–30 особей. Остальные выборки представляли собой индивидуальные сборы вегетативных почек. Для изучения гибридизации в зоне перекрытия ареалов сосны кедровой сибирской и кедрового стланика использовали ткани вегетативных почек взрослых растений из 9 выборок, включавших представителей обоих видов и особей, морфологически определенных как гибриды (Таблица 2). Для анализа клоновой структуры популяции кедрового стланика вблизи п. Кюбюме Оймяконского р-на Республики Саха (Якутия) ($63^{\circ}24'$ с.ш., $140^{\circ}43'$ в.д.)

были собраны образцы вегетативных почек от 17 одноствольных растений и 12 разросшихся куртин с числом стволов от 2 до 5 (39 стволов).

Таблица 1 – Изученные выборки, их географическое положение и численность (*N*)

Название выборки	Код	Координаты	Географическое положение	<i>N</i> (дер.)	<i>N</i> (сем.)
Марково	МР	64°41' с.ш. 170°24' в.д.	Чукотский АО, Анадырский район, окрестности с. Марково	24	– *
Майн	МЙ	63°40' с.ш. 169°52' в.д.	Чукотский АО, северо-восток Пенжинского хребта, долина р. Майн	37	75
Пенжина	ПЕ	62°28' с.ш. 166°08' в.д.	Камчатский край. Корякский округ, правый берег р. Пенжины	22	131
Тиличики	К22	60°26' с.ш. 166°03' в.д.	Камчатский край, Олюторский р-н, окр. с. Тиличики	30	162
Белоголовая	К10	56°12' с.ш. 157°15' в.д.	Камчатский край, п-ов Камчатка, р. Белоголовая	23	174
Студеная	К9	55°52' с.ш. 160°00' в.д.	Камчатский край, р. Студеная, на юго-запад от Ключевской сопки	18	144
Эссо	ЭС	55°58' с.ш. 158°35' в.д.	Камчатский край, центральная часть п-ова Камчатка, окр. пос. Эссо	34	274
Уксичан	К1	55°46' с.ш. 158°34' в.д.	Камчатский край, центральная часть п-ова Камчатка, р. Уксичан	30	182
Быстрая-2	К2	55°45' с.ш. 158°39' в.д.	Камчатский край, центральная часть п-ова Камчатка, р. Быстрая (выб. 2)	30	180
Быстрая-3	К3	55°44' с.ш. 158°40' в.д.	Камчатский край, центральная часть п-ова Камчатка, р. Быстрая (выб. 3)	30	180
Узон	К5	54°27' с.ш. 160°02' в.д.	Камчатский край, вулк. Узон	30	197
Кабан	КБ	53°27' с.ш. 158°44' в.д.	Камчатский край, юг п-ова Камчатка, НПП «Налычево», г. Кабан	27	234
Авача	К4	53°18' с.ш. 158°45' в.д.	Камчатский край, ю.-в. склон Корякской сопки (Авача)	30	240
Вачкажец	ВЧ	53°05' с.ш. 157°53' в.д.	Камчатский край, юг п-ова Камчатка, подножие г. Вачкажец, вост. склон	42	331
Курильское оз.	К27	51°31' с.ш. 157°07' в.д.	Камчатский край, юг п-ова Камчатка, сев. берег оз. Курильское	30	176
Парамушир	ПАР	50°42' с.ш. 156°07' в.д.	Сахалинская обл., о. Парамушир, окр. г. Северо-Курильска	30	180
Вершина	ВЕК	43°58' с.ш. 145°44' в.д.	Сахалинская обл. о. Кунашир, юж. часть. Верш. вулк. Менделеева	23	138
Гейзеры	ГЗК	44°00' с.ш. 145°44' в.д.	Сахалинская обл. о. Кунашир, юж. часть. Фумарольные поля на сев. склоне вулк. Менделеева	23	138
Болото	БОК	43°54' с.ш. 145°38' в.д.	Сахалинская обл. о. Кунашир, юж. часть. Серноводский перешеек: между оз. Песчаным и тихоокеанским побережьем	16	93
Кипящее	КПК	43°51' с.ш. 145°28' в.д.	Сахалинская обл. о. Кунашир, юж. часть. Оз. Кипящее в кальдере вулк. Головнина. 130-135 м над ур. м.	22	132
Бамбучник	ББК	43°50' с.ш. 145°30' в.д.	Сахалинская обл., о. Кунашир, юж. часть. Заросли курильского бамбучка (<i>Sasa kurilensis</i>) в кальдере вулк. Головнина	27	162
Кунашир	КУН	43°53' с.ш. 145°30' в.д.	Сахалинская обл. о. Кунашир, юж. часть. Внешний и внутренний склоны кальдеры вулк. Головнина.	40	320
Кварциты	КВС	46°50' с.ш. 143°00' в.д.	Сахалинская обл., юг о. Сахалин, южная часть Сусунайского хребта, гора Медика	27	171

Название выборки	Код	Координаты	Географическое положение	N (дер.)	N (сем.)
Охотское	ОХС	46°40' с.ш. 143°25' в.д.	Сахалинская обл., юг о. Сахалин, окрестности с. Охотское. Перешеек между Охотским морем и оз. Тунайча	21	127
Облачная	ОБЛ	43°41' с.ш. 134°11' в.д.	Приморский край, Чугуевский р-н, гора Облачная (хр. Сихотэ-Алинь, южная часть)	36	–
Снежная	СНЖ	43°43' с.ш. 134°25' в.д.	Приморский край, гора Снежная, НП «Зов тигра», окрестности с. Ясное, Архиповка (хр. Сихотэ-Алинь, южная часть)	47	–
Амурская обл.-1	АМ1	54°54' с.ш. 124°33' в.д.	Амурская обл. южный отрог западной части хр. Тукурингра (Тындинский р-н)	34	–
Зейский заповедник-1	ЗЕ1	54°02' с.ш. 127°02' в.д.	Амурская обл. южный склон восточной части хр. Тукурингра (Зейский заповедник)	31	–
Зейский заповедник-2	ЗЕ2	53°56' с.ш. 127°14' в.д.	Амурская обл. южный склон восточной части хр. Тукурингра (Зейский заповедник)	29	–
Зейский заповедник-3	ЗЕ3	54°03' с.ш. 127°14' в.д.	Амурская обл. северный склон восточной части хр. Тукурингра (Зейский заповедник)	31	–
Амурская обл.-5	АМ5	53°03' с.ш. 132°08' в.д.	Амурская обл., центральная часть хр. Джагды (Селемджинский р-н), перевал Лукачек	29	–
Батагай	БГЯ	67°50' с.ш. 135°02' в.д.	Республика Саха (Якутия), Верхоянский р-н, Батагайская термокарстовая котловина	69	–
Жиганск	ЖИЯ	66°46' с.ш. 123°22' в.д.	Республика Саха (Якутия), Жиганский р-н, окр. с. Жиганск	36	–
Балагаччы	БВЯ	64°13' с.ш. 122°22' в.д.	Республика Саха (Якутия), Вилюйский р-н, окр. с. Балагаччы	50	–
Сегян-Кюёль	СКЯ	64°00' с.ш. 130°18' в.д.	Республика Саха (Якутия), Кобяйский р-н, окр. п. Сегян-Кюёль, Верхоянский хр.	33	–
Томпо	ТПЯ	62°56' с.ш. 137°12' в.д.	Республика Саха (Якутия), Томпонский р-н, ручей Томпорок	37	–
Оймякон	ОЙЯ	63°18' с.ш. 142°24' в.д.	Республика Саха (Якутия), Оймяконский р-н, окр. с. Ючюгэй	22	–
Алдан	АЛЯ	58°27' с.ш. 125°25' в.д.	Республика Саха (Якутия), Алданский р-н, окр. г. Алдан, гора Белая	41	–
Большое Токо	БТЯ	56°16' с.ш. 130°32' в.д.	Республика Саха (Якутия), Нерюнгринский р-н, оз. Большое Токо	34	–
Баунт	БОЗ	55°14' с.ш. 113°00' в.д.	Республика Бурятия, Баунтовский район, окр. оз. Баунт, гора Б. Хаптон	28	–
Сохондо	СХЗ	49°41' с.ш. 111°05' в.д.	Забайкальский край, Сохондинский заповедник, гора Сохондо	34	68
Мамай	ММЗ	51°23' с.ш. 104°48' в.д.	Иркутская обл., Кабанский р-н, хр. Хамар-Дабан, гора Мамай	22	132

Примечание: * – для выборок, где число семян не указано, использовались диплоидные вегетативные ткани от индивидуальных деревьев.

Таблица 2 – Расположение, фенотипическая видовая идентификация и численности изученных выборок кедровых сосен из зоны гибридизации в южной Якутии

Название выборки	Координаты	Географическое положение	Численность и видовая идентификация
Ленск	60°43' с.ш. 114°54' в.д.	Ленский р-н, окр. г. Ленск	26 особей <i>P. sibirica</i> без признаков гибридности
Олёкминск	60°23' с.ш. 120°26' в.д.	Олёкминский р-н, окр.г. Олёкминск	20 особей <i>P. sibirica</i> без признаков гибридности
Алдан	58°20' с.ш. 125°17' в.д.	Алданский р-н, 5 км от г. Алдан, окрестности п. Ленинский	56 особей <i>P. sibirica</i> без признаков гибридности 15 особей, определенных как гибриды 25 особей <i>P. pumila</i> без признаков гибридности
Алдан 2	58°34' с.ш. 125°28' в.д.	Алданский р-н, окр. п. Ленинский, вдоль дороги на Якут	41 особь <i>P. sibirica</i> , у одного дерева отмечены признаки гибридности
Алдан 3*	58°27' с.ш. 125°25' в.д.	Алданский р-н, окр. г. Алдан, Белая гора	41 особь <i>P. pumila</i> без признаков гибридности
Томмот	58°58' с.ш. 126°16' в.д.	Алданский р-н, окрестности п. Томмот	45 особей <i>P. sibirica</i> , признаки гибридности отмечены у двух деревьев 20 особей <i>P. pumila</i> без признаков гибридности
Каталах	58°15' с.ш. 126°18' в.д.	Алданский р-н, южнее п. Томмот	30 особей <i>P. pumila</i> , признаки гибридности отмечены у одного дерева
Большое Токо*	56°16' с.ш. 130°32' в.д.	Нерюнгринский р-н, окр. озера Большое Токо (Токко)	34 особи <i>P. pumila</i> без признаков гибридности
Сегян-Кюёль*	64°00' с.ш. 130°18' в.д.	Кобяйский р-н, окр. п. Сегян-Кюёль	33 особи <i>Pinus pumila</i> без признаков гибридности

Примечание: * – данные выборки использованы в других частях работы и обозначены в таблице 1: Алдан 3 – АЛЯ; Большое Токо – БТЯ; Сегян-Кюёль – СКЯ.

2.2 Электрофоретическое разделение изоферментов. Хранение материала, подготовка образцов и условия электрофоретического разделения изоферментов в крахмальном геле подробно описаны в работе Политова и соавторов (2006). Изоферменты каждого образца разделяли в трех буферных системах одновременно. Гистохимическое окрашивание срезов, выявляющее определенные ферменты проводили по стандартным методикам (Серов и др., 1977; Conkle *et al.*, 1982; Cheliak, Pitel, 1984; Гончаренко и др., 1989; Manchenko, 1994) с некоторыми модификациями. Изученные ферментные системы, их обозначения и номера по Классификации ферментов (Enzyme Nomenclature, 2024), число наблюдаемых и интерпретируемых независимых зон активности и буферные системы, применявшиеся для их электрофоретического разделения, приведены в Таблице 3.

Генный контроль аллозимных локусов не отличался от описанного ранее для группы кедровых сосен (Крутовский и др., 1987; Гончаренко и др., 1989; Политов, 1989, 2007; Подогаз, 1993; Белоконь и др., 2005; Белоконь, 2007). Обнаруживаемые при окраске на соответствующие ферменты зоны активности рассматривались как контролируемые отдельными генными локусами в случае независимой сегрегации аллозимных вариантов. Выявленные зоны активности, как и кодирующие их локусы нумеровали в соответствии с убыванием их электрофоретической подвижности. Наиболее частому аллелю

присваивали обозначение 100, а остальные обозначали в соответствии с относительной электрофоретической подвижностью контролируемых ими аллозимов.

Таблица 3 – Ферментные системы, число кодирующих локусов и буферные системы, использованные для электрофоретического разделения

Фермент	Аббре-виатура	Номер по К.Ф.	Число локусов ¹	Буферная система ²
Алкогольдегидрогеназа	ADH	1.1.1.1	2	В
Формиатдегидрогеназа	FDH	1.17.1.9	1	В
Флюоресцентная эстераза (метилумбеллиферилацетатдеацетилаза)	FE	3.1.1.56	3 (-2) ¹	В
Глутаматдегидрогеназа	GDH	1.4.1.2	1	В, С
Глутаматоксалоацетаттрансаминаза (аспартатаминотрансфераза)	GOT	2.6.1.1	3	С, В
Изоцитратдегидрогеназа	IDH	1.1.1.42	1	А
Менадионредуктаза	MNR	1.6.5.2	3 (-1) ¹	А
Лейцинаминопептидаза	LAP	3.4.11.1	3	С, В
Малатдегидрогеназа	MDH	1.1.1.37	4	А
Менадионредуктаза	MNR	1.6.5.2	3 (-1) ¹	А
6-фосфоглюконатдегидрогеназа	6PGD	1.1.1.44	3	А
Фосфоглюкоизомераза (глюкозо-6-фосфатизомераза)	PGI	5.3.1.9	2	В
Фосфоглюкомутаза	PGM	5.4.2.2	2	В, А
Фосфоенолпируваткарбоксилаза	PEPCK	4.1.1.31	1	А
Сорбитолдегидрогеназа (идитолдегидрогеназа)	SDH	1.1.1.14	1	С
Шикиматдегидрогеназа	SKDH	1.1.1.25	2	А
Супероксиддисмутаза	SOD	1.15.1.1	4 (-2, -3, -4) ¹	В

Примечания: ¹ Для ферментов, у которых не для всех зон была возможна генетическая интерпретация, в скобках курсивом даны номера зон (в порядке от анода к катоду) и соответствующих локусов, взятых в дальнейший анализ (напр., для MNR «-1» соответствует локусу *Mnr-1*). ² См. Политов и др., 2006.

2.3 Выделение ДНК и анализ фрагмента *nad1 intron2* мтДНК. Тотальную ДНК выделяли из гомогенатов вегетативных почек, использованных для электрофоретического исследования аллозимов, с применением СТАВ (Doyle, Doyle, 1990). В качестве видоспецифичного митохондриального маркера использовали второй интрон локуса NADH-дегидрогеназы-1 (*nad1 intron2*), для которого длины ампликонов у стланика (2181 пн) и сосны кедровой сибирской (2530 пн) значительно различаются (Gugerli *et al.*, 2001). Фрагмент *nad1 intron2* амплифицировали с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) со специфическими праймерами (Demasure *et al.*, 1995). Фрагменты разделяли путём электрофореза в 1.5% агарозном геле в буфере TAE (Sambrook *et al.*, 1989).

2.4 Методы статистического анализа На основании многолокусных генотипов деревьев с помощью компьютерных программ BIOSYS-2 (Swofford, Selander, 1981), POPGENE (Yeh *et al.*, 1998) и GenAlEx V.6.5 (Peakall, Smouse, 2006, 2012) рассчитывали частоты аллелей и стандартные показатели генетической изменчивости, *F*-статистики (Wright, 1978), стандартные генетические дистанции Нея D_N (Nei, 1972). Кластеризацию по методу невзвешенных парногрупповых средних (UPGMA) и по методу ближайшего связывания (Neighbor Joining или NJ-метод) с оценкой бутстрэп-поддержки узлов ветвления проводили в модулях Seqboot, Gendist, Neighbor и Consense пакета программ PHYLIP v3.695 (Felsenstein, 1989). Дифференциацию выборок оценивали при помощи факторного анализ частот аллелей и многомерного шкалирования (MDS) генетических дистанций в программе STATISTICA (StatSoft, 1998). Популяционную структуру

выборки оценивали по алгоритму байесовской кластеризации в программе STRUCTURE v.2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2000), используя модель наследования Admixture и коррелированные частоты аллелей (correlated allele frequency) (Falush *et al.*, 2003). Оценку оптимального числа K по методу Эванно (Evanno *et al.*, 2005) и визуализацию результатов осуществляли при помощи веб-сервиса CLUMPAK (Kopelman *et al.*, 2015).

Отнесение особей из зоны гибридизации к гибридным классам проводили в программе NewHybrids 1.1_b3 (Anderson, Thompson, 2002) на основании генотипов 22 аллозимных локусов.

Для анализа родственных отношений в программе Coancestry (Wang, 2011) по методу Wang (Wang, 2002) для всех деревьев модельной выборки рассчитывали значения попарных коэффициента родства (W_{Est}). В программе ML-Relate (Kalinowski *et al.*, 2006) с помощью методов максимального правдоподобия оценены родственные отношения (R) и определена степень родства в каждой паре особей из куртин.

На основании генотипов зародышей от свободного опыления и материнских деревьев определяли соответствие наблюдаемого распределения генотипов теоретически ожидаемому из равновесия Харди–Вайнберга (χ^2 -тест), рассчитывали ожидаемую (H_E) и наблюдаемую (H_O) гетерозиготности, индекс фиксации Райта (Wright, 1965), ($F_{IS}=[H_E-H_O]/H_E$). Параметры системы скрещивания (средние однолокусные (t_s) и многолокусные (t_m) оценки доли ауткроссинга) оценивали в программе MLTR 3.4 (Ritland, Jain, 1981; Ritland, 1983, 2002).

На основании данных о географических координатах 32 опорных точек (выборок) с помощью пакетов *raster* (Hijmans, 2023) и *geodata* (Hijmans *et al.*, 2024) среды статистических вычислений R 4.1.3 (R Core Team, 2022) из базы климатических данных WorldClim (Fick, Hijmans, 2017) были получены значения 19 биоклиматических переменных, уровней осадков и инсоляции по месяцам (для периода 1970–2000 гг.) с пространственным разрешением 2.5 минуты, и проведен их корреляционный анализ со значениями частот аллелей и параметров изменчивости выборок. Построение геногеографических карт выполняли в программе MDStudio2 (Евсюков и др., 1997; Генофонд и геногеография народонаселения, 2003).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Генетическая изменчивость кедрового стланика по аллозимным локусам. На основании индивидуальных генотипов взрослых особей по 29 локусам были рассчитаны частоты аллелей в 42 выборках. Выявленная в данном исследовании изменчивость (аллельный состав, частоты и степень полиморфизма локусов) не противоречит опубликованным ранее результатам (Гончаренко и др., 1992; Goncharenko *et al.*, 1993; Гончаренко, Силян, 1997; Tani *et al.*, 1996; Tani *et al.*, 1998; Малюченко, Алтухов, 2001; Малюченко и др., 1998; Политов 2007; Наконечная и др., 2010). Некоторые редкие аллели были обнаружены впервые.

В выборках с о. Кунашир не было выявлено аллелей, характерных для сосны мелкоцветковой, *P. parviflora*. Таким образом, можно заключить, что в южной части о. Кунашир *P. parviflora* не встречается, и гибридных особей также не найдено, что не согласуется с результатами ботанического исследования (Орлова, 2000; Урусов, Чипизубова, 2000).

3.2 Анализ гибридизации кедрового стланика и сосны кедровой сибирской на юге Якутии. На основании многолокусных генотипов по 22 аллозимным локусам установлена принадлежность особей из 9 выборок (Таблица 2) к чистым видам и гибридным классам (Рисунок 2). Максимальный вес для различения двух видов и определения гибридности имеет локус *Skdh-2*, по которому у *P. sibirica* и *P. pumila*

фиксированы разные аллели. Локусы *Adh-1*, *Fe-2*, *Gdh*, *Got-2*, *Got-3*, *Lap-3*, *Mdh-2*, *Mnr-1*, *Pgm-1*, *Pgm-2*, *Perca*, *Skdh-1*, *Sod-1* и *Sod-2* также имеют высокий диагностический вес за счёт различий в частотах преобладающих аллелей и наличия видоспецифичных аллелей. Все особи в выборках Ленск, Олекминск, Алдан 2 определены как *P. sibirica*, а в выборках Алдан 3, Каталах, Большое Токо и Сегян-Кюёль – как *P. pumila*, что соответствует морфологическому диагнозу. Гибридные по морфологическим признакам растения были обнаружены только в двух локальностях с совместным произрастанием *P. sibirica* и *P. pumila* – Алдан и Томмот. В генотипах некоторых из них не было обнаружено следов гибридизации, и они были отнесены к кедровому стланику. Среди деревьев сибирской кедровой сосны шесть оказались гибридами, причём три из них могут быть отнесены к F1. В генотипах растений *P. pumila* следов гибридизации практически не обнаружено, за исключением одного отдаленного гибрида из выборки Алдан_Р (Рисунок 2).

Анализ фрагментов *nad1 intron2* мтДНК показал, что в местах совместного произрастания мтДНК у всех изученных особей соответствует *P. pumila*. В выборке Олёкминск, состоящей из *P. sibirica* и находящейся на значительном отдалении от мест нахождения стланика, фрагмент *nad1 intron2* у 19 из 20 деревьев имел длину соответствующую *P. pumila* и только у одного – соответствующую *P. sibirica*. У всех деревьев из выборки Ленск фрагмент *nad1 intron2* мтДНК соответствовал *P. sibirica*. По всей северной границе зоны перекрывания ареалов от Олёкминска до Томмота, среди деревьев, относимых по морфологии к сибирской кедровой сосне, наблюдается почти полная замена мтДНК кедровой сосны на мтДНК стланика (Рисунок 3), а аллозимные генотипы в большинстве выборок соответствуют типичным для *P. sibirica*.

Структура гибридных популяций из северо-восточной части зоны перекрывания ареалов значительно отличается от популяций из ее западной части. Присутствие типичной для стланика мтДНК в геноме сосны кедровой сибирской указывает на более древнюю гибридизацию, вероятно способствующую продвижению *P. sibirica* в восточном направлении.

3.3 Генетическое разнообразие популяций *P. pumila* восточной части ареала. Показатели внутривидового генетического разнообразия были оценены по 23 изоферментным локусам на основании индивидуальных генотипов 864 взрослых деревьев из 29 выборок (Рисунок 4).

Среднее число аллелей на локус находилось в пределах от 1.52 до 2.39, в большинстве выборок незначительно отклоняясь от 2.0. Максимальное число аллелей на локус (2.39) отмечено в выборке из Сихотэ-Алиня (СНЖ). В целом для восточной части ареала кедрового стланика характерно довольно высокое аллельное разнообразие ($N_A = 3.91$) и высокая изменчивость (91.3% локусов). Приведенные показатели по регионам указывают на средний уровень изменчивости в каждом из них. Минимальное значение среднего числа аллелей на локус (1.52) отмечено в выборке о. Парамушир. В этой же выборке также оказались значительно сниженными доля полиморфных локусов (47.8) и значение средней ожидаемой гетерозиготности (0.146), однако наблюдаемая гетерозиготность оказалась значительно выше ожидаемой (0.190), что может косвенно свидетельствовать о действии балансирующего отбора (отбора в пользу гетерозигот). Снижение генетического разнообразия в выборке о. Парамушир и значительные отклонения в частотах аллелей, по-видимому, связаны с генетическим дрейфом, вызванным значительным падением численности и дальнейшим вегетативным размножением в условиях изоляции.

Значения средней ожидаемой гетерозиготности как меры генетического разнообразия показывают, что во всех изученных популяциях поддерживается довольно высокий уровень полиморфизма (0.146–0.262).

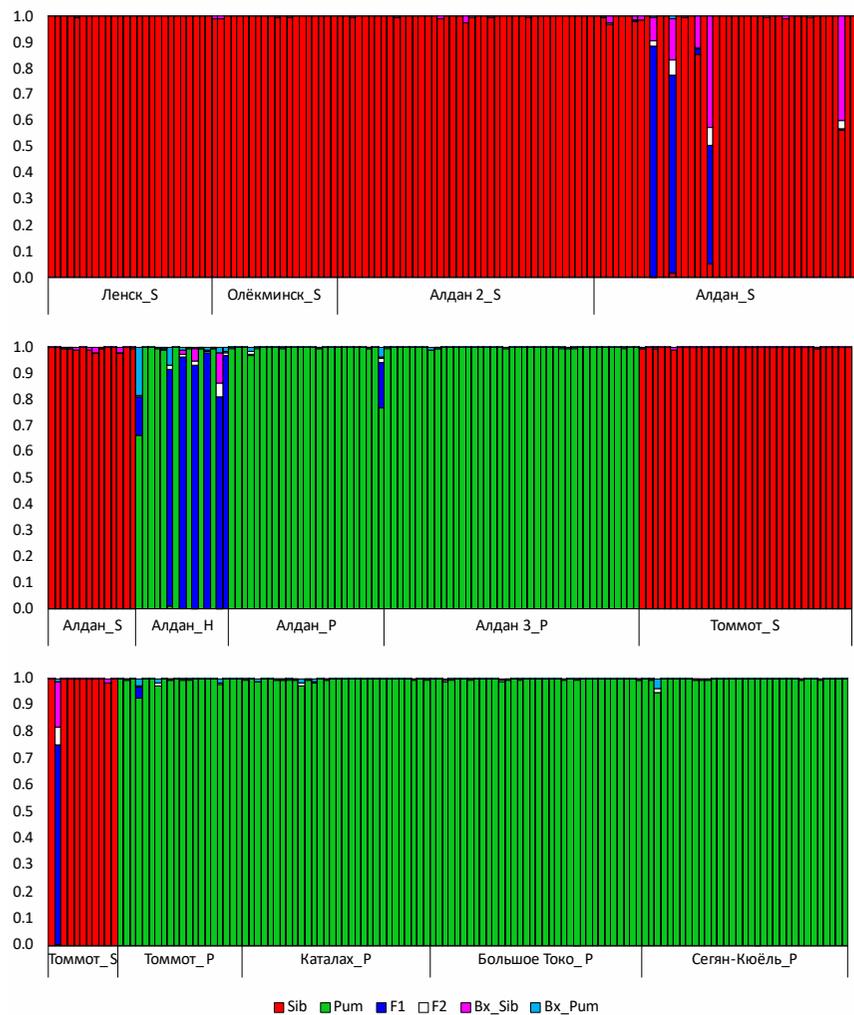


Рисунок 2 – Вероятности отнесения особей к гибридным классам (NewHybrids): Sib – *P. sibirica*, Pum – *P. pumila*, F1 и F2 – гибриды первого и второго поколений, Bx_Sib – бэкросс на *P. sibirica*, Bx_Pum – бэкросс на *P. pumila*.

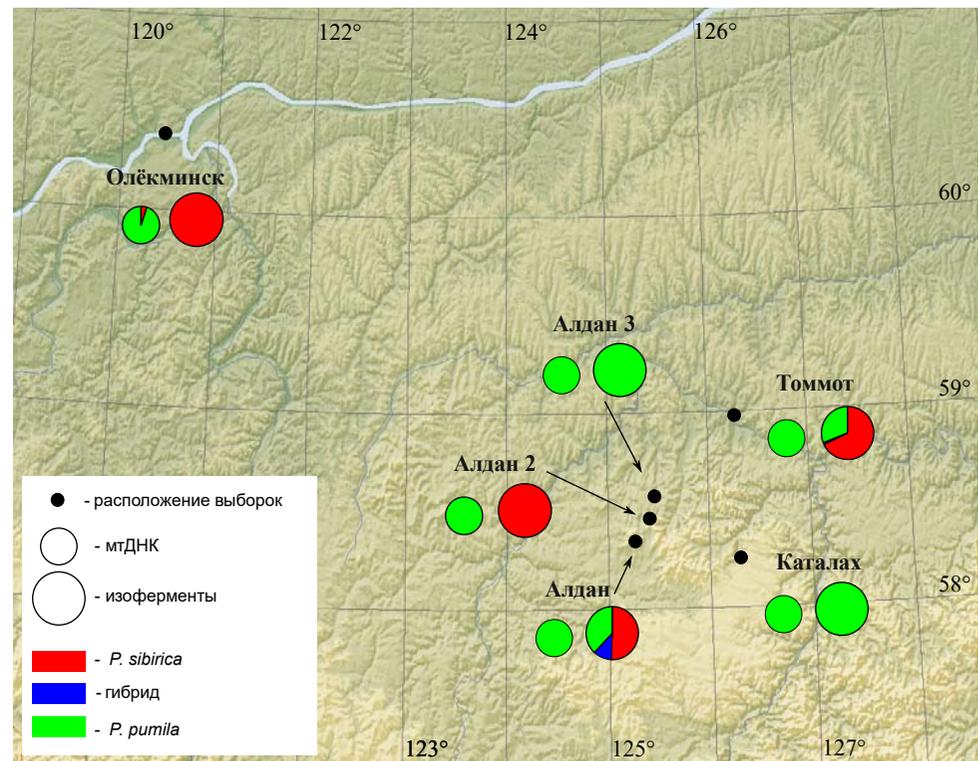


Рисунок 3 – Состав выборок из зоны гибридизации по результатам анализа гаплотипов мтДНК и изоферментных генотипов.

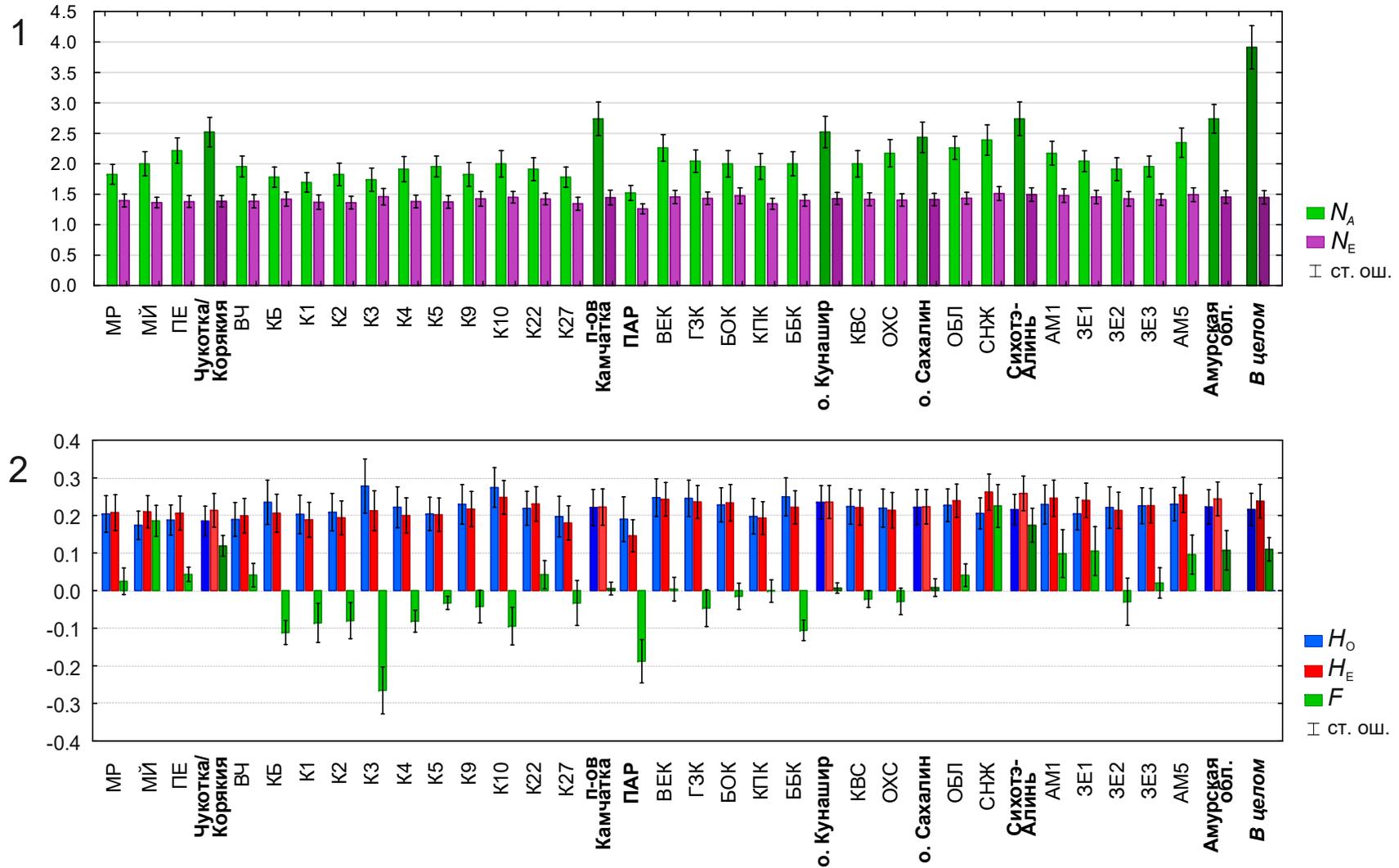


Рисунок 4 – Показатели внутрипопуляционного генетического разнообразия в выборках кедрового стланика из восточной части ареала. Средние значения и стандартные ошибки среднего числа аллелей (N_A) и среднего эффективного числа аллелей (N_E) на локус (1), наблюдаемой (H_O) и ожидаемой (H_E) гетерозиготности, и индекса фиксации (F) (2).

Максимальные значения ожидаемой гетерозиготности наблюдаются в выборках Сихотэ-Алиня (0.259) и Амурской области (0.244). Самая низкая ожидаемая гетерозиготность, за исключением Парамушира, отмечена в популяциях из Чукотки и Корякии (0.214). Во всех выборках наблюдается близкое к равновесному распределение генотипов, незначительный дефицит гетерозигот отмечен среди особей из популяций Чукотки, Корякии и Амурской области. Значения коэффициента инбридинга находятся в пределах от -0.265 (К3) до 0.225 (СНЖ), при среднем значении -0.004 . Полученные результаты хорошо согласуются с литературными данными по аллозимной изменчивости в популяциях кедрового стланика.

3.4 Генетическая дифференциация популяций восточной части ареала.

Тест χ^2 на гетерогенность аллельных частот показал, что высокодостоверные отличия между выборками наблюдаются по всем полиморфным локусам ($p \leq 0.001$), за исключением *Adh-1* ($p=0.022$). Значения *F*-статистик Райта показывают, что почти 9% изменчивости относятся к межгрупповой ($F_{ST}=0.089$). Максимальный вклад в межгрупповую дифференциацию вносят локусы *Mdh-1*, *6Pgd-3*, *Perca*.

На дендрограмме сходства выборок *Pinus pumila* из восточной части ареала построенной по методу Neighbor-Joining на основании генетических расстояний Нея (D_N) (Рисунок 5) бутстрэп-поддержка узлов ветвления в большинстве случаев оказалась низкой. Надежно поддерживается кластеризация только для двух пар выборок, К1 и К2 из Центральной Камчатки, и ЗЕ1 и ЗЕ2 из Амурской области. Тест Мантела не выявил корреляции матриц генетических и географических расстояний между выборками ($R_{xy}=0.102$; $p=0.09$), что обусловлено значительными отличиями внутри регионов.

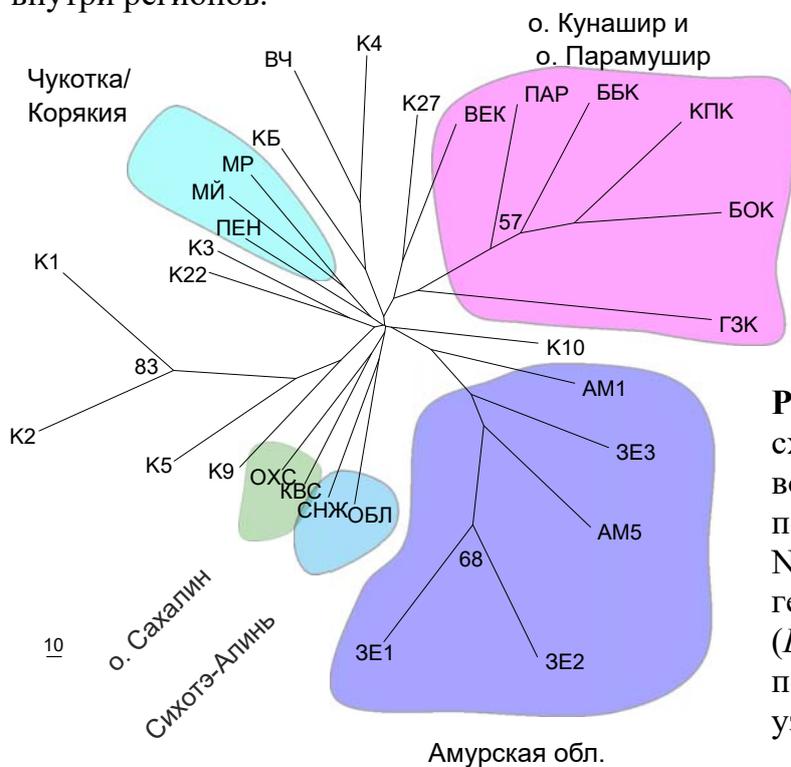


Рисунок 5 – Дендрограмма сходства выборок *Pinus pumila* восточной части ареала, построенная по методу Neighbor-Joining на основании генетических расстояний Нея (D_N). Значения бутстрэп-поддержки приведены рядом с узлами ветвления.

Анализ матрицы генетических расстояний между всеми 29 выборками выявил значительную дифференциацию внутри географических групп популяций. Максимальные генетические дистанции между выборкой с о. Парамушир и другими от 0.054 до 0.110 обусловлены значительными отличиями в частотах аллелей,

вызванными генетическим дрейфом. Генетическая дифференциация между географическими группами популяций оказалась ниже внутригрупповой (Таблица 4). Анализ индивидуальных генотипов методом байесовской кластеризации в программе STRUCTURE при значении K от 2 до 8 выявил значительные различия как между регионами, так и между популяциями в пределах отдельных регионов (Рисунок. 6). Определенное по методу Эванно оптимальное значение $K=4$.

Таблица 4 – Генетические расстояния D_N (под диагональю) и попарные значения F_{ST} (над диагональю) для географических групп выборок. Выделены значения F_{ST} для выборок в пределах групп (по диагонали).

Группа	Чукотка/ Корякия	Камчатка	Парамушир	Кунашир	Сахалин	Сихотэ- Алинь	Амурская обл.
Чукотка/ Корякия	0.017	0.012	0.087	0.020	0.020	0.023	0.018
Камчатка	0.008	0.063	0.082	0.020	0.016	0.018	0.014
Парамушир	0.056	0.066	0.000	0.070	0.100	0.082	0.122
Кунашир	0.014	0.013	0.049	0.043	0.021	0.020	0.032
Сахалин	0.016	0.013	0.083	0.016	0.028	0.015	0.020
Сихотэ-Алинь	0.017	0.013	0.062	0.016	0.011	0.022	0.022
Амурская обл.	0.015	0.010	0.100	0.027	0.013	0.019	0.039

Факторный анализ распределения частот аллелей в изученных выборках позволил выявить корреляции между генетической изменчивостью и географическим положением выборок. На Рисунке 7 по первому фактору хорошо выделяются группировки Кунашир, Сахалин, Сихотэ-Алинь, Камчатка, Амурская обл. Центральное положение занимают чукотские выборки. По оси второго фактора выборки можно условно разделить на две группы: южные – Амурская обл., Сихотэ-Алинь, Сахалин и Кунашир, и северные – Парамушир, Камчатка, Чукотка/Корякия. Выявлена значимая корреляция фактора 1 с географической широтой ($r=0,653$, $p=0.0001$) Фактор 2 коррелирует с географической долготой ($r=0.782$, $p=0.0000$) и широтой ($r=0.408$, $p=0.0278$).

3.5 Оценка родства и анализ клоновой структуры. Распределение значений коэффициента родства Ванга (WEst) показало в пределах большинства куртин наличие большего числа родственных генотипов, чем в выборке одноствольных форм (Рисунок 8). Для объединенной группы многоствольных форм (М) ($N=39$) медианное значение коэффициента родства находится на среднепопуляционном уровне и не отличается от значения для одноствольных форм (О) ($N=17$). Особи в восьми из двенадцати многоствольных групп не были клоновыми ракетами. При этом коэффициенты родства при попарных сравнениях генотипов в этих группах в большинстве случаев выше, чем в выборке одноствольных особей. Это подтверждает гипотезу о происхождении части многоствольных форм из семян, собранных кедровкой с одного дерева и помещенных в тайник.

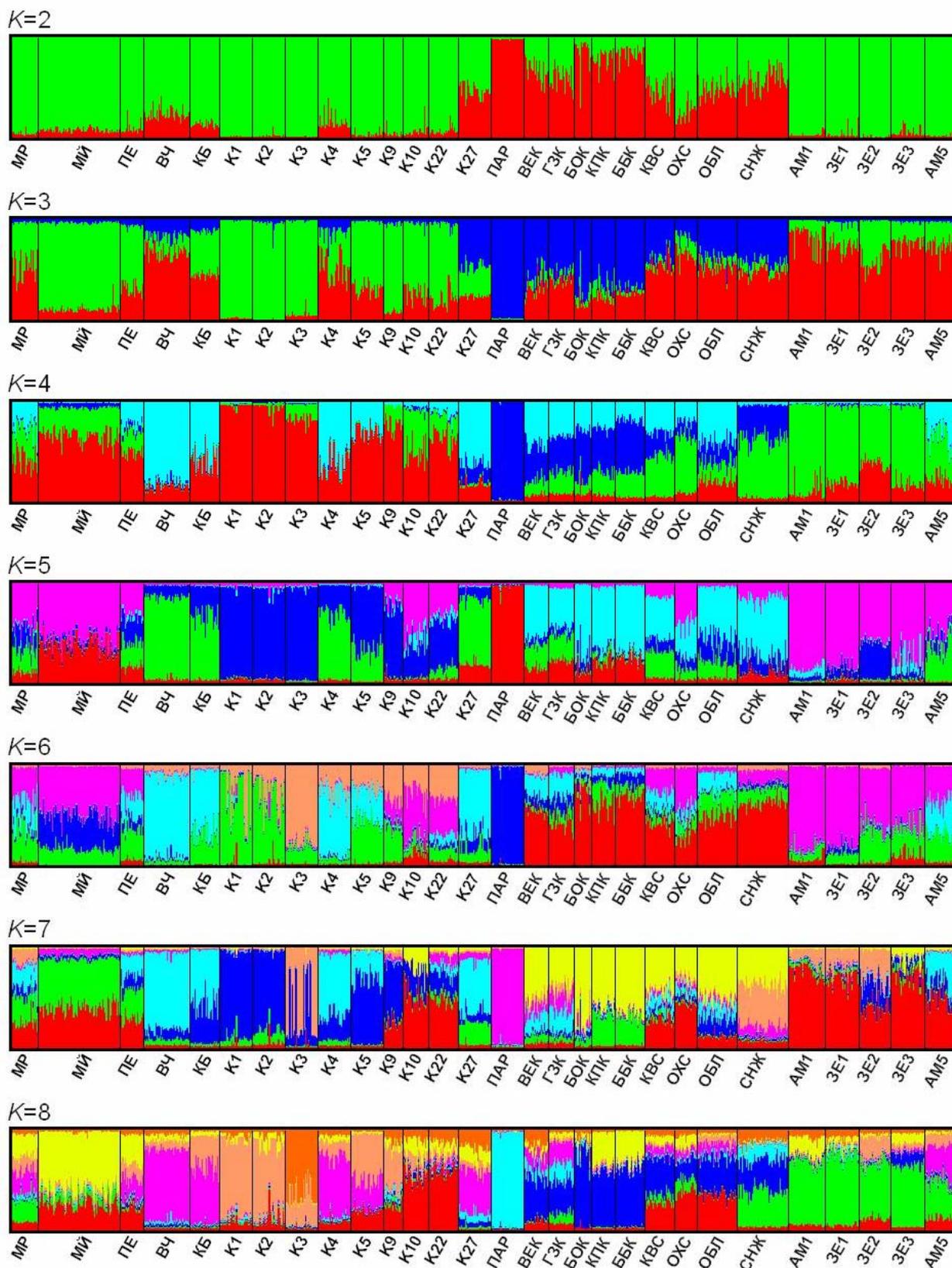


Рисунок 6 – Результаты анализа популяционной структуры *P. putilla* в программе STRUCTURE.

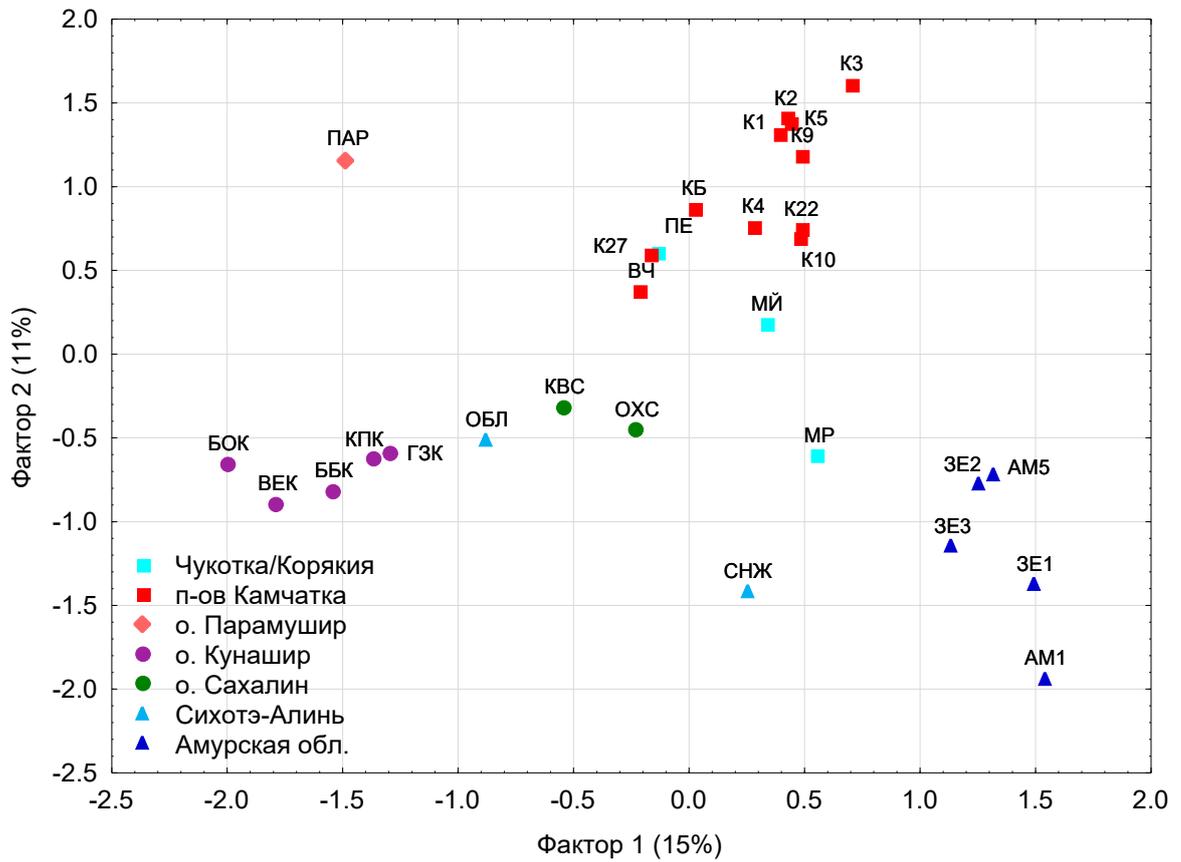


Рисунок 7 – Ординация 29 выборок кедрового стланика из восточной части ареала по результатам факторного анализа частот аллелей.

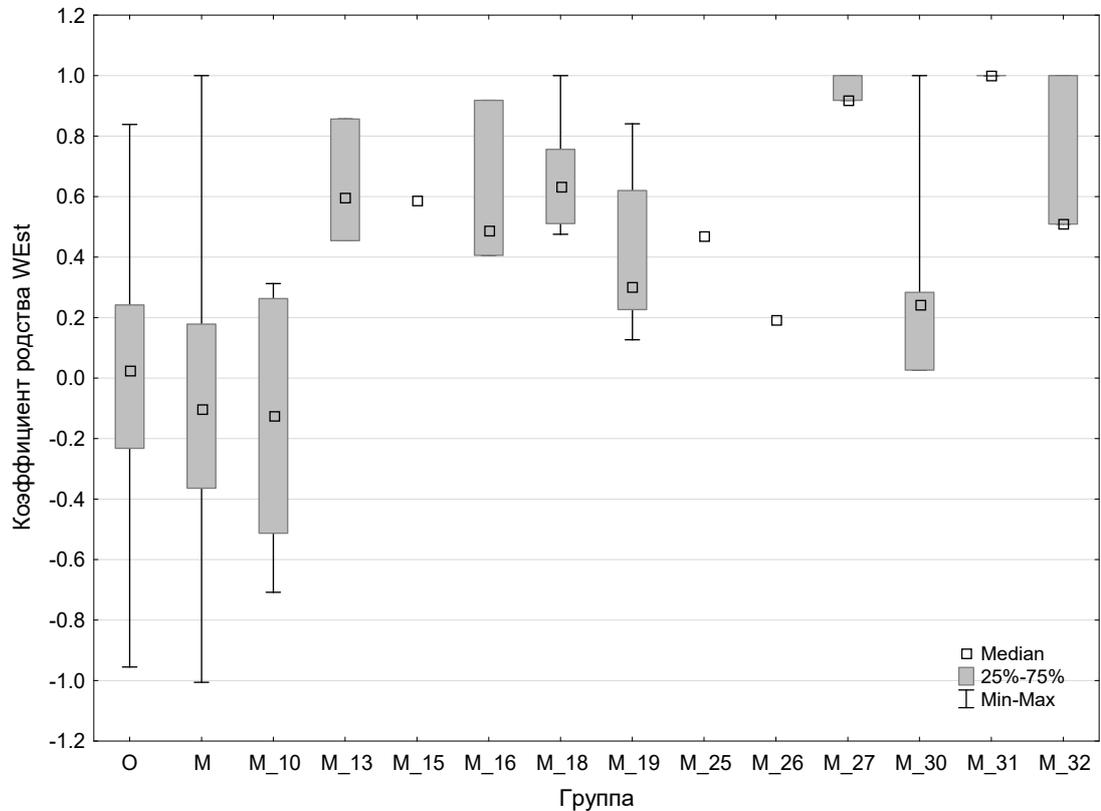


Рисунок 8 – Распределение значений попарных коэффициентов родства WEst (медианы) для групп растений: O – одноствольные, M – многоствольные (объединенные), M_№ – номер куртины.

3.6 Система скрещивания и аллозимная гетерозиготность на разных стадиях жизненного цикла. Материалом для данной части исследования послужили индивидуальные сборы семян кедрового стланика из 11 выборок. Для генетического анализа использовали ткани гаплоидных мегагаметофитов (эндоспермов) и диплоидных зародышей семян. От каждого дерева анализировали по 6–12 семян. Гаплотипы эндоспермов и генотипы зародышей определяли по 27 и 23 изоферментным локусам соответственно. Для анализа параметров системы скрещивания использовали 15 высокополиморфных локусов: *Fest-2*, *Gdh*, *Got-2*, *Got-3*, *Lap-3*, *Mdh-2*, *Mnr-1*, *Perca*, *6-Pgd-2*, *6-Pgd-3*, *Pgi-2*, *Pgm-1*, *Pgm-2*, *Skdh-1*, *Sod-2*.

В популяциях кедрового стланика наблюдается смешанная система скрещивания с довольно высокой долей самоопыления (от 6 до 43%) (Таблица 5). Самый низкий уровень перекрестного опыления (t_m) выявлен в выборках Вачкажец, Кабан, которые представляют собой старые, почти полностью сомкнутые заросли, и Парамушир (0.568, 0.726 и 0.729 соответственно). Высокий уровень перекрестного опыления наблюдался в выборках Пенжина, Эссо, Авача, Узон, Охотское (от 0.901 до 0.939), где плотность насаждений ниже. В кальдере вулкана Головнина (популяция Кунашир) полная сомкнутость насаждения не достигнута за счет слабого укоренения на вулканических почвах, наблюдается средний уровень перекрестного опыления ($t_m=0.868$). Средний уровень оценок перекрестного опыления характерен и для других выборок со средним уровнем сомкнутости зарослей (Уксичан, Кварциты). На параметры системы скрещивания также влияют климатические факторы, ограничивающие разлет пыльцы, и родственная структура популяций.

Таблица 5 – Оценки доли ауткроссинга в изученных выборках *P. pumila*

Выборка	N дер.	N сем.	Доля ауткроссинга		$\Delta t = t_m - t_s$	Коэффициент инбридинга	
			t_s	t_m		ожидаемый, F_{IS-E}	наблюдаемый, F_{IS}
Пенжина	22	132	0.815±0.054	0.939±0.031	0.124±0.037	0.301	0.100
Вачкажец	30	239	0.418±0.041	0.568±0.052	0.150±0.021	0.110	0.287
Кабан	25	212	0.571±0.038	0.726±0.048	0.155±0.034	0.003	0.196
Эссо	34	269	0.850±0.037	0.919±0.031	0.069±0.023	0.056	0.078
Уксичан	30	182	0.758±0.050	0.825±0.041	0.068±0.031	-0.067	-0.086
Авача	30	240	0.830±0.041	0.901±0.036	0.071±0.032	-0.079	-0.081
Узон	30	197	0.769±0.035	0.917±0.029	0.148±0.023	0.136	-0.032
Парамушир	30	180	0.677±0.060	0.729±0.074	0.053±0.042	-0.124	-0.168
Кварциты	27	171	0.754±0.053	0.865±0.047	0.112±0.026	0.040	-0.019
Охотское	21	126	0.838±0.037	0.937±0.034	0.099±0.035	0.128	-0.007
Кунашир	40	320	0.763±0.035	0.868±0.030	0.105±0.020	0.059	0.114

Анализ наблюдаемых и ожидаемых распределений генотипов и отклонений от равновесия Харди–Вайнберга в выборках зародышей в целом показал наличие значительного дефицита гетерозигот (Рисунок 9). В выборках Кабан, Эссо и Авача среди взрослых деревьев обнаружен небольшой эксцесс гетерозигот ($F_{IS} = -0.082$; -0.056 и -0.067). В выборках Вачкажец, Уксичан, Узон, Охотское, Кварциты и Кунашир значения гетерозиготности были близки к равновесному (F_{IS} от -0.037 до 0.023). Максимальный избыток гетерозигот обнаружен в популяции о. Парамушир ($F_{IS} = -0.160$). Выборка Пенжина, ранее подвергшаяся воздействию нескольких пожаров, отличалась высоким уровнем инбридинга ($F_{IS} = 0.108$).

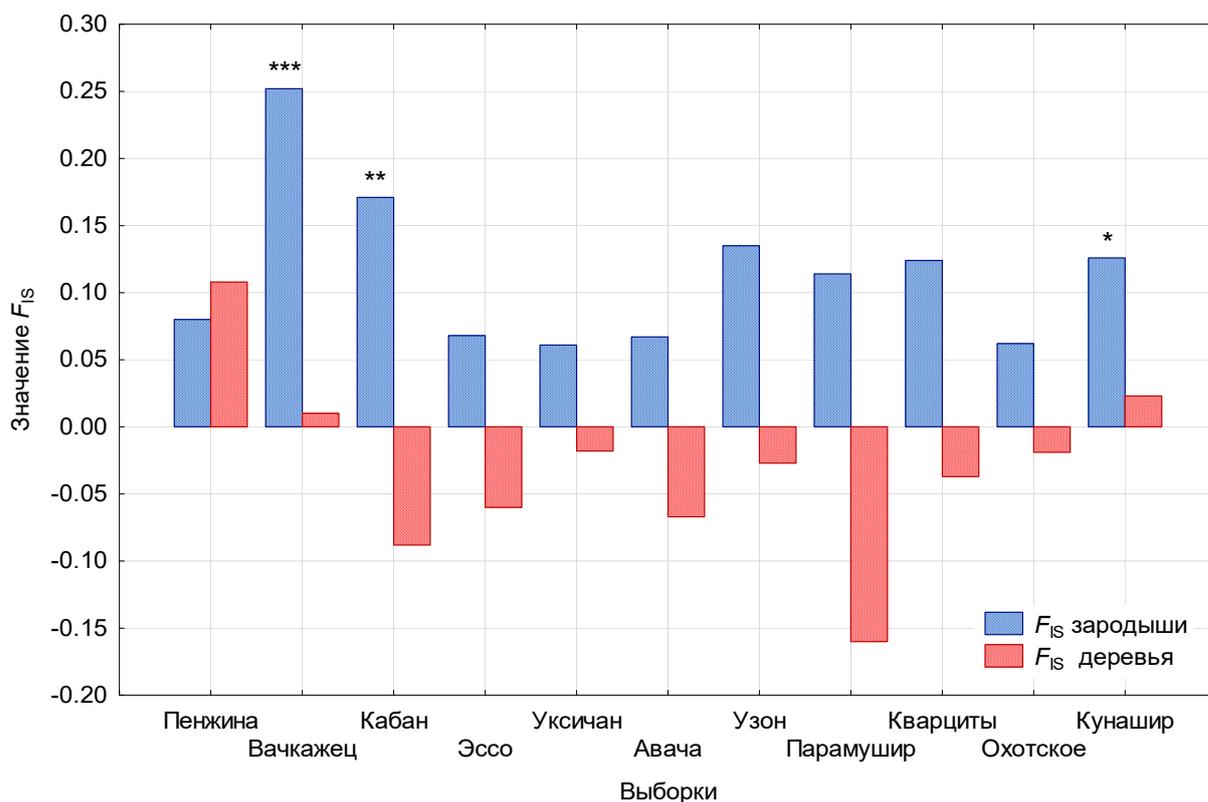


Рисунок 9 - Коэффициент инбридинга F_{IS} в выборках зародышей и взрослых деревьев кедрового стланика. Уровни значимости отклонения F_{IS} от равновесного: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

3.7 Распределение генетической изменчивости кедрового стланика на ареале Корреляционный анализ частот всех 94 аллелей с географическими координатами выборок выявил связи значений долготы с частотами 18 аллелей и широты с частотами 24 аллелей при уровне значимости $p < 0.05$. В Таблице 6 приведены значения коэффициента корреляции Спирмена для 19 пар переменных «частота аллеля – широта/долгота» при уровне значимости $p < 0.01$, в том числе шесть при $p < 0.001$. Значимые корреляции частот аллелей с географическими координатами выявлены по локусам, вносящим наибольший вклад в межпопуляционную дифференциацию со значениями F_{ST} выше среднего.

В пределах ареала вида наблюдаются значительные колебания климатических и других средовых параметров. Для некоторых локусов выявлена связь частот аллелей со значениями климатических переменных, отражающих изменение температур, уровня осадков, обеспечивающими наличие и высоту снежного покрова необходимого для выживания стланика, и инсоляции. Частоты аллелей *Perca_100*, *6Pgd-2_100*, *6Pgd-3_90*, *Pgi-2_100* коррелируют положительно с уровнем осадков в осенне-зимний период с сентября по апрель–май и отрицательно – с уровнем инсоляции в летний период. Обратные корреляции выявлены для частот аллелей *Fdh_73* и *Pgi-2_118*. Частота *Mdh-2_80* отрицательно коррелирует со среднегодовой температурой и осадками, но положительно – с инсоляцией в самые жаркие месяцы. Возможно, этот аллель связан с засухоустойчивостью.

Таблица 6 – Значения ранговой корреляции Спирмена (*R*) и уровня значимости (*p*) для пар переменных (частота аллеля – географическая широта/долгота)

Пары переменных	<i>R</i>	<i>p</i>
<i>Fdh_100</i> & в.д.	0.5935	0.0003
<i>Fe-2_80</i> & в.д.	-0.4789	0.0056
<i>Got-3_140</i> & с.ш.	-0.4960	0.0039
<i>Lap-3_97</i> & с.ш.	-0.6046	0.0002
<i>Mdh-1_100</i> & с.ш.	0.4934	0.0041
<i>Mdh-1_86</i> & с.ш.	-0.5409	0.0014
<i>Mdh-2_112</i> & в.д.	-0.5093	0.0029
<i>Mdh-2_80</i> & с.ш.	0.5295	0.0018
<i>Perca_100</i> & с.ш.	-0.4901	0.0044
<i>Perca_118</i> & с.ш.	0.4901	0.0044
<i>6Pgd-2_100</i> & с.ш.	-0.4652	0.0073
<i>6Pgd-2_84</i> & в.д.	-0.5142	0.0026
<i>6Pgd-3_135</i> & в.д.	-0.5772	0.0005
<i>Pgi-2_100</i> & с.ш.	-0.5822	0.0005
<i>Pgi-2_118</i> & с.ш.	0.6192	0.0002
<i>Pgi-2_130</i> & в.д.	-0.4663	0.0071
<i>Pgi-2_85</i> & с.ш.	-0.4793	0.0055
<i>Pgm-2_87</i> & с.ш.	-0.6257	0.0001
<i>Skdh-1_113</i> & с.ш.	0.4773	0.0057

Частоты двух аллелей локуса *Got-3*, *_158* и *_140*, положительно коррелируют со среднегодовыми температурой и уровнями осадков, а также с инсоляцией в зимний период; отрицательно – с амплитудой годовых температур и инсоляцией в летний период. Частота аллеля *Got-3_225* демонстрирует обратные зависимости. Частота *Mdh-2_80* отрицательно коррелирует со среднегодовой температурой и осадками, но положительно – с инсоляцией в самые жаркие месяцы. Возможно, этот аллель связан с засухоустойчивостью. Примеры распределения частот аллелей даны на Рисунке 10. Частота аллеля *Lap-3_97* выше в южных популяциях (коррелирует положительно с температурой, осадками, среднегодовыми и в осенне-зимний период, отрицательно – с уровнем летней инсоляции). Частота аллеля *Perca_100* ниже в выборках континентальной части ареала.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методом изоферментного анализа мегagamетофитов и зародышей семян, а также вегетативных тканей, проведен анализ генетического разнообразия кедрового стланика из восточной части ареала. Проанализировано распределение генетического разнообразия на ареале и изучены связи частот отдельных аллелей с географическим положением популяции и климатическими параметрами.

Pinus pumila Тихоокеанского региона обладает высокими уровнями генетической изменчивости, сопоставимыми с оценками, полученными для вида ранее в зоне Байкала, побережья Охотского моря, Чукотки и о. Сахалин. Поддержание высокого уровня аллозимного полиморфизма является адаптивной стратегией, за счет которой популяции кедрового стланика сохраняют возможность приспособиться к изменяющимся условиям среды на протяжении долгого периода жизненного цикла особей и в череде поколений.

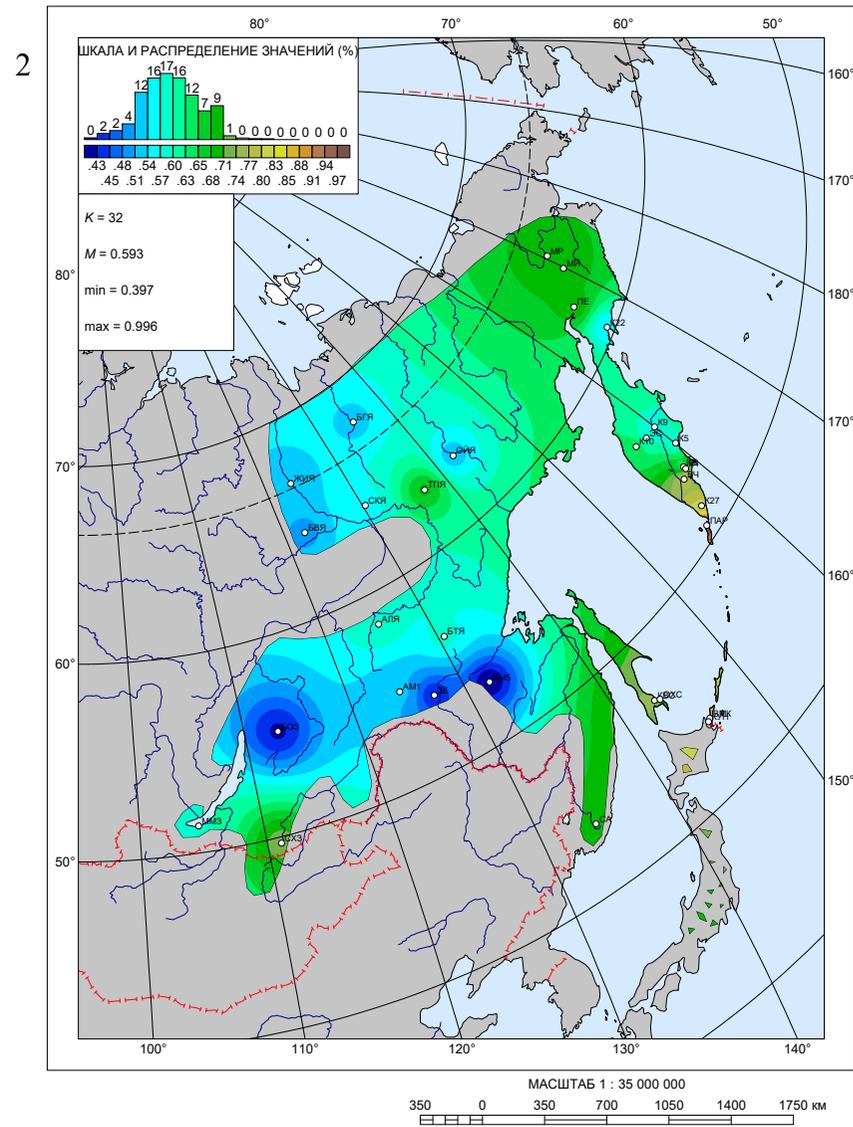
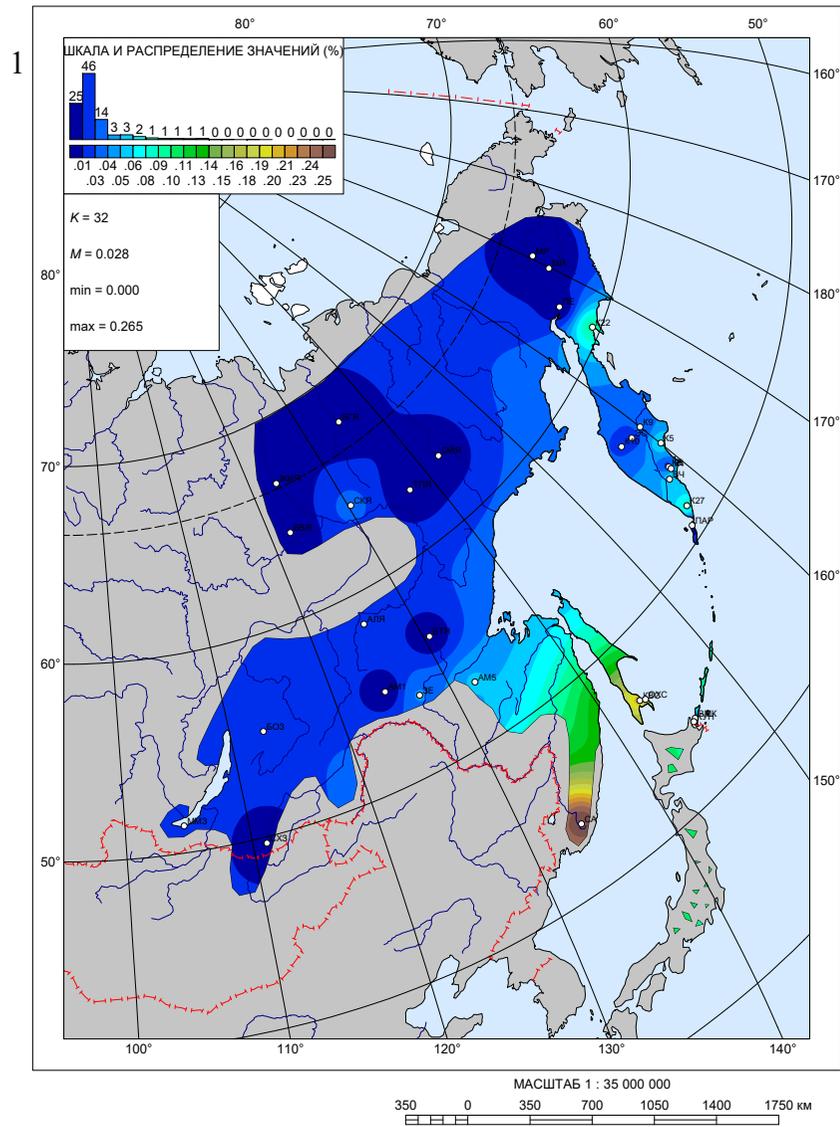


Рисунок 10 – Распределение частот аллелей *Lap-3_97* (1) на *Persa_100* (2) по ареалу кедрового стланика.

Высокое межпопуляционное разнообразие в восточной части ареала – результат формирования популяций в контрастных условиях обитания, истории формирования каждой из них и разнонаправленных внешних воздействий (вулканизм, пожары, деятельность человека). В условиях жесткого отбора выживают особи, обладающие высокой приспособленностью, которая реализуется через взаимодействие организма со средой. Индикатором приспособленности популяции к меняющимся условиям среды может служить ее генетическая изменчивость, выражаемая через гетерозиготность.

Система скрещивания *P. pumila* включает в себя как перекрестное, так и самоопыление. Отдельные популяции могут отличаться по уровням самоопыления. На систему скрещивания влияет не только родственная структура популяции, сомкнутость зарослей, но и климатические факторы. Отмечено возрастание гетерозиготности во взрослой части популяции, за счет элиминации инбредного потомства с возрастом, а также под воздействием балансирующего отбора в пользу гетерозигот.

Распределение генетической изменчивости (полиморфизма и частот аллелей) на ареале не равномерно и зависит, прежде всего, от климатических факторов. Это распределение не является случайным и может отражать историю расселения вида. На степень дифференциации популяций влияют почвенные и микроклиматические условия обитания. Важную роль играют дальность и возможности распространения пыльцы и семян. Генетическая дифференциация популяций кедрового стланика в восточной части ареала связана с историей формирования вида. Наши данные позволяют предполагать, что заселение Камчатки могло идти как с севера, так и с южных островов. На о-ва Кунашир и Сахалин стланик распространялся из южной континентальной части ареала.

Полученные данные представляют теоретический интерес, поскольку они позволяют подойти к познанию факторов формирования современного уровня генетического разнообразия видов и популяций, а также внутривидовой генетической дифференциации у хвойных. Результаты могут быть применены в практике охраны биоразнообразия растительных сообществ с присутствием кедрового стланика как основы экологического разнообразия сообществ растений и животных в неблагоприятных природно-климатических зонах.

ВЫВОДЫ

1. Популяционная структура кедрового стланика из восточной части ареала характеризуется высокими значениями полиморфности (процент полиморфных локусов $P_{99\%}=91.3\%$) и аллельного разнообразия ($N_A=3.9$, $N_E=1.5$) по аллозимным локусам. Среднее число аллелей на локус в выборках внутри каждого региона составило около 2.1, средняя ожидаемая гетерозиготность – 0.225. Эти оценки согласуются с полученными ранее для выборок из других частей ареала.
2. В северо-восточной части зоны симпатрии сибирской кедровой сосны и кедрового стланика происходит гибридизация с образованием гибридов первого и последующих поколений, при этом мтДНК у всех гибридов наследуется от кедрового стланика.
3. Популяции из разных географических регионов в пределах восточной части ареала значимо гетерогенны по частотам большинства аллелей при общем уровне пространственно подразделённости 8.9% от общей изменчивости ($F_{ST}=0.089$). Внутри регионов наблюдается менее выраженная гетерогенность, что отражает как

общность происхождения, так и поток аллелей между локальными популяциями, а также общие векторы отбора.

4. В популяциях кедрового стланика наблюдается смешанная система скрещивания, с долей самоопыления от 6 до 43%. Уровень самоопыления зависит от плотности древостоя и наличия кластерной структуры, сформировавшейся вследствие распространения семян кедровкой и/или разрастания кустов с возрастом.

5. Среди зародышей семян *P. pumila* наблюдается дефицит гетерозигот, вызванный инбридингом в результате самоопыления и близкородственных скрещиваний. Во взрослой части популяций гетерозиготность близка к равновесной или наблюдается эксцесс гетерозигот, что свидетельствует об отборе против инбредного потомства и балансирующем отборе в пользу гетерозигот на протяжении жизненного цикла.

6. Выявлена сложная клоново-семенная структура насаждения кедрового стланика, включающая многоствольные формы в результате прорастания групп семян (как правило, роственных на уровне сибсов и полусибсов) из кладок кедровок. Отмечена также фрагментация кустов в ходе вегетативного размножения и укоренения частей родительского растения.

7. Генетические дистанции (D_N) между популяциями восточной части ареала варьируют от 0.002 до 0.039 в пределах Чукотки-Корякии – Камчатки, от 0.008 до 0.025 между популяциями о. Кунашир, от 0.009 до 0.024 между популяциями Амурской области. Популяция о. Парамушир максимально отличается от остальных (от 0.049 до 0.100) за счет значительного смещения частот аллелей, вероятно вызванного ее происхождением от малого числа родительских особей.

8. Выявлены связи значений частот аллелей 16 локусов с географическими координатами, отражающие паттерны расселения и экологическую дифференциацию в гетерогенных условиях среды: 18 аллелей с географической долготой и 24 аллелей с широтой ($p < 0.05$). Частоты аллелей шести локусов коррелировали с температурными биоклиматическими переменными и уровнем осадков с сентября по май – в период вегетационной паузы.

9. Генетическая структура популяций кедрового стланика в восточной части ареала сформировалась под действием комплекса факторов, как древних – истории расселения и адаптации к локальным условиям среды, так и современных – ветроопыления, зоохорного распространения семян, инбридинга на стадии зародышей, нарастания гетерозиготности во взрослой части популяции и адаптивных процессов отбора к современным экологическим условиям.

СПИСОК РАБОТ ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в изданиях из списка, рекомендованного ВАК:

1. **Белоконь Ю.С.**, Белоконь М.М., Петрова Е.А., Горошкевич С.Н., Политов Д.В. Генетическая дифференциация популяций кедрового стланика, *Pinus pumila* (Pall.) Regel, Тихоокеанского региона // Успехи современной биологии. 2022. Т. 142. № 5. С. 518–529.
2. **Белоконь М.М.**, **Белоконь Ю.С.**, Петрова Е.А., Васильева Г.В., Ефимова А.П., Захаров Е.С., Горошкевич С.Н., Политов Д.В. Древняя и современная гибридизация сибирской кедровой сосны и кедрового стланика на юге Якутии // Генетика. 2022. Т. 58. № 11. С. 1240-1250.

3. Petrova E.A., Goroshkevich S.N., Politov D.V., Belokon M.M., **Belokon Y.S.** Population genetic structure and mating system in the hybrid zone between *Pinus sibirica* Du Tour and *Pinus pumila* (Pall.) Regel at the Eastern Baikal Lake shore // *Annals of Forest Research*. 2008. V. 51. P. 19-30.
4. Политов Д.В., Белоконов М.М., **Белоконов Ю.С.** Динамика аллозимной гетерозиготности в дальневосточных популяциях кедрового стланика *Pinus pumila* (Pall.) Regel: сравнение зародышей и материнских растений // *Генетика*. 2006. Т. 42. № 10. С. 1348-1358.
5. Белоконов М.М., Политов Д.В., **Белоконов Ю.С.**, Крутовский К.В., Малюченко О.П., Алтухов Ю.П. Генетическая дифференциация сосен секции *Strobus*: данные изоферментного анализа // *Доклады Академии наук*. 1998. Т. 358. № 5. С. 699-702.

Статьи в изданиях, индексируемых РИНЦ:

1. Петрова Е.А., Горошкевич С.Н., Белоконов М.М., **Белоконов Ю.С.**, Политов Д.В. Естественная гибридизация кедра сибирского (*Pinus sibirica* Du Tour) и кедрового стланика (*Pinus pumila* (Pallas) Regel) в южном Забайкалье // *Хвойные бореальной зоны*. 2012. Т. XXX. № 1-2. С. 152-156.
2. Белоконов М.М., **Белоконов Ю.С.**, Политов Д.В. Система скрещивания и динамика аллозимной гетерозиготности в популяциях кедрового стланика, *Pinus pumila* (Pall.) Regel // *Хвойные бореальной зоны*. 2010. Т. XXVII. № 1-2. С. 13-17.
3. Горошкевич С.Н., Петрова Е.А., Васильева Г.В., Политов Д.В., Попов А.Г., Бендер О.Г., Белоконов М.М., Хуторной О.В., **Белоконов Ю.С.** Межвидовая гибридизация как фактор сетчатой эволюции 5-хвойных сосен Северной и Восточной Азии // *Хвойные бореальной зоны*. 2010. Т. XXVII. № 1-2. С. 50-57.
4. Петрова Е.А., Бендер О.Г., Горошкевич С.Н., **Белоконов Ю.С.**, Белоконов М.М., Политов Д.В. Аллозимная изменчивость и структура хвои естественных гибридов кедра сибирского и кедрового стланика // *Хвойные бореальной зоны*. 2010. Т. XXVII. № 1-2. С. 154-159.
5. Politov D.V., Belokon M.M., Maluchenko O.P., **Belokon Y.S.**, Molozhnikov V.N., Mejnartowicz L.E., Krutovskii K.V. Genetic evidence of natural hybridization between Siberian stone pine, *Pinus sibirica* Du Tour, and dwarf Siberian stone pine, *P. pumila* (Pall.) Regel // *Forest Genetics*. 1999. V. 6. № 1. P. 41-48.

Тезисы и статьи в сборниках конференций:

1. **Белоконов Ю.С.**, Белоконов М.М., Ветрова В.П., Горошкевич С.Н., Петрова Е.А., Политов Д.В. Генетическая структура популяций кедрового стланика, *Pinus pumila* (Pall.) Regel, в восточной части ареала // *Генетические процессы в популяциях. Материалы Научной конференции с международным участием, посвященной 50-летию юбилею лаборатории популяционной генетики им. Ю.П. Алтухова ИОГен и 85-летию со дня рождения академика Юрия Петровича Алтухова. (11–14 октября 2022 г., Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, г. Москва)*. М.: Ваш формат, 2022. С. 68.
2. Политов Д.В., **Белоконов Ю.С.** Современные методы анализа и визуализации пространственной генетической структуры лесных популяций // *Материалы Всероссийской научной конференции с международным участием “Научные основы устойчивого управления лесами”, посвященной 30-летию ЦЭПЛ РАН 25–29 апреля 2022 г., Москва, Россия*. М.: ЦЭПЛ РАН, 2022. С. 87-89.

3. **Белоконь Ю.С.**, Белоконь М.М., Захаров Е.С., Ефимова А.П., Политов Д.В. Генетическое разнообразие кедрового стланика, *Pinus pumila* (Pall.) Regel, Якутии // Генетика популяций: прогресс и перспективы. Материалы Международной научной конференции, посвященной 80-летию со дня рождения академика Ю.П. Алтухова (1936-2006) и 45-летию основания лаборатории популяционной генетики им. Ю.П. Алтухова ИОГен РАН (17-21 апреля 2017 г., Звенигородская биологическая станция им. С.Н. Скадовского Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова). М.: Ваш формат, 2017. С. 31-32.
4. **Белоконь Ю.С.**, Белоконь М.М., Политов Д.В. Генетическое разнообразие кедрового стланика, *Pinus pumila* (Pall.) Regel, Амурской области по аллозимным локусам // Молекулярно-генетические подходы в таксономии и экологии: тезисы докладов научной конференции (г. Ростов-на-Дону, 25 - 29 марта 2013 г.). Ростов н/Д: Изд-во ЮНЦ РАН, 2013. С. 13.
5. Мудрик Е.А., Белоконь М.М., **Белоконь Ю.С.**, Дьяконов Е.Е., Тимофеева Н.Д., Никифорова А.А., Попов Е.Н., Политов Д.В. Генетический анализ клоновой структуры кедрового стланика в Оймяконье // Леса Евразии - Удмуртский лес: Матер. XIII Междунар. конф. молодых учёных (г. Ижевск, 16-21 сентября 2013 г.). М.: ГОУ ВПО МГУЛ, 2013. С. 131-133.
6. Полякова Т.А., Белоконь М.М., **Белоконь Ю.С.**, Игнатенко Е.В., Игнатенко С.Ю., Политов Д.В. Генетическое разнообразие кедрового стланика, *Pinus pumila* (Pall.) Regel, Амурской области по микросателлитным локусам // Молекулярно-генетические подходы в таксономии и экологии: тезисы докладов научной конференции (г. Ростов-на-Дону, 25 - 29 марта 2013 г.). Ростов н/Д: Изд-во ЮНЦ РАН, 2013. С. 80.
7. Белоконь М.М., **Белоконь Ю.С.**, Ветрова В.П., Политов Д.В. Генетическое разнообразие кедрового стланика, *Pinus pumila* (Pall.) Regel, полуострова Камчатка // Сохранение лесных генетических ресурсов Сибири. Материалы 3-го международного совещания 23-29 августа 2011, Красноярск, Россия. Красноярск: 2011. С. 13.
8. Петрова Е.А., Горошкевич С.Н., Попов А.Г., Белоконь М.М., **Белоконь Ю.С.**, Политов Д.В. Генетические процессы в зоне гибридизации сосны кедровой сибирской (*Pinus sibirica* Du Tour) и кедрового стланика [*Pinus pumila* (Pall.) Regel] // Сохранение лесных генетических ресурсов Сибири. Материалы 3-го международного совещания 23-29 августа 2011, Красноярск, Россия. Красноярск: 2011. С. 113-114.
9. Belokon M.M., **Belokon Y.S.**, Vetrova V.P., Politov D.V. Genetic diversity of dwarf Siberian pine, *Pinus pumila* (Pall.) Regel, from Kamchatka peninsula // Proceedings of 4th Conference on the breeding and genetic resources of five-needle pines. 9-18 August, 2011, Tomsk, Russia. Tomsk: 2011. P. 31.
10. **Belokon Y.S.**, Belokon M.M., Petrova E.A., Goroshkevich S.N., Politov D.V. Genetic differentiation of dwarf Siberian pine, *Pinus pumila* (Pall.) Regel, populations from the Pacific region // Proceedings of 4th Conference on the breeding and genetic resources of five-needle pines. 9-18 August, 2011, Tomsk, Russia. Tomsk: 2011. P. 30.
11. Politov D.V., **Belokon Y.S.**, Belokon M. M., Mudrik E.A., Petrova E.A., Goroshkevich S.N. Genetic differentiation in Eurasian stone pines: Comparative analysis of patterns and factors // Proceedings of 4th Conference on the breeding and genetic resources of five-needle pines. 9-18 August, 2011, Tomsk, Russia. Tomsk: 2011. P. 26-27.

12. Политов Д.В., **Белоконь Ю.С.** Популяционная и эволюционная генетика мягких сосен (*Pinus*, подрод *Strobus*) // Леса Евразии - Северный Кавказ: Материалы VIII Международной конференции молодых ученых, посвященной 270-летию со дня рождения лесовода А.Т. Болотова. М.: ГОУ ВПО МГУЛ, 2008. С. 165-166.
13. Belokon M.M., **Belokon Y.S.**, Politov D.V. Mating system and allozyme heterozygosity dynamics in Siberian dwarf pine *Pinus pumila* (Pall.) Regel populations // Proceedings of the Breeding and Genetic Resources of Five-Needle Pines Conference, 22-26 September 2008. Yangyang, Korea: 2008. P. 21.
14. Политов Д.В., Белоконь М.М., **Белоконь Ю.С.**, Крутовский К.В., Алтухов Ю.П. Генетика популяций кедровых сосен // Материалы международной конференции "Генетика в России и мире", посвященной 40-летию ИОГен им. Н.И. Вавилова РАН. 28 июня – 2 июля 2006 г. Москва: 2006. С. 156.
15. Petrova E.A., Goroshkevich S.N., Politov D.V., Belokon M.M., **Belokon Y.S.** Genetic structure and mating system of pure species and hybrids in the hybrid zone between *Pinus sibirica* Du Tour and *Pinus pumila* (Pall.) Regel // Abstracts of IUFRO Working Party 2.02.15. The breeding and genetic resources of five-needle pines. Valiug, Romania: 2006. P. 7-8.
16. Малюченко О.П., **Белоконь Ю.С.**, Белоконь М.М., Политов Д.В. Параметры системы скрещивания межвидового гибрида *Pinus sibirica* x *Pinus pumila* по данным изоферментного анализа // Научная генетическая конференция. Москва: Изд-во МСХА, 2002. С. 224-225.
17. Малюченко О.П., **Белоконь Ю.С.**, Белоконь М.М., Политов Д.В. Генетические особенности береговых и горных популяций кедрового стланика в Прибайкалье // Разнообразие растительного покрова Байкальского региона. Материалы международной конференции (7 - 10 сентября 1999 г.). Улан-Удэ: Изд-во Бурятского госуниверситета, 1999. С. 45-46.
18. Политов Д.В., Белоконь М.М., Малюченко О.П., **Белоконь Ю.С.**, Крутовский К.В. Генетические доказательства естественной гибридизации между сибирской кедровой сосной *Pinus sibirica* и кедровым стлаником *Pinus pumila* (Pinaceae) // Проблемы ботаники на рубеже XX - XXI веков. Тезисы докладов представленных II (X) съезду Русского ботанического общества, 26 - 29 мая 1998 г. Санкт-Петербург: 1998. С. 180.
19. Малюченко О.П., Политов Д.В., **Белоконь Ю.С.**, Белоконь М.М. Генетическая дифференциация кедрового стланика *Pinus pumila* (Pall.) Regel в Прибайкалье // (Под ред. Н.В. Глотова. Л.А. Жуковой, Л.А. Животовского) Жизнь популяций в гетерогенной среде. Йошкар-Ола: Периодика Марий Эл, 1998. С. 38-45.
20. Малюченко О.П., Политов Д.В., **Белоконь Ю.С.** Аллозимная гетерозиготность и инбридинг в популяциях кедрового стланика // Ломоносов. Москва: Московский государственный университет, 1996.