

Взаимосвязь аллозимного и фенотипического разнообразия популяций ели аянской (*Picea ajanensis*)

В.П. Ветрова¹, А.К. Экарт², А.Н. Кравченко², А.Я. Ларионова²

¹ Камчатский филиал Тихоокеанского института географии Дальневосточного отделения Российской академии наук, Петропавловск-Камчатский, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса им. В.Н. Сукачева Сибирского отделения Российской академии наук, Красноярск, Россия

Проведено сравнение структуры популяций ели аянской (*Picea ajanensis*) по результатам аллозимного анализа тканей вегетативных почек и морфометрического анализа генеративных органов. Исследовали шесть ценопопуляций *P. ajanensis*, произрастающих на полуострове Камчатка в районах с разным уровнем вулканического воздействия. Генетическая изменчивость ели определена на основании анализа 10 ферментных систем (*PGM*, *GOT*, *HK*, *LAP*, *MDH*, *SKDH*, *IDH*, *GDH*, *PGI*, *SOD*). Фенотипическое разнообразие оценивали по составу морфотипов, выделенных методами геометрической морфометрии по форме семенных чешуй шишек. При попарном сравнении выборок шишек со 170 деревьев из шести популяций было выделено 12 морфотипов. Проведена сравнительная оценка разнообразия и сходства популяций по частоте встречаемости морфотипов и частоте аллелей полиморфных локусов. Выявлена корреляция матриц генетических и фенотипических расстояний между группами деревьев разных морфотипов, что согласуется с генетической детерминацией формы семенных чешуй шишек у ели. По совокупности 9 полиморфных локусов (*Got-2*, *Skdh-1*, *Idh-2*, *Pgm-2*, *Mdh-1*, *Mdh-3*, *Pgm-1*, *Pgi-2*, *Hk*) генетические различия между группами деревьев разных морфотипов были незначительными. Достоверные различия между морфотипами ели были выявлены по двум локусам: *Pgm-2* и *Mdh-1*. Различия в генетическом разнообразии популяций в основном согласуются с различиями в их фенотипическом разнообразии. Высокий уровень генетического и фенотипического разнообразия характеризует стабильную популяционную структуру ели в подзоне слабых пеплопадов. Изменения в генетической структуре и низкий уровень фенотипического разнообразия ели наблюдаются при катастрофическом вулканическом воздействии.

Ключевые слова: аллозимный полиморфизм; фенотипическая изменчивость; морфология шишек; *Picea ajanensis*.

Relationships between the allozyme and phenotypic diversities of *Picea ajanensis* populations

V.P. Vetrova¹, A.K. Ekart², A.N. Kravchenko², A.Ya. Larionova²

¹ Kamchatka Branch of the Pacific Geographical Institute Far East Branch of the RAS, Petropavlovsk-Kamchatsky, Russia

² V.N. Sukachev Institute of Forest SB RAS, Krasnoyarsk, Russia

The structures of *Picea ajanensis* populations were compared based on allozyme analysis of vegetative buds and morphometric analysis of generative organs. Six cenopopulations of *P. ajanensis* were investigated in areas with various levels of volcanic impact in the Kamchatka Peninsula. The genetic structures of spruce populations and phenotypes were determined by analysis of ten enzyme systems (*PGM*, *GOT*, *HK*, *LAP*, *MDH*, *SKDH*, *IDH*, *GDH*, *PGI* and *SOD*). Phenotypic variability of spruce populations was estimated based on the composition of morphotypes that were identified by using geometric morphometrics of cone-scale shapes. Pairwise comparison of samples of cones from 170 trees from six populations revealed 12 morphotypes differing in the shape of cone scales. Comparative assessment of variability and similarity of populations was carried out based on the frequency of occurrence of phenotypes and frequency of alleles of polymorphic loci. Correlations of the genetic and phenotypic distance matrices between different phenotypes were revealed. This observation was consistent with the genetic determination of the shape of cone scales in spruce. Genetic differences between the morphotypes with regard to nine polymorphic loci (*Got-2*, *Skdh-1*, *Idh-2*, *Pgm-2*, *Mdh-1*, *Mdh-3*, *Pgm-1*, *Pgi-2*, and *Hk*) were not significant. Statistically significant differences between the morphotypes were revealed for two loci: *Pgm-2* and *Mdh-1*. Differences in the genetic diversity of spruce populations generally corresponded to differences in their phenotypic diversity. The high levels of genetic and phenotypic diversity characterized a stable population structure of spruce in the area of weak volcanic influence. Changes in the genetic structure and low levels of the phenotypic diversity of spruce were observed under catastrophic volcanic impact.

Key words: allozyme polymorphism; phenotypic diversity; cone morphology; *Picea ajanensis*.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ?

Ветрова В.П., Экарт А.К., Кравченко А.Н., Ларионова А.Я. Взаимосвязь аллозимного и фенотипического разнообразия популяций ели аянской (*Picea ajanensis*). Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015;19(5):581-588. DOI 10.18699/VJ15.075

HOW TO CITE THIS ARTICLE?

Vetrova V.P., Ekart A.K., Kravchenko A.N., Larionova A.Ya. Relationships between the allozyme and phenotypic diversities of *Picea ajanensis* populations. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii – Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2015;19(5):581-588. DOI 10.18699/VJ15.075

УДК 575.174.015.3:582.475.2

Поступила в редакцию 12.12.2014 г.

Принята к публикации 05.03.2015 г.

© АВТОРЫ, 2015

Проблема изучения и оценки фенотипической изменчивости и необходимость синтеза генетического и фенотипического анализа популяций являются одной из наиболее актуальных в популяционной биологии (Алтухов, 2003; Санников, Петрова, 2003, 2007). Система методов изучения таксономической структуры древесных растений на популяционно-генетической основе, объединяющей принципы и методы фенотипического и генетического анализа популяций, разработана и апробирована на примере сосны обыкновенной С.Н. Санниковым и И.В. Петровой (2003, 2007). В качестве фенотипических маркеров для оценки внутри- и межвидовой дифференциации разных представителей семейства *Pinaceae*, как правило, используют полигенные признаки генеративных органов, включая характеристики размеров и индексы формы шишек, семян и семенных чешуй (Мамаев, 1972; Фролов, 1993; Попов, 2005; Путенихин и др., 2005).

Ключевым направлением исследований по фенотипике растений является разработка количественных методов сопряженного фенотипического и генетического анализа популяций (Санников, Петрова, 2007). При оценке фенотипической изменчивости хвойных перспективным является анализ изменчивости генеративных органов растений методами геометрической морфометрии. Эффективность этого подхода для анализа изменчивости и дифференциации популяций была показана на примере кедрового стланика (*Pinus pumila* (Pall.) Regel) (Vetrova, 2013; Ветрова, Синельникова, 2014).

Цель настоящей работы – анализ взаимосвязи аллозимного и фенотипического разнообразия популяций ели аянской (*Picea ajanensis* (Lindl. ex Gord.) Fisch. ex Car. sin. *Picea jezoensis* (Siebold et Zucc.)). Исследовали природные популяции ели аянской на полуострове Камчатка. Ранее с помощью аллозимных и фенотипических маркеров нами получены данные, свидетельствующие о генетической и фенотипической гетерогенности популяций ели аянской в этом районе и о связи изменчивости со степенью вулканического воздействия (Ветрова и др., 2014). В задачи настоящей работы входило выделение морфотипов ели аянской по форме семенных чешуй шишек методами геометрической морфометрии, сравнение генетических характеристик морфологически различных групп деревьев на основе изоферментного анализа, оценка разнообразия и сходства популяций по частоте встречаемости морфотипов и частоте аллелей полиморфных локусов.

Материалы и методы

В исследование включено шесть ценопопуляций ели аянской из северных и южных районов «хвойного острова» Центральной Камчатки. Три северные ценопопуляции расположены в районах активного вулканизма: на юго-западном подножии вулкана Шивелуч (Е6) и на западном подножии вулкана Ушковский (Е1 и Е2), на территориях, вышедших в разное время из-под действия сухих речек, а три выборки (Е3, Е4 и Е5) были расположены в зоне слабых лавин в южном районе Центральной Камчатской депрессии (ЦКД), в равнинных и долинных ельниках (табл. 1).

Материалом для исследования послужили вегетативные почки и шишки, собранные с 28–30 деревьев в каждой

из шести ценопопуляций в сентябре–октябре 2012 г. Все исследованные древостои были разновозрастными. Отбор образцов проводили на деревьях, высота которых составляла 5–7 м, а возраст, по данным дендрохронологического анализа, 60–80 лет.

При анализе изменчивости формы семенных чешуй применяли методические указания по геометрической морфометрии, изложенные в обзорной статье И.Я. Павлинова и Н.Г. Микешинной (2002) и в монографии М. Zelditch и др. (2004). Выполнена геометрическая морфометрия семенных чешуй шишек у 170 деревьев ели аянской из шести ценопопуляций. С каждого дерева выбирали по 3 шишки, из средней части шишек брали по пять чешуй, затем из этих 15 образцов выбирали наиболее репрезентативные пять чешуй для каждого дерева. Расстановку меток и определение их координат выполняли на сканированных изображениях чешуй с помощью экранного дигитайзера (Rolf, 2010).

Семенные чешуи относятся к билатерально симметричным структурам, поэтому для характеристики их формы были выбраны 11 меток на одной стороне чешуй. На рис. 1 показана расстановка меток по контуру чешуй в соответствии с угловым алгоритмом. Метки 1 и 2 были поставлены на оси симметрии у основания и верхушки чешуй (рис. 1, а), метка 3 соответствует точке изгиба оттянутой верхушки чешуй, метка 4 – точке пересечения боковой линии чешуй с линией, проведенной перпендикулярно оси симметрии из ее центра. Остальные метки (5, 6, 7, 8, 9, 10 и 11) расставлены в соответствии с угловым алгоритмом: под углом 20, 35, 50, 70, 115, 135 и 155 градусов к оси симметрии соответственно (рис. 1, а).

Исходные координаты меток нормировали с помощью Прокрустова совмещения выборки чешуй со средней конфигурацией в программе CoordGen6 (Sheets, 2001). Обработку и анализ данных проводили с помощью пакета IMP-программ (Integrated Morphometrics Programs). Для выделения морфотипов индивидуальные выборки семенных чешуй со всех 170 деревьев сравнивали попарно в программе Twogroup по критерию Гудолла (Goodall's test) для частных Прокрустовых расстояний с использованием бутстрэп-ресамплинга (Sheets, 2001). К разным морфотипам по форме семенных чешуй относили деревья, образцы чешуй шишек которых по критерию Гудолла достоверно различались при уровне значимости $p \leq 0,05$. Деревья сходных морфотипов объединялись в группы, которые сравнивались по генетическому разнообразию. По составу и частоте морфотипов были рассчитаны показатели фенотипического разнообразия (μ) и сходства популяций (r), фенотипические расстояния (D) между выборками (Животовский, 1991) по формулам, приведенным ниже:

$$\mu = \left(\sum_{i=1}^m \sqrt{p_i} \right)^2; r = \sum_{i=1}^m \sqrt{p_i q_i}; D = \frac{2\sqrt{2}}{\pi} \sqrt{1 - r},$$

где m – общее число морфотипов, обнаруженных во всех выборках; p_i , q_i – частоты морфотипов в сравниваемых популяциях.

Генетическая изменчивость ели определялась с помощью аллозимного анализа тканей вегетативных почек. Гомогенизацию вегетативных почек для изоферментного анализа осуществляли в 1–2 каплях экстрагирующего

Таблица 1. Характеристика пробных площадей, на которых проводили сбор материала

Код выборки	Географические координаты	Положение в рельефе
E1	56°03'09" с.ш. 160°03'02" в.д.	Северная часть ЦКД, подножье вулкана Ушковский, старое русло сухой речки, 175 м над ур. моря
E2	56°03'07" с.ш. 160°00'47" в.д.	Северная часть ЦКД, окр. пос. Козыревск, равнинное местообитание, 170 м над ур. моря
E3	55° 04' 37" с.ш. 158° 53'13" в.д.	Средняя часть ЦКД, равнинное местообитание, 176 м над ур. моря
E4	55° 36' 16" с.ш. 159° 27'40" в.д.	Средняя часть ЦКД, равнинное местообитание, 90 м над ур. моря
E5	55° 19' 39" с.ш. 159°15' 11" в.д.	Средняя часть ЦКД, надпойменная терраса р. Камчатка, 145 м. над ур. моря
E6	56°32' 11" с.ш. 161° 02' 15" в.д.	Северная часть ЦКД, подножье вулкана Шивелуч, юго-западный склон, 150 м над ур. моря

ЦКД – Центральная Камчатская депрессия.

буфера 0,05 М Трис-НСI pH 7,7, содержащего дитиотрейтол (0,06 %), трилон Б (0,02 %) и β-меркаптоэтанол (0,05 %). Разделение экстрактов проводили методом горизонтального электрофореза в 13 %-м крахмальном геле. Каждый экстракт исследовали в трех буферных системах: морфолинцитратной, pH = 7,0 (Clayton, Tretiak, 1972), трис-цитратной, pH = 8,5/гидроокись лития-боратной, pH = 8,1 (Ridgway et al., 1970) и трис-ЭДТА-боратной, pH 8,6 (Markert, Faulhaber, 1965). Гистохимическое окрашивание ферментов осуществляли по стандартным методикам (Brewer, 1979; Vallejos, 1983; Гончаренко, Падутов, 1988; Manchenko, 1994), адаптированным к объекту изучения. Выявленные зоны активности ферментов, как и кодирующие их локусы, нумеровали в порядке убывания их электрофоретической подвижности. Аллели обозначали в соответствии с подвижностью кодируемых ими аллозимов относительно наиболее распространенного аллозима, подвижность которого принимали за 100 (Айала, 1984). На рис. 2 представлены примеры электрофореграмм изоцитратдегидрогеназы и глутаматоксалоацетаттрансминазы ели аянской.

В ходе предварительного анализа в образцах почек из камчатских популяций ели аянской нами было идентифицировано 15 изоферментных локусов (Ветрова и др., 2014), которые ранее использовались в

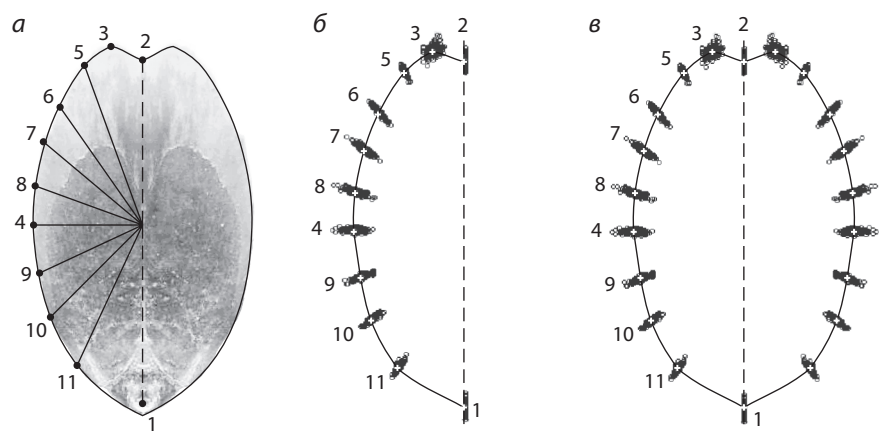


Рис. 1. Геометрическая морфометрия семенных чешуй шишек ели аянской: а – расстановка меток по контуру чешуй; б – совмещение выборки чешуй (N = 170) со средней конфигурацией методом скользящей базовой линии; в – дублирование и отражение от оси симметрии координат меток для получения полного изображения чешуй.

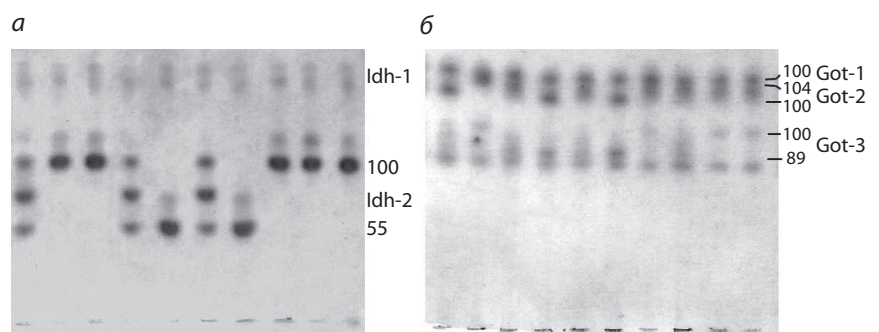


Рис. 2. Электрофореграммы изоцитратдегидрогеназы (а) и глутаматоксалоацетаттрансминазы (б) ели аянской.

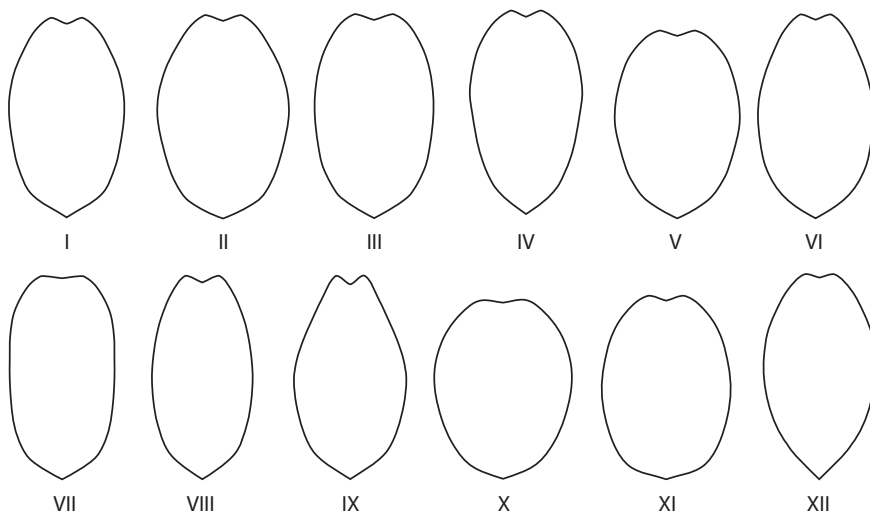


Рис. 3. Разнообразие форм семенных чешуй шишек в исследованных популяциях *P. ajanensis*.

Цифрами обозначены номера морфотипов.

качестве маркеров в генетических исследованиях этого вида (Potenko, 2007). Был выполнен электрофоретический анализ десяти ферментных систем: фосфоглюкомутазы (*PGM*, EC 2.7.5.1), глутаматоксалоацетаттрансаминазы (*GOT*, EC 2.6.1.1), гексокиназы (*HK*, 2.7.1.1), лейцинамипептидазы (*LAP*, EC 3.4.11.1), малатдегидрогеназы (*MDH*, EC 1.1.1.37), шикиматдегидрогеназы (*SKDH*, EC 1.1.1.25), изоцитратдегидрогеназы (*IDH*, EC 1.1.1.42), глутаматдегидрогеназы (*GDH*, EC 1.4.2.3), фосфоглюкоизомеразы (*PGI*, EC 5.3.1.9) и супероксиддисмутазы (*SOD*, 1.15.1.1).

Для определения генетического разнообразия групп деревьев, выделенных по сходству формы семенных чешуй, так же как и для ценопопуляций ели, по 15 локусам рассчитывали общепринятые показатели изменчивости: процент полиморфных локусов (*P*), среднее число аллелей на локус (N_a), эффективное число аллелей (N_e), среднюю наблюдаемую (H_o) и ожидаемую (H_e) гетерозиготности. Генетическую структуру морфотипов и популяций определяли с помощью показателей *F*-статистик Райта (Guries, Ledig, 1982). Количественную оценку степени генетических различий между морфотипами производили по методу, предложенному М. Неи (Nei, 1972). Расчет показателей осуществлялся в компьютерной программе GenAlex 6 (Peakall, Smouse, 2006). Для оценки достоверности генетических различий между морфотипами по частотам аллелей 15 локусов использовали критерий χ^2 .

Результаты

При попарном сравнении индивидуальных выборок шишек со 170 деревьев было выделено 12 морфологических форм ели по конфигурации семенных чешуй. Средние конфигурации всех морфотипов семенных чешуй, полученные в программе CoordGen6f (Sheets, 2001), показаны на рис. 3.

Частота встречаемости разных морфотипов в общей выборке деревьев ели варьирует от 1,2 % до 24 %. Наибольшая частота встречаемости отмечена для двух морфотипов: II (23,5 %) и III (24,1 %). К редким морфотипам относятся X, XI XII с частотой встречаемости 1,2 %, а также IV и VIII (1,8 %).

Частоты аллелей изученных изоферментных локусов у выделенных морфотипов ели аянской приведены в табл. 2. Мономорфными являются шесть из пятнадцати проанализированных изоферментных локусов ели аянской (*Got-1*, *Lap-2*, *Mdh-2*, *Sod-1*, *Sod-2*, *Gdh*). К категории высокополиморфных относятся четыре локуса (*Got-2*, *Skdh-1*, *Idh-2*, *Pgm-2*), среднеполиморфных – три локуса (*Mdh-1*, *Mdh-3*, *Pgm-1*). Два локуса (*Pgi-2*, *Hk*) слабополиморфны. Обнаружен-

ные в этих локусах альтернативные основному аллели встречаются не во всех морфотипах (табл. 2). Два из них, *Pgi-2⁶⁶* и *Pgi-2⁹⁰*, являются редкими: *Pgi-2⁶⁶* отмечен только в морфотипе II (частота 1,3 %), *Pgi-2⁹⁰* – только в морфотипе V (частота 3,1 %). Еще один редкий аллель обнаружен в локусе *Pgm-1* (*Pgm-1⁹⁶*), он отмечен только в морфотипе I (2,1 %). Всего в 15 локусах выявлено 27 аллелей.

Сравнение морфотипов ели на достоверность различий между ними по частотам аллелей девяти полиморфных локусов показали, что по совокупности этих локусов различия были несущественные, однако по двум локусам (*Pgm-2* и *Mdh-1*) выявлены различия для 8 пар сравниваемых морфотипов на уровне значимости $p \leq 0,05$ (табл. 3). Достоверные различия по частотам аллелей локуса *Pgm-2* выявлены при сравнении морфотипа VII со всеми остальными морфотипами, а различия по частотам аллелей локуса *Mdh-1* выявлены между морфотипами V, II и III (табл. 3).

Параметры генетического разнообразия для деревьев каждого из выделенных морфотипов ели аянской приведены в табл. 4. Из представленных данных видно, что процент локусов, обнаруживающих изменчивость, варьирует в группах деревьев, выделенных по форме семенных чешуй, от 40 % до 60 %. Среднее число аллелей на локус изменяется от 1,400 до 1,667, эффективное число аллелей – от 1,202 до 1,307. Средние значения наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности варьируют в пределах от 0,120 до 0,183 и от 0,124 до 0,181 соответственно. Наиболее высокие значения практически всех показателей генетического разнообразия наблюдаются в группе деревьев морфотипа V, наиболее низкие – у деревьев морфотипа VII (табл. 4). Выборка деревьев с морфотипом IX при низких значениях полиморфности и среднем числе аллелей на локус характеризуется довольно высокой наблюдаемой гетерозиготностью.

Оценка степени генетической дифференциации основных семи изученных морфотипов ели аянской проводилась на основе генетических расстояний *D* (Nei, 1972), рассчитанных по частотам аллелей всех

Таблица 2. Частоты аллелей 15 изоферментных локусов в группах деревьев семи основных морфотипов ели аянской

Локус	Аллель	Морфотипы (число образцов)						
		I (24)	II (40)	III (41)	V (16)	VI (21)	VII (10)	IX (6)
<i>Got-1</i>	100	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
<i>Got-2</i>	100	0,542	0,488	0,598	0,500	0,476	0,500	0,417
	104	0,458	0,513	0,402	0,500	0,524	0,500	0,583
<i>Lap-2</i>	100	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
<i>Skdh-1</i>	80	0,354	0,438	0,341	0,438	0,357	0,400	0,417
	100	0,646	0,563	0,659	0,563	0,643	0,600	0,583
<i>Mdh-1</i>	91	0,083	0,063	0,061	0,188	0,119	0,050	0,000
	100	0,917	0,938	0,939	0,813	0,881	0,950	1,000
<i>Mdh-2</i>	100	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
<i>Mdh-3</i>	68	0,104	0,100	0,061	0,031	0,048	0,050	0,167
	100	0,896	0,900	0,939	0,969	0,952	0,950	0,833
<i>ldh-2</i>	55	0,271	0,238	0,256	0,156	0,238	0,150	0,167
	100	0,729	0,763	0,744	0,844	0,762	0,850	0,833
<i>Sod-1</i>	100	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
<i>Sod-2</i>	100	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
<i>Gdh</i>	100	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
<i>Pgm-1</i>	96	0,021	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	100	0,833	0,850	0,725	0,719	0,810	0,850	0,917
	108	0,146	0,150	0,275	0,281	0,190	0,150	0,083
<i>Pgm-2</i>	100	0,354	0,438	0,402	0,344	0,452	0,100	0,583
	105	0,646	0,563	0,598	0,656	0,548	0,900	0,417
<i>Pgi-2</i>	66	0,000	0,013	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	90	0,000	0,000	0,000	0,031	0,000	0,000	0,000
	100	1,000	0,988	1,000	0,969	1,000	1,000	1,000
<i>Hk</i>	90	0,000	0,000	0,012	0,063	0,000	0,000	0,000
	100	0,958	0,975	0,963	0,906	0,952	1,000	1,000
	110	0,042	0,025	0,024	0,031	0,048	0,000	0,000

проанализированных изоферментных локусов. Из представленных в табл. 5 данных видно, что генетическое расстояние D между группами деревьев разных морфотипов варьирует в достаточно широком диапазоне значений: от 0,001 до 0,020. Самыми близкими по генетической структуре ($D = 0,001-0,002$) оказались морфотипы I, II, III и VI. Наиболее сильно отличаются по генетической структуре друг от друга ($D = 0,020$) морфотипы VII и IX. Различия между морфотипами по генетической структуре согласуются с их различиями по форме чешуй, количественным выражением которых служат Прокрустовы расстояния (табл. 5).

Корреляция между матрицами фенотипических и генетических расстояний, рассчитанная по ранговому коэффициенту корреляции Спирмена, составляет +0,40 ($p = 0,01$). Из этого следует, что чем сильнее различия деревьев ели по форме семенных чешуй шишек, тем больше вероят-

ность генетических различий между ними.

Популяции различались по составу и частотам морфотипов. В каждой ценопопуляции представлено от 5 до 7 морфотипов по форме семенных чешуй шишек, при этом обычно доминируют 1–2 морфотипа. Отметим, что четыре из 12 морфотипов, в том числе 3 редких, встречаются только в северной группе выборок. Так, морфотип VII, генетически отличающийся от всех морфотипов по частотам аллелей локуса *Pgm-2*, обычен под вулканом Шивелуч (выборка E6) и отмечен под Ушковским вулканом (выборка E1), морфотип IV – во всех трех северных выборках (E1, E2 и E6), морфотип X – только в E1, морфотип XII – только в E2. Два морфотипа встречаются только в южной группе популяций: редкий морфотип XI – только в E4, а морфотип IX обычен только в E5 и не встречается в других популяциях. Эти фенотипические различия между южной и северной группами популяций,

Таблица 3. Результаты сравнения морфотипов ели аянской по частотам аллелей локусов *Pgm-2* и *Mdh-1*

Морфотипы	Локусы	Число аллелей	χ^2	df	<i>p</i>	Морфотипы	Локусы	Число аллелей	χ^2	df	<i>p</i>
I–II	<i>Mdh-1</i>	2	0,199	1	0,65	I–V	<i>Mdh-1</i>	2	1,905	1	0,177
	<i>Pgm-2</i>	2	0,864	1	0,35		<i>Pgm-2</i>	2	0,009	1	0,924
I–III	<i>Mdh-1</i>	2	0,235	1	0,63	I–VII	<i>Mdh-1</i>	2	0,230	1	0,631
	<i>Pgm-2</i>	2	0,298	1	0,585		<i>Pgm-2</i>	2	4,530	1	0,033
I–IX	<i>Mdh-1</i>	2	1,071	1	0,301	II–III	<i>Mdh-1</i>	2	0,002	1	0,968
	<i>Pgm-2</i>	2	2,101	1	0,147		<i>Pgm-2</i>	2	0,204	1	0,651
II–IX	<i>Mdh-1</i>	2	0,793	1	0,373	II–V	<i>Mdh-1</i>	2	4,032	1	0,045
	<i>Pgm-2</i>	2	0,894	1	0,344		<i>Pgm-2</i>	2	0,830	1	0,362
III–V	<i>Mdh-1</i>	2	4,227	1	0,040	II–VI	<i>Mdh-1</i>	2	1,170	1	0,279
	<i>Pgm-2</i>	2	0,335	1	0,563		<i>Pgm-2</i>	2	0,025	1	0,875
III–VI	<i>Mdh-1</i>	2	1,263	1	0,261	II–VII	<i>Mdh-1</i>	2	0,044	1	0,833
	<i>Pgm-2</i>	2	0,285	1	0,594		<i>Pgm-2</i>	2	7,819	1	0,005
III–VII	<i>Mdh-1</i>	2	0,035	1	0,852	V–VI	<i>Mdh-1</i>	2	0,672	1	0,412
	<i>Pgm-2</i>	2	6,525	1	0,011		<i>Pgm-2</i>	2	0,889	1	0,346
III–IX	<i>Mdh-1</i>	2	0,773	1	0,380	V–VII	<i>Mdh-1</i>	2	1,997	1	0,158
	<i>Pgm-2</i>	2	1,401	1	0,236		<i>Pgm-2</i>	2	3,900	1	0,048
VI–VII	<i>Mdh-1</i>	2	0,739	1	0,390	V–IX	<i>Mdh-1</i>	2	2,605	1	0,106
	<i>Pgm-2</i>	2	7,511	1	0,006		<i>Pgm-2</i>	2	2,072	1	0,150
VI–IX	<i>Mdh-1</i>	2	1,574	1	0,210	VII–IX	<i>Mdh-1</i>	2	0,619	1	0,431
	<i>Pgm-2</i>	2	0,641	1	0,423		<i>Pgm-2</i>	2	8,667	1	0,003

df – число степеней свободы, *p* – уровень значимости.

Таблица 4. Параметры генетической изменчивости основных морфотипов ели аянской, выделенных по форме семенных чешуй

Морфотипы (число образцов)	<i>P</i> , %	N_a	N_e	H_o	H_e	<i>F</i>
I (24)	53,3	1,600 ± 0,163	1,281 ± 0,095	0,156 ± 0,046	0,167 ± 0,051	0,022 ± 0,041
II (40)	60,0	1,600 ± 0,131	1,285 ± 0,102	0,177 ± 0,057	0,165 ± 0,052	-0,057 ± 0,019
III (41)	53,3	1,600 ± 0,163	1,286 ± 0,098	0,170 ± 0,054	0,166 ± 0,053	-0,031 ± 0,025
V (16)	60,0	1,667 ± 0,159	1,307 ± 0,098	0,183 ± 0,060	0,181 ± 0,052	0,022 ± 0,080
VI (21)	53,3	1,533 ± 0,133	1,287 ± 0,099	0,162 ± 0,052	0,168 ± 0,052	0,017 ± 0,055
VII (10)	46,7	1,467 ± 0,133	1,202 ± 0,086	0,120 ± 0,047	0,124 ± 0,045	0,024 ± 0,076
IX (6)	40,0	1,400 ± 0,131	1,252 ± 0,099	0,178 ± 0,079	0,144 ± 0,052	-0,125 ± 0,162
Среднее ± SE	52,4 ± 2,7	1,552 ± 0,054	1,272 ± 0,036	0,164 ± 0,021	0,159 ± 0,019	-0,015 ± 0,027

P – доля полиморфных локусов; N_a – среднее число аллелей на локус; N_e – эффективное число аллелей; H_o – наблюдаемая гетерозиготность; H_e – ожидаемая гетерозиготность; *F* – индекс фиксации Райта.

вероятно, могут быть следствием их генетической дифференциации в прошлом.

Показатели фенотипического и генетического разнообразия популяций приведены в табл. 6. Различия в генетическом разнообразии выборок в основном согласуются с различиями в их фенотипическом разнообразии по форме семенных чешуй. Наиболее высокий уровень генетической изменчивости и фенотипического разнообразия наблюдаются в самой южной из включенных в анализ це-

нопопуляций ели (E3), расположенных в подзоне слабых пеплопадов (табл. 6). Высокий уровень наблюдаемых гетерозиготности и фенотипического разнообразия отмечен и в другой выборке (E5) из этого района (табл. 6).

Самый низкий уровень и генетического, и фенотипического разнообразия отмечен в цепопуляции ели с подножья вулкана Ушковский (E1), которая характеризует начальный этап формирования ельника на отложениях сухой речки. На заключительном этапе формирования

Таблица 5. Генетические расстояния D (Nei, 1972) и фенотипические (Прокрустовы) расстояния между изученными морфотипами ели аянской

Морфотипы	I	II	III	V	VI	VII	IX
I	0	0,044	0,024	0,065	0,024	0,040	0,057
II	0,002	0	0,040	0,032	0,059	0,079	0,086
III	0,002	0,003	0	0,052	0,045	0,046	0,078
V	0,005	0,005	0,004	0	0,085	0,097	0,114
VI	0,002	0,001	0,002	0,003	0	0,041	0,035
VII	0,007	0,010	0,010	0,008	0,011	0	0,063
IX	0,008	0,004	0,010	0,013	0,006	0,020	0

Белая часть – фенотипические расстояния, серая – генетические расстояния D по Nei.

Таблица 6. Параметры генетической изменчивости изученных ценопопуляций ели аянской и их разнообразие по форме семенных чешуй шишек

Выборка	P, %	N_a	N_e	H_o	H_e	F	$\mu \pm S\mu$
E1	46,67	1,467±0,133	1,256±0,094	0,147±0,047	0,152±0,050	-0,007±0,034	3,621 ± 0,221
E2	53,33	1,600±0,163	1,287±0,100	0,147±0,049	0,167±0,052	0,093±0,068	4,749±0,199
E3	60,00	1,667±0,159	1,298±0,096	0,211±0,068	0,176±0,052	-0,132±0,049	5,825±0,202
E4	60,00	1,600±0,131	1,248±0,099	0,147±0,052	0,143±0,050	-0,044±0,035	4,505±0,273
E5	53,33	1,600±0,163	1,278±0,098	0,189±0,064	0,163±0,051	-0,101±0,062	4,961±0,080
E6	53,33	1,533±0,133	1,283±0,102	0,175±0,060	0,162±0,053	-0,048±0,043	3,657±0,395
Среднее	54,44	1,578±0,059	1,275±0,039	0,169±0,023	0,161±0,020	-0,043±0,021	4,553±0,836

P – доля полиморфных локусов; N_a – среднее число аллелей на локус; N_e – эффективное число аллелей; H_o – наблюдаемая гетерозиготность; H_e – ожидаемая гетерозиготность; F – индекс фиксации Райта; μ – индекс фенотипического разнообразия по частотам морфотипов, $S\mu$ – стандартная ошибка μ .

Таблица 7. Генетические расстояния D (Nei, 1972) и фенотипические расстояния между изученными ценопопуляциями ели аянской

Ценопопуляции	E1	E2	E3	E4	E5	E6
E1	0	0,608	0,581	0,701	0,631	0,709
E2	0,009	0	0,348	0,527	0,524	0,576
E3	0,005	0,013	0	0,421	0,455	0,623
E4	0,009	0,017	0,016	0	0,596	0,626
E5	0,005	0,012	0,008	0,005	0	0,538
E6	0,015	0,024	0,008	0,019	0,010	0

Белая часть – фенотипические расстояния, рассчитанные по составу и частоте морфотипов; серая – генетические расстояния D по Nei.

ельника в этих условиях (выборка E2) уровень фенотипического разнообразия выше среднего при среднем уровне генетического полиморфизма и дефиците гетерозиготных генотипов (табл. 6). Низкий уровень фенотипического разнообразия и средний уровень генетической изменчивости отмечены в выборке из ельника с подножья вулкана Шивелуч (E6), который испытывает катастрофическое вулканическое воздействие (табл. 6).

Генетические расстояния D (Nei, 1972) и фенотипические расстояния между изученными ценопопуляциями ели аянской, рассчитанные на основе показателя сходства

популяций по составу и частоте морфотипов, приведены в табл. 7. Наибольшие фенотипические отличия от других популяций отмечены для двух выборок из северной группы с подножья вулканов Ушковский и Шивелуч (E1 и E6). Выборка с вулкана Шивелуч (E6) наиболее сильно отличается от других популяций и по генетической структуре, в то время как выборка с Ушковского вулкана (E1) слабее дифференцирована от других исследованных ценопопуляций (табл. 7). Корреляция между генетическими и фенотипическими расстояниями популяций не выявлена.

Обсуждение

Отличия генетической и фенотипической структуры популяции ели аянской, произрастающей у подножья вулкана Шивелуч, объясняется сильным и длительным вулканическим воздействием. Только в голоцене для этого вулкана установлено не менее 60 крупных извержений, а в последние годы отмечается увеличение его активности и усиление интенсивности пеплопадов. В настоящее время ельники в этом районе находятся на стадии отмирания. Отмечено усыхание деревьев верхнего полога, снижается число деревьев второго яруса, сохранивших жизнеспособность. Вероятно, в этих условиях способность к семеношению сохраняют наиболее устойчивые к пеплопадам генотипы ели, что объясняет и отличия генетической структуры этой популяции, и снижение в ней фенотипического разнообразия деревьев по форме семенных чешуй шишек. Снижение и генетического, и фенотипического разнообразия, отмеченное на начальной стадии формирования ельника на отложениях сухой речки у подножья вулкана Ушковский, объясняется небольшой начальной численностью популяции и, вероятно, свидетельствует о том, что данная популяция происходит от небольшого числа родительских особей.

Ранее нами было установлено (Ветрова и др., 2014), что наиболее весомый вклад в межпопуляционную дифференциацию камчатских популяций ели аянской вносят локусы *Pgm-1* ($F_{st} = 0,085$) и *Idh-2* ($F_{st} = 0,083$). Слабые различия между морфотипами по этим локусам объясняют отсутствие связи между генетической и фенотипической дифференциацией популяций ели в проведенном исследовании.

Корреляция генетических и фенотипических расстояний между группами деревьев разных морфотипов согласуется с генетической детерминированностью признака формы семенных чешуй у ели. Достоверные различия между морфотипами ели были выявлены по двум локусам: высокополиморфному локусу *Pgm-2* и среднеполиморфному локусу *Mdh-1*.

Данные о популяционной изменчивости ели аянской, полученные на основе молекулярно-генетического анализа, в целом согласуются с данными о фенотипическом разнообразии популяций по форме семенных чешуй шишек. Высокий уровень генетического и фенотипического разнообразия характеризует стабильную популяционную структуру ели аянской вне зоны влияния вулканов. Изменения в генетической структуре и низкий уровень фенотипического разнообразия наблюдаются в пессимальных условиях произрастания при катастрофическом вулканическом воздействии.

Использование геометрической морфометрии шишек позволило дифференцировать морфотипы ели и провести количественную оценку разнообразия и сходства популяций. Этот метод расширяет возможности фенотипического подхода к анализу структуры популяций и может быть рекомендован для других хвойных. В дальнейших исследованиях взаимоотношений между фенотипами и генотипами ели необходимо расширить набор ДНК- и фенотипических маркеров.

Благодарности

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 11-04-00478-а).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях. М., 2003.
- Айала Ф. Введение в популяционную и эволюционную генетику. М., 1984.
- Ветрова В.П., Кравченко А.Н., Ларионова А.Я., Экарт А.К. Генетическая и фенотипическая изменчивость ели аянской (*Picea ajanensis*) в Центральной Камчатской депрессии. Вестн. СВНЦ ДВО РАН. 2014;3:95-105.
- Ветрова В.П., Синельникова Н.В. Фенотипическая изменчивость и дифференциация популяций *Pinus pumila* (Pinaceae) на северо-востоке ареала. Ботан. журнал. 2014;99(7):771-785.
- Животовский Л.А. Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991.
- Мамаев С.А. Формы внутривидовой изменчивости древесных растений (на примере сем. Pinaceae на Урале). М., 1972.
- Павлинов И.Я., Микешина Н.Г. Принципы и методы геометрической морфометрии. Журн. общ. биологии. 2002;63(6):473-493.
- Попов П.П. Ель европейская и сибирская. Новосибирск, 2005.
- Путенихин В.П., Шигапов З.Х., Фарушкина Г.Г. Ель сибирская на Южном Урале и в Башкирском Предуралье. М., 2005.
- Санников С.Н., Петрова И.В. Дифференциация популяций сосны обыкновенной. Екатеринбург, 2003.
- Санников С.Н., Петрова И.В. Феногеногеография популяций древесных растений: проблемы, методы и некоторые итоги. Хвойные бореальной зоны. 2007;24(2/3):288-296.
- Фролов В.Д. Внутривидовой полиморфизм и структура популяций ели аянской на территории Сихотэ-Алиня: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Владивосток, 1993.
- Guries R.P., Ledig F.T. Genetic diversity and population structure in pitch pine (*Pinus rigida* Mill.). Evolution. 1982;36:387-402.
- Nei M. Genetic distance between populations. Amer. Nat. 1972;106:283-292.
- Peakall R., Smouse P.E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Mol. Ecol. Notes. 2006;6:288-295.
- Potenko V.V. Allozyme variation and phylogenetic relationships in *Picea jezoensis* (Pinaceae) populations of the Russian Far East. Biochemical Genetics. 2007;45(3/4):291-304.
- Rohlf F.J. Programs tpsDig, version 2.16. 2010; available at <http://life.bio.sunysb.edu/morph>
- Sheets H.D. Integrated Morphometrics Programs. 2001; available at <http://www.canisius.edu/~sheets/morphsoft.html>
- Vetrova V.P. Geometric Morphometric Analysis of Shape Variation in the Cone-Scales of *Pinus pumila* (Pall.) Regel (Pinaceae) in Kamchatka. Botanica Pacifica. A Journal of Plant Science and Conservation. 2013;2(1):19-26.
- Zelditch M.L., Swiderski D.L., Sheets H.D., Fink W.L. Geometric morphometrics for biologists: a primer. N.Y.: Elsevier Acad. Press, 2004.