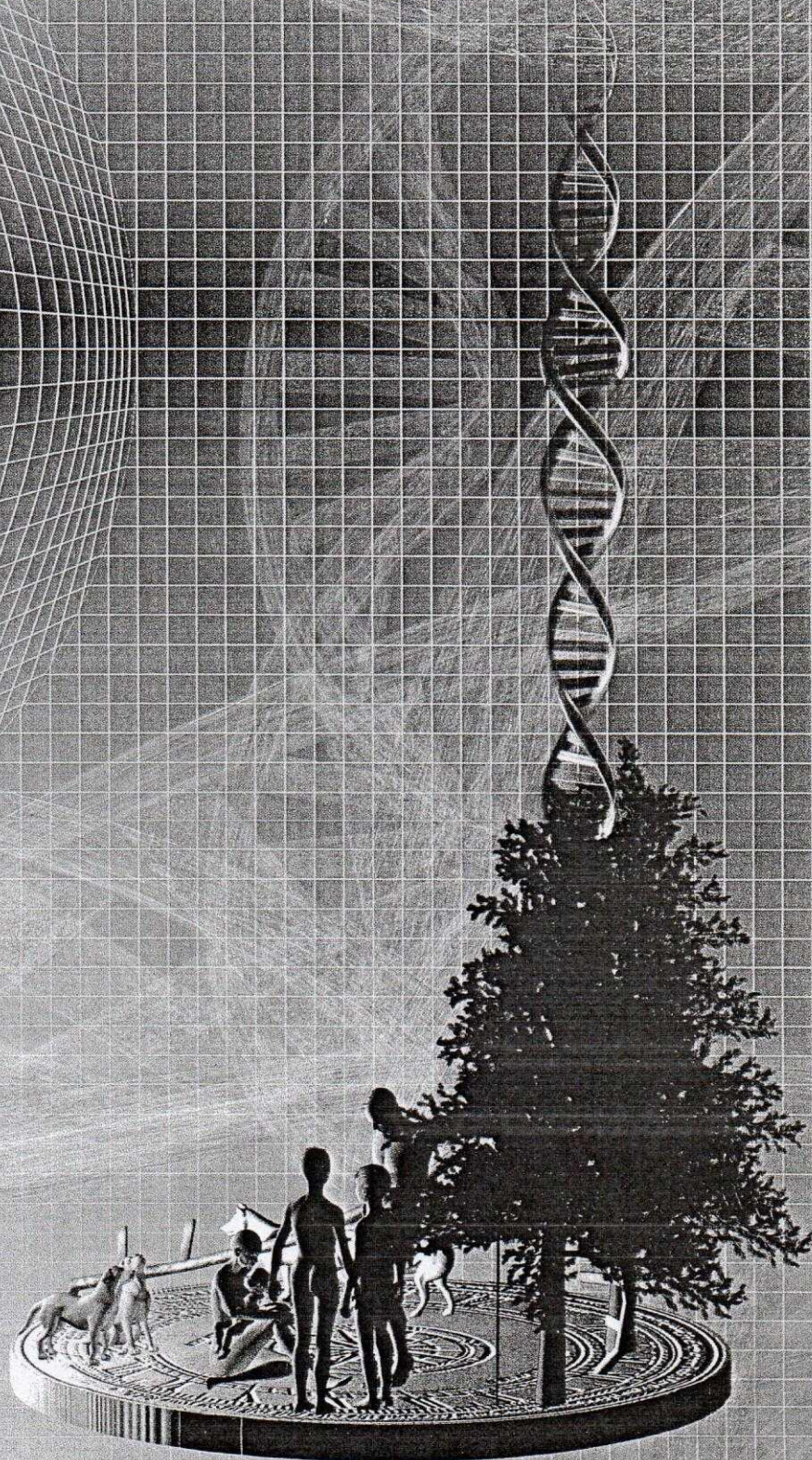


# ДИНАМИКА ГЕНОФОНДОВ



2008

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК

ПРОГРАММА ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ РАН № 11

**«БИОРАЗНООБРАЗИЕ И ДИНАМИКА ГЕНОФОНДОВ»**

**Подпрограмма II «ДИНАМИКА ГЕНОФОНДОВ»**



**Материалы отчетной конференции**

**Москва, 2008**

**ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ ЦЕННЫХ,  
РЕДКИХ И МОДЕЛЬНЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ И ЖИВОТНЫХ РОССИЙСКОГО  
ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА:  
ГЕНЕТИКА РЕДКИХ РАСТЕНИЙ**

Журавлёв Ю.Н., Реунова Г.Д., Корень О.Г., Козыренко М.М., Артюкова Е.В., Музарок Т.И., Холина А.Б., Наконечная О.В., Хроленко Ю.А., Горпенченко Т.Ю., Кац И.Л., Адрианова И.Ю., Васюткина Е.А.

*Биолого-почвенный институт ДВО РАН, Владивосток*

Исследована генетическая и онтогенетическая структура природных популяций *Panax ginseng* (Araliaceae), изучена система размножения женьшеня. Анализ с участием флуоресцентно меченых микросателлитных маркёров показал уровень генетической изменчивости женьшеня, более высокий в сравнении с аллозимным анализом. Среднее число аллелей на локус было 1.076 и 1.857, доля полиморфных локусов – 7.6% и 85.71%, генетическое разнообразие – 0.023 и 0.259, соответственно (табл. 1). Тест на дифференциацию выявил высокую дискриминирующую способность микросателлитных маркёров, превышающую таковую для RAPD, ISSR и AFLP маркёров, и показал генетическую гетерогенность популяций женьшеня. Показатели генетической изменчивости свидетельствуют о реколонизации Сихотэ-Алиня растениями женьшеня из южных рефугиумов во время потепления климата в раннем Голо-

**Таблица 1.** Генетическая изменчивость популяций *Panax ginseng* по результатам SSR анализа

| Популяции               | $p^*$ | $n_a$  | $n_e$  | $h$    | $G_{ST}$ |
|-------------------------|-------|--------|--------|--------|----------|
| Сихотэ-Алиньская (n=20) | 50    | 1.5000 | 1.2713 | 0.1546 |          |
| Синегорская (n=19)      | 71.43 | 1.7143 | 1.4690 | 0.2787 |          |
| Хасанская (n=18)        | 35.71 | 1.3571 | 1.2319 | 0.1386 |          |
| Суммарная выборка       | 85.71 | 1.8571 | 1.4417 | 0.2591 | 0.2608   |

$p$  - Доля полиморфных локусов;  $n_a$  - число аллелей на локус;  $n_e$  - эффективное число аллелей на локус;  $h$  - генетическое разнообразие по Нью;  $G_{ST}$  - показатель межпопуляционной генетической дифференциации.

цене.

Анализ возрастной структуры популяций женьшеня показал, что все популяции являются нормальными неполночленными, так как отдельные возрастные группы слабо представлены или отсутствуют. Во всех популяциях преобладают виргинильные и генеративные растения. Это означает, что популяции жизнеспособны и реинтродукция природных популяций возможна.

Исследована способность растений женьшеня к перекрёстному опылению и самоопылению. Подтверждено допущение, что растения *P. ginseng* являются факультативными апомиктами. Показано, что репродуктивная система женьшеня высоко пластична, что обеспечивает выживаемость растений в стрессовых условиях.

В отличие от *P. ginseng*, у которого генетический полиморфизм по данным RAPD и ISSR анализов был низким ( $p = 4.0\%$  и  $9.33\%$ , соответственно), популяции *Oplopanax elatus* (Araliaceae), исследованные этими маркёрами, характеризовались более высоким уровнем

изменчивости ( $p = 32.89\%$  и  $43.24\%$ , соответственно). Тест на дифференциацию популяций показал их генетическую однородность. Из трёх исследованных наиболее изменчивой была Шкотовская популяция (Шкт), а наименее изменчивой – Хасанская (Хас). Чугуевская популяция оказалась генетически удалённой от Шкт и Хас популяций. Большая часть генети-

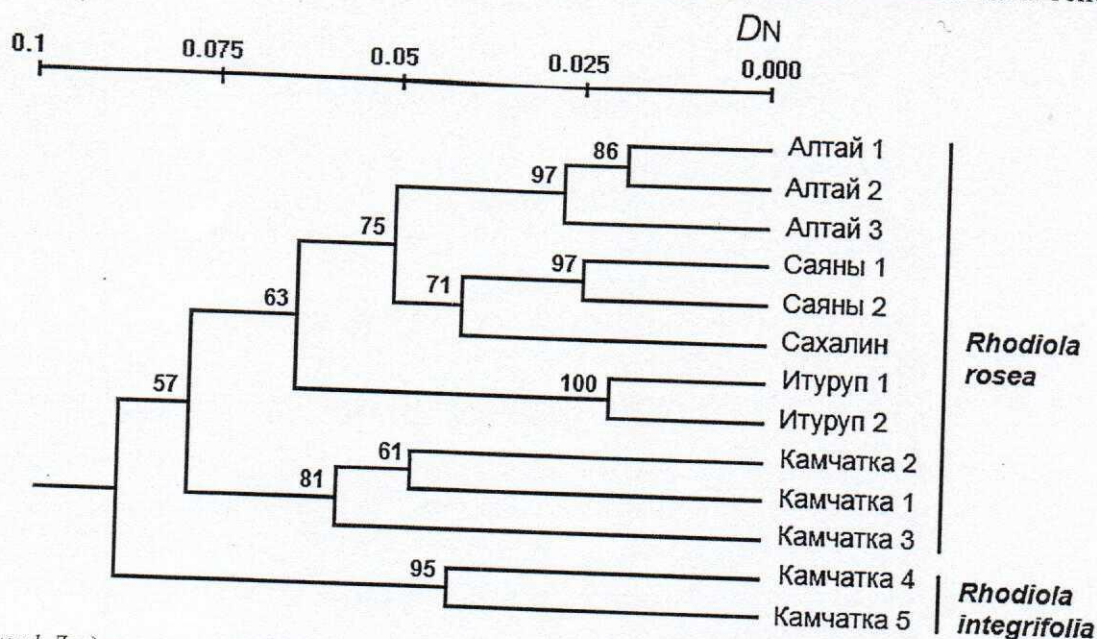


Рисунок 1. Дендрограмма генетических взаимоотношений между популяциями *Rhodiola rosea* и *R. integrifolia*, построенная по данным анализа 236 ISSR-локусов. Цифры над ветвями – индекс бутстрэпа, %.

ческой изменчивости (как и у *P. ginseng*) сосредоточена внутри популяций.

Продолжены исследования генетической изменчивости и популяционной структуры представителей семейства Crassulaceae *Rhodiola rosea* (Алтай, Саяны, Камчатка, о. Сахалин, о. Итуруп) и *Rhodiola integrifolia* (п-ов Камчатка) с участием ISSR маркёров. Доля полиморфных локусов ( $P$ , %) изменялась от 24.1% до 63.6%. На внутривидовую компоненту у *R. rosea* приходится около 70% генетической изменчивости, а у *R. integrifolia* – 84%. Генный поток, рассчитанный на основе значений  $G_{ST}$ , составил 1.2 и 2.5 мигранта на поколения у *R. rosea* и *R. integrifolia*, соответственно. Межпопуляционные дистанции у *R. rosea* варьировали от 0.0190 до 0.0973, а между двумя популяциями *R. integrifolia*  $DN = 0.0427$ . Наибольшей генетической удаленностью от всех других исследуемых популяций *R. rosea* характеризуются популяции с п-ва Камчатка (рис. 1).

Продолжено изучение популяционно-генетической структуры трех дальневосточных видов рода *Juniperus*: проведен RAPD анализ генетической изменчивости популяции *J. rigida* (произрастающей у северной границы ареала вида), трех популяций *J. dahurica* и двух популяций *J. sibirica*. Наибольшей изменчивостью характеризовались популяции *J. dahurica* ( $P_{95\%} = 81.4\%$ , среднепопуляционное генное разнообразие,  $HS = 0.211$ ), в популяциях *J. sibirica* и *J. rigida* генетическая изменчивость была ниже ( $P_{95\%} = 42.1\%$ ,  $HS = 0.153$  и  $P_{95\%} = 39.3\%$ ,  $HS = 0.155$ , соответственно). Кластерный анализ методом UPGMA показал что растения *J. sibirica* и *J. rigida*, относящиеся к одному подроду, с высокой достоверностью (индекс бутстрэпа 98%) формируют один общий кластер. На основании анализа молекулярной

из немногих сохранившихся репродуктивных особей. Это предположение согласуется с результатами тестов на смешение популяционного равновесия влестствие дрейфа генов (с помощью программы "Bottleneck", табл. 2). Из трех используемых тестов, в популяциях Нежинка и Ананьевка избыток генов разного разнообразия достоверно показали два теста, в популяциях Малая Борисовка и Малая Ананьевка – только один тест. Кроме того, качественный индикатор ("mode-shift" indicator), который позволяет отличать популяции, прошедшие через "бутылочное горлышко", от стабильных популяций, указывает на смешение равновесия в

Примечание: \* – достоверность  $p < 0.010$ .

|                 |                                    |                                                        |                                                |                        |
|-----------------|------------------------------------|--------------------------------------------------------|------------------------------------------------|------------------------|
| Популяция       | Sign test (Cornuet, Luikart, 1996) | Standardized differences test (Cornuet, Luikart, 1996) | Wilcoxon sign-rank test (Luikart et al., 1997) | "mode-shift" indicator |
| Нежинка         | + 0.010*                           | + 0.005*                                               | + 0.016                                        | наличие отклонения     |
| Ананьевка       | + 0.010*                           | + 0.004*                                               | + 0.016                                        | наличие отклонения     |
| Малая Борисовка | + 0.284                            | + 0.008*                                               | + 0.078                                        | равновесие             |
| Малая Ананьевка | + 0.031                            | + 0.003*                                               | + 0.031                                        | наличие отклонения     |

Таблица 2. Достоверность избытка (+) или недостатка (-) генов разного разнообразия в популяциях *Aristolochia manshuriensis* по трем тестам на основе множественной аллельной модели IAM (Maruyama, Fuerst, 1985)

Продолжены исследования генетической структуры *Aristolochia manshuriensis*. Впервые была исследована популяция вдоль р. Малая Ананьевка и проанализирована популяция цинно-генетическая структура всех четырех популяций на территории России. В популяциях Малая Ананьевка выявлен невысокий уровень полиморфизма, основные показатели ниже, чем в 3 других ранее исследованных популяциях *A. manshuriensis*, в то время как наблюдается гетерозиготность выше ( $H_o = 12\%$ ). Тест на дифференциацию показал отсутствие подразделения в популяции Малая Ананьевка, что может объясняться 2 причинами: либо до

вырубок эта популяция была непрерывна, либо после вырубок популяция восстанавливалась и O. hidakatomata ( $P = 14.3\%$  для обоих видов) and O. calcaratum ( $P = 47.6\%$ ), минимальный – у эндемичных курильских видов O. retusa и O. retusa. Наиболее высокий уровень полиморфизма установлен для тетра-Проведен анализ изоферментов растений 3 редких и эндемичных видов рода *Oxycodon*: *O. retusa*, *O. hidakatomata*, *O. calcaratum*. В ходе аллозимного анализа использовали

гетерогенность исследованных образцов. лиз PCR-продуктов с использованием 15 ферментов также не показал генетическую ции, исследованные эти маркирами, были генетически однородны. Рестрикционный анализ ал, 2005), matf-inton1 (Qiu et al., 1999), nad5-inton1 (Jaramillo-Cortea et al., 2003). Популяция тохондримальных маркеров nad5(1-2r) (Dumolin-Lapeque et al., 1997), UBC460 (Semerikov et *L. olgensis*, а также нескольких популяций лиственниц из Приморского края, с помощью ми-Выполнен популяционно-генетический анализ лиственниц *Larix gmelinii*, *L. sibirica*,

условлена различиями внутри популяций. вариансы (AMOVA) установлено, что большая часть генетической изменчивости видов об-

трех популяциях: Нежинка, Ананьевка и Малая Ананьевка. Таким образом, результаты анализа позволяют говорить о равновесном состоянии только популяции Малая Борисовка, демонстрируя в остальных популяциях смещение популяционного равновесия в сторону дрейфа генов, связанное с недавним сокращением численности.

Изучены особенности репродуктивной биологии *A. manshuriensis* и *O. chankaensis*. Цветки *A. manshuriensis* протогиничны. Секрет на рыльце появляется за 1 нед до раскрытия венчика. К моменту отгибания лопастей околоцветника пыльники плотно сомкнуты. Пыльники раскрываются на 2–3-и сутки после раскрытия бутона, в это время рыльце еще остается восприимчивым. Среднее соотношение пыльцевых зерен к количеству семязачатков составляет 110.

Опылители. У *A. manshuriensis* выявлен низкий процент плодообразования (2%), что, очевидно, сказывается на способности вида к расселению и ведет к фрагментации его ареала и уменьшению генетического разнообразия. Наличие подходящих опылителей может быть одним из факторов, определяющих успешность плодоношения. Наиболее массовыми семействами насекомых, посещающих цветки, были Anthomyiidae (51%) и Chloropidae (17%) (Diptera). Представители семейства Anthomyiidae принадлежат к 9 родам и 10 видам. Все обнаруженные потенциальные опылители *A. manshuriensis* являются полинофагами, специфических опылителей кирказона не обнаружено. Отсутствие специфического опылителя для сложно приспособленного к перекрестному опылению вида снижает эффективность опыления и оплодотворения, и возможно, является одной из причин постепенного сокращения территории, которую пока еще охватывает вид.

Растения *O. chankaensis* в зрелом генеративном состоянии развивают большое количество многоцветковых кистей, значительно различающихся по количеству цветков. Эффективность плодообразования *O. chankaensis* в исследованных популяциях была довольно высокой (табл. 3).

Таблица 3. Эффективность плодообразования *Oxytropis chankaensis*

| Популяция | Число соцветий   | Число цветков      | Число цветков     | Число плодов     | Процент плодообразования, % |
|-----------|------------------|--------------------|-------------------|------------------|-----------------------------|
|           | на особь         | на особь           | на побег          | на побег         |                             |
|           | 41.9±3.7<br>39.3 | 396.7±32.9<br>37.1 | 9.3±0.5<br>26.70  | 7.7±0.4<br>27.90 | 82.8                        |
|           | 26.2±2.4<br>42.4 | 208.1±16.3<br>35.9 | 10.2±0.4<br>17.40 | 7.7±0.3<br>20.30 | 75.5                        |

Примечание. Над чертой  $X_{\text{ср}} \pm$  ошибка, под чертой  $S_V$ .

Полученные результаты, при сравнении с образованием плодов в изолятах, показывают преимущество аллогамного опыления у остролодочника ханкайского. Высокая семенная продуктивность *O. chankaensis* наряду с механизмами, поддерживающими рекомбинацию и обмен генами (преобладание перекрестного опыления), обеспечивает надежное самовозобновление вида в естественных условиях.