

УДК 630*165

Т. С. МАРКЕВИЧ¹, Д. И. КАГАН¹, С. И. ИВАНОВСКАЯ¹,
С. Н. ПРИВАЛИХИН², К. А. ШЕСТИБРАТОВ³

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА *PICEA ABIES* SUBSP. *ACUMINATA* И SUBSP. *EUROPAEA* В УСЛОВИЯХ БЕЛОРУССКОГО ПОЛЕСЬЯ И УКРАИНСКИХ КАРПАТ

¹Институт леса НАН Беларуси, Гомель, e-mail: Tatjana2002_21@inbox.ru,

²Донецкий ботанический сад НАН Украины, Донецк, Украина,

³Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Пушкино,
Российская Федерация

(Поступила в редакцию 08.08.2013)

Введение. Среди древесных пород ярким примером высокого уровня полиморфизма является ель европейская (*Picea abies* (L.) Karst.). В пределах данного вида выделено около 100 форм и разновидностей. Так, отмечены формы, различающиеся типом ветвления, строением коры, окраской стробилов, размерами шишек и типом семенных чешуй, фенологическими особенностями и др. [1]. Проведенный В. И. Парфеновым сравнительный анализ гораздо большего, по сравнению с предшественниками, числа признаков как репродуктивных, так и вегетативных органов *P. abies* позволил в определенной степени упорядочить положение таксонов этой группы [2]. В пределах *P. abies* им были выделены четыре подвида: subsp. *abies* (subsp. *europaea* (Tepl.) Nyl.), subsp. *fennica* (Regel) Parf., subsp. *alpestris* (Stein.) Nyl. и subsp. *acuminata* (G. Beck) Parf. Данные подвиды различаются по ряду морфологических признаков: опушению молодых побегов, величине и изогнутости хвоинок, размерам зрелых шишек, форме семенных чешуй и их верхнего края. Однако среди многих признаков, присущих данным подвидам, строение шишек и форма семенных чешуй рассматриваются как основные диагностические [2]. Отмеченные подвиды *P. abies* характеризуются своей географической приуроченностью к определенным регионам [1]. В целом ареал *P. abies* занимает обширные области распространения: Альпийскую, Герцинско-Карпатскую, Северо-Балтийскую [3, 4]. В настоящее время указанные территории разобщены безъельными зонами, одна из которых захватывает территорию Полесья (Бореально-Карпатская дизъюнкция). Данные области исторически были взаимосвязаны между собой, о чем свидетельствуют результаты исследований различных особенностей генезиса *P. abies* [1, 5].

Распространение *P. abies* в Полесье началось со среднего голоцена. Проникновение ее на данную территорию шло со стороны двух центров: Восточно-Европейского (*P. abies* subsp. *europaea* – тупочешуйчатые формы) и Карпатского (*P. abies* subsp. *acuminata* – острочешуйчатые формы) [1]. В отличие от Полесья в Украинских Карпатах широко распространялась *P. abies* subsp. *acuminata*, расселению же *P. abies* subsp. *europaea* способствовал антропогенный фактор [6]. Некоторые ученые в свое время отмечали, что тупочешуйчатые формы встречаются на отмеченной территории только в искусственных насаждениях [6, 7]. Следует отметить, что *P. abies* в Белорусском Полесье и Украинских Карпатах подвергается различному воздействию внешних факторов. В первом случае ее произрастание и дальнейшее распространение в основном сдерживается действием гидрологических и почвенно-климатических факторов [1], во втором – особенностями климатических факторов, обусловленных высотной поясностью: в Карпатах *P. abies* распространяется от 600 м над уровнем моря до верхней границы леса, которая проходит на высоте 1300–1600 м [6].

В настоящее время интересным является вопрос о морфолого-генетической структуре популяций *P. abies*, на особенности которых оказывают влияние различные микроэволюционные факто-

ры: изоляция, дрейф генов, естественный отбор и др. [8–10]. Однако из-за наличия безъельной зоны действие некоторых из них может проявляться только в пределах каждой изучаемой территории.

В ряде работ указано, что запас генетической изменчивости *P. abies* в популяциях Восточных Карпат несколько меньший, чем в сопредельных частях ареала [11–14]. Г. Г. Гончаренко и В. Е. Падутов отмечают, что генетическая дистанция между белорусскими популяциями *P. abies* и восточно-карпатскими составляет 0,014 [13]. Однако, несмотря на большое количество работ, посвященных сравнению генетической структуры и дифференциации популяций *P. abies* из разных областей ареала [11–18], не учитывались внутривидовые таксоны, характеризующиеся различными морфологическими особенностями. Для этого удобно использовать subsp. *europaea* (тупочешуйчатые формы) и subsp. *acuminata* (острочешуйчатые формы).

Цель исследования – популяционно-генетический анализ двух подвидов *P. abies* (subsp. *europaea* и subsp. *acuminata*) и определение степени их дифференциации в изолированных друг от друга зонах совместного произрастания.

Объекты и методы исследования. Объектом исследования явились деревья *P. abies*, относящиеся к subsp. *europaea* и subsp. *acuminata*. Генетический анализ проведен на основании использования изоферментного метода. В качестве экспериментального материала при электрофоретическом фракционировании служили ткани гаплоидных эндоспермов семян. Сбор семенного материала осуществлен в насаждениях *P. abies* юго-западной части Беларуси и Украинских Карпат. Внутривидовые таксоны *P. abies* определены по В. И. Парфенову [2].

В генетический анализ включено 120 деревьев из юго-западной части Беларуси (25 – subsp. *europaea* и 95 – subsp. *acuminata*) и 118 из Украинских Карпат (19 – subsp. *europaea* и 99 – subsp. *acuminata*).

Гомогенизация, выделение и гистохимическое окрашивание ферментов проведены в соответствии с общепринятыми методиками [19, 20] с некоторыми модификациями.

Электрофоретический анализ подвидов *P. abies*, произрастающих в юго-западной части Беларуси и Украинских Карпатах, осуществлен соответственно по 16 и 9 ген-ферментным системам (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Количество ферментов и локусов, использованных для анализа подвидов *Picea abies* (L.) Karst.

Фермент	Аббревиатура	Количество локусов, шт.	
		юго-западная Беларусь	Украинские Карпаты
Алкогольдегидрогеназа	ADH	1	2
Аспартатаминотрансфераза (глутаматоксалоацетаттрансаминаза)	AAT (GOT)	2	3
Гексокиназа	HK	1	—
Глутаматдегидрогеназа	GDH	1	1
Глюкозофосфатизомераза	GPI	1	—
Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа	G-6-PD	1	—
Диафораза	DIA	3	4
Изоцитратдегидрогеназа	IDH	2	—
Кислая фосфатаза	ACP	—	2
Лейцинаминопептидаза	LAP	2	2
Малатдегидрогеназа	MDH	3	3
Малик-энзим	ME	1	—
Сорбитолдегидрогеназа	SDH	1	—
Супероксиддисмутаза	SOD	—	2
Флюоресцентная эстераза	FL-EST	1	—
Формиатдегидрогеназа	FDH	—	1
Фосфоглюкомутаза	PGM	2	—
6-Фосфоглюконатдегидрогеназа	6-PGD	3	—
Шикиматдегидрогеназа	SKDH	1	—

По мнению ряда исследователей [21, 22], для адекватной оценки состояния генофонда природных популяций следует использовать 18 и более генов, детерминирующих различные биохимические процессы. Для изучения подвидов *P. abies* на территории Беларуси и Украинских Карпат были использованы разные наборы ген-ферментных систем, но общее количество локусов, включенных в анализ (26 – Беларусь, 20 – Украинские Карпаты), дает возможность сравнивать значения популяционно-генетических параметров.

Для анализа генетической структуры и внутривидовой дифференциации подвидов, произрастающих в юго-западной части Беларуси и Украинских Карпатах, рассчитаны в каждой выборке частоты аллелей, доля полиморфных локусов по 99%-ному критерию (P_{99}), среднее число аллелей на локус (A), средняя ожидаемая (H_e) и наблюдаемая (H_o) гетерозиготности [15, 23, 24]. Сравнение частот аллелей между выборками подвидов проведено по показателю сходства Животовского (τ) и критерию идентичности (I) [25], F-критерию Фишера с использованием ϕ -преобразования [26]. Для анализа степени генетической подразделенности подвидов *P. abies* использованы коэффициенты F-статистики Райта [27], для их статистического сравнения – критерии Пирсона (χ^2) и Фишера (F) [25, 26]. Количественная оценка степени генетических различий между подвидами проведена по методу Неи [28]. Полученные значения генетической дистанции Неи использованы в кластерном анализе, дендрограммы построены посредством невзвешенного парногруппового метода с арифметическим усреднением (UPGMA).

Результаты и их обсуждение. Для оценки генетической структуры в проанализированных выборках *P. abies* subsp. *europaea* и *P. abies* subsp. *acuminata* рассчитаны частоты встречаемости аллелей. Установлено, что большинство локусов подвидов *P. abies* как в юго-западной части Беларуси, так и в Украинских Карпатах являются полиморфными: subsp. *europaea* – соответственно 19 и 14 локусов и subsp. *acuminata* – 21 и 17. При этом в полиморфных локусах количество аллелей изменяется от 2 до 6.

Наиболее вариабельными для обоих подвидов в юго-западной части Беларуси оказались шесть локусов (Aat-2, 6-Pgd-2, 6-Pgd-3, Lap-1, Lap-2, Dia-4), – поскольку их средняя ожидаемая гетерозиготность (H_e) превышает 30 %. Локусы G-6-pd, Mdh-3, Hk, Skdh, Sdh, Pgm-2, Me, Gpi характеризуются средним уровнем полиморфизма, так как значение H_e варьирует от 6 до 30 %. Наименее изменчивыми являются Adh, Pgm-1, Idh-1, Mdh-1, Dia-1, поскольку их средняя гетерозиготность не выше 6 %. При этом такие локусы, как Idh-1 и Mdh-1, являясь полиморфными у subsp. *acuminata*, характеризуются у subsp. *europaea* мономорфизмом, а локус Dia-1, наоборот, мономорфен у subsp. *acuminata* в отличие от subsp. *europaea*. У обоих подвидов изменчивость отсутствует по четырем локусам: Idh-2, Mdh-2, 6-Pgd-1 и Dia-2. Локусы G-6-pd, Hk, Aat-1, Gdh, Fl-Est отличаются между подвидами по значениям показателей изменчивости. Изменчивость локуса Gdh у подвидов различается в 3 раза и для subsp. *europaea* составляет 0,047, для subsp. *acuminata* – 0,146. Ожидаемая гетерозиготность по локусу G-6-pd у subsp. *acuminata* (0,223) в 2,5 раза превышает таковую у subsp. *europaea* (0,086). По локусу Hk, наоборот, уровень данного показателя в 3 раза был выше у subsp. *europaea* (0,246) по сравнению с subsp. *acuminata* (0,082). Локусы Aat-1 и Fl-Est у subsp. *europaea* характеризуются средним уровнем изменчивости (0,113), а у subsp. *acuminata* – низким (соответственно 0,041 и 0,051).

Генетический анализ подвидов *P. abies* в Украинских Карпатах показал, что наиболее изменчивыми для subsp. *europaea* и subsp. *acuminata* являются локусы Aat-3, Dia-4, Asp-2, Lap-1, Lap-2, значения средней ожидаемой гетерозиготности (H_e) которых варьируют от 30 до 54 %. Локусы Aat-2, Dia-3, Adh-1, Mdh-3 характеризуются средним уровнем полиморфизма. Изменчивость Gdh, Dia-1, Dia-2, Asp-3, Adh-2, Fdh, Sod-3 низкая и не превышает 6 %. При этом локусы Gdh, Adh-2, Sod-3, являясь полиморфными у subsp. *acuminata*, характеризуются у subsp. *europaea* мономорфизмом. У обоих подвидов изменчивость отсутствует по трем локусам: Aat-1, Mdh-2 и Sod-4. Уровень изменчивости одних и тех же локусов между подвидами *P. abies* в Украинских Карпатах характеризовался сходными величинами, при этом удельная доля локусов с низким уровнем полиморфизма или его отсутствием здесь была выше (50 % от общего количества включенных в анализ локусов), чем у подвидов *P. abies* из юго-западной части Беларуси (34,6 %).

Рассчитанные показатели сходства Животовского (r) и критерия идентичности (I) по частотам аллелей для подвидов как на территории юго-западной части Беларуси ($r=0,992\pm 0,001$; $I=22,8$), так и Украинских Карпат ($r=0,991\pm 0,001$; $I=14,4$) свидетельствуют о невысоком уровне различий между subsp. *europaea* и subsp. *acuminata*. При этом попарное сравнение выборок по частотам аллелей по критерию Фишера с использованием ϕ -преобразования позволило выявить статистически значимые различия между подвидами *P. abies* юго-западной части Беларуси только по одному аллелю Idh-1^{1.00} из 64 обнаруженных ($F=4,64$ при $p<0,05$); в Украинских Карпатах достоверные различия по частотам аллелей между выборками отсутствовали.

В ходе исследования было также проведено сравнение частот аллелей subsp. *acuminata* из юго-западной части Беларуси с результатами, полученными ранее В. Е. Падутовым для белорусских популяций *P. abies* [29]. Использование subsp. *acuminata* для сравнительного анализа обусловлено размерами ее выборки, позволяющими получить более надежную оценку различий. При этом неравномерное распределение подвидов *P. abies* по территории Беларуси (доля участия subsp. *acuminata* в северных фитоценозах составляет 5–17 %, в то время как на юге страны – до 85 % [30]) позволило использовать для сравнения насаждения из северного (Витебская область) и южного (Гомельская область) регионов страны, которые в первом случае предположительно представлены subsp. *europaea*, а во втором – subsp. *acuminata* (табл. 2).

Установлено, что subsp. *acuminata* из юго-западной части Беларуси и популяции *P. abies* из Витебской области (146 деревьев) достоверно различаются между собой по 11 аллелям (табл. 2). В то же время между subsp. *acuminata* из юго-западной части Беларуси и популяциями Гомельской области (117 деревьев) статистически значимые различия выявлены только по четырем аллелям (Mdh-3^{1.15}, Skdh^{1.00}, 6-Pgd-2^{0.65}, 6-Pgd-2^{1.00}). Интересно отметить, что статистически значимые различия по аллелю Idh-1^{1.00}, выявленные между подвидами *P. abies* из юго-западной части Беларуси, были обнаружены также между subsp. *acuminata*, произрастающей в данном регионе, и популяциями *P. abies* Витебской области. Сравнительный анализ частот аллеля subsp. *acuminata* с популяциями *P. abies* Гомельской области таких различий не показал.

Т а б л и ц а 2. Сравнение выборок *Picea abies* (L.) Karst. в Беларуси по частотам аллелей исследованных локусов (критерий Фишера с использованием ϕ -преобразования)

Локус ¹	Аллель ²	Subsp. <i>acuminata</i> ³ – <i>P. abies</i> (Витебская область) ⁴		F ⁵	Subsp. <i>acuminata</i> ³ – <i>P. abies</i> (Гомельская область) ⁴		F
Idh-1	1.00	0,938	0,990	5,10*	0,938	0,958	0,40
	1.10	0,056	0,007	5,35*	0,056	0,038	0,36
Mdh-3	1.15	0,118	0,047	3,89*	0,118	0,043	4,15*
Skdh	1.00	0,948	0,990	3,88*	0,948	1,000	10,06**
	1.05	0,047	0,003	6,17*	0,047	0,000	–
6-Pgd-1	1.00	1,000	0,969	7,21*	1,000	0,991	1,89
6-Pgd-2	0.65	0,311	0,462	5,10*	0,311	0,476	5,29*
	1.00	0,689	0,521	6,27*	0,689	0,505	6,54*
Lap-1	1.00	0,816	0,691	4,91*	0,816	0,769	0,71
Me	0	0,005	0,045	4,30*	0,005	0,023	1,19
	1.20	0,038	0,004	3,72*	0,038	0,017	0,77

^{1,2} Приведены локусы и аллели, по которым выявлены статистически достоверные различия хотя бы для одной сравниваемой выборки.

³ Результаты данного исследования.

⁴ По сведениям В. Е. Падутова, 2001 [29].

⁵ F-критерий Фишера с использованием ϕ -преобразования не рассчитывался для аллелей с частотой встречаемости хотя бы в одной выборке, равной 0.

* Достоверно при $p<0,05$.

** Достоверно при $p<0,01$.

Таким образом, проведенный сравнительный анализ выборок *P. abies* на территории Беларуси, включающих большее количество особей, показал наличие различий между подвидами по ряду аллелей. По-видимому, в пределах исследуемых подвидов могут образовываться определенные аллельные сочетания по сцепленным генам, которые характеризуются малой степенью расщепления при генетических рекомбинациях и наследуются как единое целое. Так, локусы *Lap-1* и *Me*, статистически достоверно различающиеся по аллельным частотам между *subsp. acuminata* юга-запада Беларуси и *subsp. europaea* из северной части страны, находятся в одной группе сцепления (в данную группу сцепления входит также *Fl-Est*) [29]. Такая фиксация определенных комбинаций аллелей в результате действия стабилизирующего отбора может приводить к снижению генетической изменчивости признака [31], что проявляется, по нашему мнению, в виде стабильного воспроизводства в ряду поколений подвидов “тупо-” и “острочешуйчатых” фенотипов. В то же время при недостаточно сильном сцеплении локусов возможна ситуация, когда по одному из них обнаруживаются статистически значимые различия в частотах аллелей между подвидами (*Mdh-3*), а по другому – нет (*Pgm-2*). Нарушение сцепления генов в результате рекомбинации приводит к возникновению их новых сочетаний и, как следствие, появлению новой изменчивости в пределах подвидов. Свидетельством этому могут являться выделенные в рамках каждого из четырех подвидов наряду с типичными для них представителями переходные формы, близкие по ряду признаков другим подвидам [32]. Установление мест локализации в хромосомах и групп сцепления для остальных изученных нами изоферментных локусов позволит в дальнейшем оценить наследуемость аллельных комплексов.

В проанализированных выборках подвидов у *subsp. acuminata*, произрастающей как в юго-западной части Беларуси, так и в Украинских Карпатах, выявлен ряд аллелей с частотой менее или равной 1 %.

Генетическую структуру характеризует также и наличие аллелей, утративших способность экспрессироваться или кодирующих неактивную форму фермента. Такие аллели часто называют “нулевыми”. На юго-западе Беларуси они установлены только у *subsp. acuminata* (*Lap-1⁰*, *Lap-2⁰*, *Me⁰*, *Dia-1⁰*), в Украинских Карпатах – как у *subsp. acuminata* (*Lap-2⁰*, *Dia-2⁰*, *Asp-2⁰*, *Mdh-3⁰*), так и у *subsp. europaea* (*Dia-1⁰*, *Dia-2⁰*, *Asp-3⁰*). Помимо выявленных нами “нулевых” аллелей у *P. abies*, произрастающей на территории Беларуси, ранее были обнаружены также *Mdh-3⁰*, *Sdh⁰*, *Fe⁰*, *Dia-2⁰* [29], а в Украинских Карпатах – *Got-1⁰*, *Got-2⁰*, *Fdh⁰*, *Adh-1⁰*, *Lap-1⁰* [14].

Наряду с проанализированными выше генетическими показателями проведено сравнение подвидов по основным параметрам генетического разнообразия (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Значения основных показателей генетического полиморфизма *P. abies subsp. europaea* и *P. abies subsp. acuminata*

Географический регион	Подвид	P_{99}	A	H_o	H_e
Юго-западная Беларусь	<i>europaea</i>	0,731	2,077±0,891	0,164±0,013	0,171±0,013
	<i>acuminata</i>	0,731	2,077±1,017	0,173±0,007	0,169±0,007
Украинские Карпаты	<i>europaea</i>	0,700	2,000±0,918	0,176±0,017	0,170±0,017
	<i>acuminata</i>	0,850	1,900±1,071	0,130±0,007	0,152±0,007

П р и м е ч а н и е. P_{99} – доля полиморфных локусов; A – число аллелей на локус; H_o – наблюдаемая гетерозиготность; H_e – ожидаемая гетерозиготность.

Из данных табл. 3 следует, что *subsp. europaea* и *subsp. acuminata* из юго-западной части Беларуси характеризуются одинаковыми значениями доли полиморфных локусов (73,1 %) и средним числом аллелей на локус (2,077). Различия между *subsp. acuminata* и *subsp. europaea* в уровнях наблюдаемой (соответственно 0,173 и 0,164) и ожидаемой (0,169 и 0,171) гетерозиготностей также невелики и составляют менее 1 %.

Следует отметить, что наблюдаемая гетерозиготность показывает фактическое генетическое разнообразие вида, в то же время ожидаемая учитывает «скрытое» [13, 22]. Относительное равенство полученных значений гетерозиготностей для подвидов *P. abies* юго-западной части Беларуси свиде-

тельствует о соответствии закону Харди-Вайнберга, отражающему условия равновесия частоты гена в размножающейся половым путем панмиктической бесконечно большой популяции, и указывает на отсутствие нарушений свободного скрещивания между индивидами вида в исследуемом регионе.

Для подвидов, произрастающих в Украинских Карпатах, установлены большие различия по показателям генетического полиморфизма. При относительно одинаковом среднем числе аллелей на локус *subsp. acuminata* характеризуется более высокими значениями доли полиморфных локусов (85 %) по сравнению с *subsp. europaea* (70 %). В то же время значения наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготностей подвидов из Украинских Карпат у *subsp. acuminata* ниже (соответственно 0,130 и 0,152), чем у *subsp. europaea* (0,176 и 0,170). При этом если значения обоих показателей у *subsp. europaea* близки друг к другу, то у *subsp. acuminata* уровень ожидаемой гетерозиготности выше наблюдаемой.

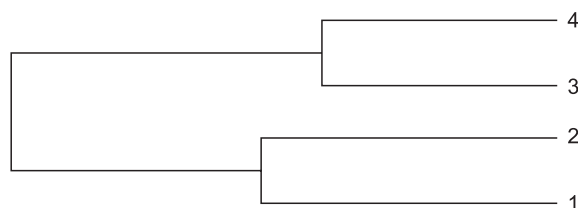
В целом сравнение между собой подвидов, произрастающих в юго-западной части Беларуси и Украинских Карпатах, показало, что значения таких показателей, как A , H_c и H_o (исключение – P) у *subsp. acuminata* из карпатских насаждений ниже, чем у *subsp. europaea* из этого же региона и обоих подвидов из юго-западной части Беларуси. Вероятно, более низкие значения показателей генетического полиморфизма, установленные для *subsp. acuminata* в Украинских Карпатах, могут быть обусловлены протекающими процессами инбридинга в условиях относительной горной изоляции, которые в популяциях могут привести к изменению гетерозиготности при сохранении сходства аллельных частот локусов [24]. Более высокие значения генетической изменчивости, установленные для *subsp. europaea* в данном регионе, могут быть обусловлены искусственным происхождением насаждений данного вида и их гибридизацией с коренными древостоями *P. abies* Украинских Карпат. Выравненность значений показателей генетического полиморфизма, установленная для подвидов *P. abies* из юго-западной части Беларуси, может быть объяснена более активно протекающими процессами переопыления между ними на данной территории по сравнению с Украинскими Карпатами.

Оценку генетической структурированности подвидов определяли посредством значений коэффициентов инбридинга особи относительно популяции (F_{IS}) и инбридинга особи относительно вида в целом (F_{IT}). Установлено, что для *subsp. europaea* юго-западной части Беларуси обнаружен значительный дефицит гетерозигот ($F_{IS}=F_{IT}=0,087$), а для *subsp. acuminata* – их некоторый избыток ($F_{IS}=F_{IT}=-0,014$). В Украинских Карпатах наблюдается противоположная ситуация, при которой для *subsp. europaea* характерен избыток гетерозигот ($-0,035$), а для *subsp. acuminata* – их недостаток (0,031). Для оценки значимости полученных значений и определения соответствия наблюдаемых результатов закону Харди-Вайнберга был рассчитан критерий χ^2 [24]. Полученные значения χ^2 ($\chi^2_1=0,19$ для $F_{IS}=0,087$; $\chi^2_2=0,02$ для $F_{IS}=-0,014$; $\chi^2_3=0,02$ для $F_{IS}=-0,035$; $\chi^2_4=0,10$ для $F_{IS}=0,031$) свидетельствуют о соответствии наблюдаемых результатов с величинами, ожидаемыми по закону Харди-Вайнберга. В то же время сравнительный анализ выборочных дисперсий значений коэффициентов инбридинга (F -критерий Фишера) обнаружил статистически значимые различия между подвидами как на территории Беларуси ($F=5,94$ при $p<0,01$), так и Украины ($F=2,51$ при $p<0,05$).

Совокупность полученных данных по изучению генетической структуры подвидов свидетельствует о том, что проанализированные выборки различаются между собой по ряду генетических параметров. На уровне генеральной совокупности (в нашем случае – еловой формации каждого исследуемого региона) такие различия могут проявляться в дефиците гетерозигот и избытке гомозигот (даже если соотношение Харди-Вайнберга выполняется в каждой выборке (эффект Валунда)) [24]. Так, в юго-западной части Беларуси значения коэффициентов F_{IS} и F_{IT} составили 0,007 и 0,012, а на территории Украинских Карпат – соответственно 0,021 и 0,024. Более высокие значения коэффициентов инбридинга, установленные для карпатских популяций, могут являться следствием их произрастания в горных условиях, где на формирование генетической структуры вида существенное влияние, в отличие от равнинных условий юго-западной части Беларуси, оказывают изоляционные процессы. Полученные данные в целом подтверждают результаты ранее проведенных исследований, указывающих на нахождение как белорусских [29], так и карпатских популяций *P. abies* [14, 33] в состоянии, близком к генетическому равновесию. В то же время для каждого из подвидов в отдельности установлен более значительный дефицит и избыток гетерозигот.

Степень генетической дифференциации, рассчитанная по коэффициенту Неи (D_N), между подвидами *P. abies* как Украинских Карпат, так и юго-западной части Беларуси составил 0,003. Одинаковые значения коэффициента Неи свидетельствуют о сходной степени дифференциации между подвидами в пределах изученных регионов, что может являться следствием интрогрессивной гибридизации между ними. Соседние популяции или даже удаленные, но в пределах «чистых» видов, обычно демонстрируют слабую дифференциацию [34]. В Польше среднее значение D_N в исследованиях дифференциации 29 популяций *P. abies* по 27 аллозимным локусам составило 0,005 [18]. В других работах при анализе более изолированных и разобщенных между собой популяций *P. abies* по 21–26 локусам значения D_N характеризовались широким диапазоном варьирования от 0,005 до 0,049 [12, 13, 16].

На основе полученных нами результатов проведен кластерный анализ выборок subsp. *acuminata* и subsp. *europaea* юго-западной части Беларуси и совокупности популяций северного (Витебская область) и южного (Гомельская область) регионов страны (рисунок).



Дендрограмма генетического сходства выборок *Picea abies* (L.) Karst. в Беларуси, построенная на основе результатов изоферментного анализа: 1 – subsp. *europaea* (юго-запад), 2 – subsp. *acuminata* (юго-запад), 3 – *P. abies* (север, Витебская область), 4 – *P. abies* (юг, Гомельская область)

Дендрограмма генетического сходства исследованных выборок показала, что, несмотря на установленные для подвидов *P. abies* особенности их генетических структур, один кластер образовали subsp. *acuminata* и subsp. *europaea*, произрастающие в юго-западной части Беларуси, в то время как популяции северного и южного регионов страны (предположительно представленные соответственно subsp. *europaea* и subsp. *acuminata*) сформировали отдельную группу. По-видимому, полученный результат объясняется тем, что доля аллелей, для которых были выявлены статистически значимые различия между подвидами, была невелика по отношению к их общему количеству, а кластерный анализ проводился для всей совокупности генетических данных. Тем не менее уровень различий между подвидами *P. abies*, произрастающими на одной территории и интенсивно переопыляющимися между собой, сопоставим и даже несколько выше, чем между популяциями вида, географически удаленными друг от друга.

Заключение. В результате проведенного изоферментного анализа *P. abies*, произрастающей в юго-западной части Беларуси и Украинских Карпат, изучена генетическая структура подвидов. Установлено, что в пределах исследуемых регионов subsp. *acuminata* и subsp. *europaea* различаются между собой по частоте встречаемости ряда аллелей и популяционно-генетическим параметрам. Выявлено, что уровень генетической изменчивости subsp. *acuminata* в Украинских Карпатах ($H_o=0,130$, $H_c=0,152$) ниже, чем у данного подвида в юго-западной части Беларуси ($H_o=0,173$, $H_c=0,169$), а у subsp. *europaea*, произрастающей на территории обоих регионов, характеризуется более сходными значениями ($H_o=0,176$, $H_c=0,170$ и $H_o=0,164$, $H_c=0,171$ соответственно). Для подвидов *P. abies* из Украинских Карпат установлены большие различия по показателям внутривидовой изменчивости, чем из Белорусского Полесья. Сравнительный анализ значений коэффициентов инбридинга обнаружил статистически значимые различия между подвидами как на территории Беларуси ($F=5,94$), так и Украины ($F=2,51$). Для subsp. *europaea* юго-западной части Беларуси выявлен значительный дефицит гетерозигот ($F_{IS}=F_{IT}=0,087$), а для subsp. *acuminata* – их некоторый избыток ($F_{IS}=F_{IT}=-0,014$). В Украинских Карпатах наблюдается противоположная ситуация, при которой для subsp. *europaea* характерен избыток гетерозигот ($-0,035$), а для subsp. *acuminata* – их недостаток (0,031). Проведенный кластерный анализ показал, что уровень различий между подвидами *P. abies*, произрастающими в одном насаждении и интенсивно переопыляющимися между собой ($D_N=0,003$), сопоставим с таковым между популяциями вида, географически удаленными друг от друга.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований в рамках договора № Б12М-076 от 15.04.2012 г. и Министерства образования и науки РФ в рамках Государственного контракта № 14.515.11.0015 от 14.03.2013 г.

Литература

1. Юркевич И.Д., Голод Д.С., Парфенов В.И. Типы и ассоциации еловых лесов (по исследованиям в БССР). Мн., 1971.
2. Парфенов В.И. // Новости систематики высших растений. 1971. Т. 8. С. 4–11.
3. Правдин Л.Ф. Ель европейская и ель сибирская в СССР. М., 1975.
4. Skroppa T. EUFORGEN Technical guidelines for genetic conservation and use for Norway spruce (*Picea abies*). Italy, 2003.
5. Пашкевич Г.А. // Український ботанічний журнал. 1962. Т. XIX, № 5.
6. Голубец М.А. Ельники Украинских Карпат. Киев, 1978.
7. Тышкевич Г.Л. Еловые леса Советских Карпат. М., 1962.
8. Hamrick J.L., Godt M.J.W., Sherman-Broyles S.L. // New Forests. 1992. Vol. 6. P. 95–124.
9. Динамика популяционных генофондов при антропогенных воздействиях / Под ред. Ю.П. Алтухова. М., 2004.
10. Larsson H. Population genetics and genome organization of Norway Spruce: PhD thesis. Sweden, 2012.
11. Гончаренко Г.Г., Потенко В.В. // Генетика. 1991. Т. 27, № 10. С. 1759–1772.
12. Krutovskii K.V., Bergmann F. // Heredity. 1995. Vol. 74, № 5. P. 464–480.
13. Гончаренко Г.Г., Падутов В.Е. Популяционная и эволюционная генетика елей Палеарктики. Гомель, 2001.
14. Коршиков И.И., Привалихин С.Н. // Генетика. 2007. Т.43, № 12. С.1627–1636.
15. Geburek T., Turok J. Conservation and management of forest genetic resources in Europe. Zvolen, 2005.
16. Giannini R., Morgante M., Vendramin G.G. // Silvae Genet. 1991. Vol. 40, № 3–4. P. 160–166.
17. Gömöry D., Fabrika M., Chudý F., Paule L. // Polish J. of Ecol. 2006. Vol. 54, № 1. P. 127–136.
18. Lewandowski A., Burczyk J. // Scandinavian J. of For. Res. 2002. Vol. 17. P. 487–494.
19. Корочкин Л.И., Серов О.Л., Пудовкин А.И. и др. Генетика изоферментов. М., 1977.
20. Гончаренко Г.Г., Падутов В.Е., Потенко В.В. Руководство по исследованию хвойных видов методом электрофоретического анализа изоферментов. Гомель, 1989.
21. Левонтин Р. Генетические основы эволюции. М., 1978.
22. Айала Ф. Введение в молекулярную и эволюционную генетику. М., 1984.
23. Eriksson G., Ekberg I., Clapham D. An introduction to forest genetics. Sweden, 2006.
24. Хедрик Ф. Генетика популяций. М., 2003.
25. Животовский Л.А. // Фенетика популяций. 1982. С. 38–44.
26. Зайцев Г.Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. М., 1984.
27. Wright S. // Evolution. 1965. Vol. 19. P. 395–420.
28. Nei M. // Amer. Naturalist. 1972. Vol. 106. P. 283–292.
29. Падутов В.Е. Генетические ресурсы сосны и ели в Беларуси. Гомель, 2001.
30. Юркевич И.Д., Голод Д.С., Парфенов В.И. // Лесная генетика, селекция и семеноводство. 1970. С. 184–190.
31. Lande R. // Evolution. 1976. Vol. 30. P. 314–334.
32. Блажевич Р.Ю., Дмитриева С.А., Парфенов В.И. и др. Флора Беларуси. Сосудистые растения: В 6 т. Мн., 2009. Т. 1. С. 131–132.
33. Привалихин С.М. Популяційно-генетичне різноманіття ялини європейської (*Picea abies* (L.) Karst.) в Українських Карпатах: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. Київ, 2008.
34. Политов Д.В. Генетика популяций и эволюционные взаимоотношения видов сосновых (сем. *Pinaceae*) Северной Евразии: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 2007.

T.S. MARKEVICH, D.I. KAGAN, S.I. IVANOVSKAYA, S.N. PRIVALIKHIN, K.A. SHESTIBRATOV

GENETIC STRUCTURES OF *PICEA ABIES* SUBSP. *ACUMINATA* AND SUBSP. *EUROPAEA* OCCURRING IN BYELORUSSIAN POLESYE AND THE UKRAINIAN CARPATHIANS

Summary

Genetic structures of *Picea abies* subsp. *acuminata* and subsp. *europaea* occurring in Byelorussian Polesye and the Ukrainian Carpathians were investigated by isozyme analysis. The study revealed statistically significant differences in frequencies for a number of alleles and several population and genetic parameter values between the *P. abies* subspecies. The level of genetic variation in subsp. *acuminata* growing in the Ukrainian Carpathians ($H_0=0.130$ and $H_c=0.152$) was found to be lower than that in subsp. *acuminata* occurring in southwestern Belarus ($H_0=0.173$ and $H_c=0.169$). The level of genetic variation in subsp. *europaea* from the Ukrainian Carpathians ($H_0=0.176$ and $H_c=0.170$) was almost identical to that in subsp. *europaea* growing in southwestern Belarus ($H_0=0.164$ and $H_c=0.171$). The intraspecific genetic variation parameter values exhibited by both *P. abies* subspecies from the Ukrainian Carpathians differed more substantially than those exhibited by the *P. abies* subspecies from Byelorussian Polesye. Cluster analysis demonstrated that the level of differentiation between the *P. abies* subspecies occurring in the same stand wherein intensive cross-pollination took place was comparable with that between geographically remote populations.