

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПРИРОДНЫЙ ЗАПОВЕДНИК "ШУЛЬГАН-ТАШ"
СИБАЙСКИЙ ИНСТИТУТ БАШКИРСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА
БОТАНИЧЕСКИЙ САД-ИНСТИТУТ УФИМСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА РАН
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ УФИМСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА РАН
ИНСТИТУТ БИОХИМИИ И ГЕНЕТИКИ УФИМСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА РАН

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СОХРАНЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ



ББК 28.04

Я 60

УДК 5 75.17 + 575.22

Генетические аспекты сохранения биологического разнообразия.
-Уфа: БГУ, 2000. - 108 с.

ISBN 5-86759-083-6

Авторский коллектив: Янбаев Ю.А., Косарев М.Н. (ответственные редакторы), Бахтиярова Р.М., Габитова Д.М., Галеев Э.И., Ганиев Р.М., Исангулова, Канчурин М.Н., Коновалов В.Ф., Кулагин А.Ю., Мухаметзянова К.Ф., Николенко А.Г., Редькина Н.Н., Садыков Х.Х., Саттаров В.Н., Урманцева З.Ф., Федоров Н.И., Юмагужин Ф.Г., Юмагужина Н.С.

В данной коллективной монографии даются результаты изучения генофонда лесообразующих видов, лекарственных растений и бурзянской бортевой пчелы. Подводятся итоги многолетних совместных исследований, направленных на сохранение на Южном Урале генетического разнообразия популяций, как основы биологического разнообразия региона.

Монография рекомендуется для научных работников и специалистов в области лесного хозяйства, генетики и селекции, охраны природы, а также студентов биологических и лесохозяйственных факультетов.

Табл. 44. Ил. 17. Библиогр.: 143 назв.

ОТВЕТСТВЕННЫЕ РЕДАКТОРЫ
к.б.н. Янбаев Ю.А., к.с.-х.н. Косарев М.Н.

РЕЦЕНЗЕНТ
проф. Янтурин С.И.

ISBN 5-86759-083-6

© Башкирский государственный
университет, 2000
© Сибайский институт
Башкирского государственного
университета, 2000

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ.....	4
Глава 1. Генетические маркеры и сохранение генетического разнообразия популяций.....	8
Глава 2. Генетическое разнообразие популяций лесных древесных растений.....	15
2.1. <i>Сосна обыкновенная</i>	15
2.2. <i>Ель сибирская</i>	19
2.3. <i>Дуб черешчатый</i>	27
2.4. <i>Клен остролистный</i>	33
2.5. <i>Береза повислая</i>	48
2.6. <i>Осина</i>	54
2.7. <i>Осокорь</i>	65
Глава 3. Генетические исследования бурзянской бортевой пчелы.....	71
3.1. <i>Состояние генофонда пчелы заповедника “Шульган-Таш”</i>	71
3.2. <i>Генетическое разнообразие бурзянской популяции пчелы медоносной</i>	77
Глава 4. Популяционно-генетическое изучение травянистых растений.....	86
4.1. <i>Морфологические особенности <i>Delphinium dictyocarpum</i> на территории заповедника “Шульган-Таш”</i>	86
4.2. <i>Популяционная структура <i>D. elatum L.</i> на Южном Урале</i>	90
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	98

ПРЕДИСЛОВИЕ

В последние годы быстрыми темпами развиваются дисциплины, связанные с сохранением биологического разнообразия. "Conservation biology" вырастает в самостоятельную отрасль знаний из раздела таких дисциплин, как экология, эволюционная биология, популяционная генетика и т.д. Основной причиной этого феномена является то, что на Земле угрожающими темпами уменьшается видовое богатство. Осознание мировым сообществом остроты проблемы привело к востребованности исследований биоразнообразия, их трансформации из "чисто академических" в науки, имеющие прикладное значение. В настоящее время растет понимание того, что недостаточно сохранить вид как таковой, как коллекцию особей. Нужно сохранять популяции, как сложившиеся в течение длительного времени "эволюционные единицы", не потерявшие способность к устойчивому самовоспроизводству. Не в последнюю очередь эта способность зависит от генетического разнообразия популяций, определяющего потенциал к адаптации.

Южный Урал является удобным полигоном для изучения генетических аспектов сохранения биологического разнообразия. Он расположен на границе Европы и Азии на стыке климатических поясов (boreального и суббореального). По его территории проходит восточная граница ареала ряда широколиственных пород. Здесь наблюдается огромное разнообразие природно-климатических условий, на небольшой площади сосуществуют степи и лесостепи, лесные, таежные, субальпийские и тундровые ландшафты. Растительность Южного Урала прошла сложную историю развития. Все это обуславливает значительную пестроту условий, что не может не отразиться на особенностях популяционной структуры лесообразующих видов. На Южном Урале, особенно в Республике Башкортостан, имеется большое число особо охраняемых территорий. Природа в них сохранились в относительно нетронутом виде и, таким образом, есть возможность изучения генетического разнообразия на территориях, особо не трансформированных вмешательством человека. Не случайно каждый из изученных нами видов представлен выборками заповедника "Шульган-Таш".

В настоящей монографии представлены многолетние результаты коллектива авторов из различных научных институтов и ведомств Республики Башкортостан, изучающих различные объекты и применяющих для этого разные методы. Общей идеей является понимание того, что без знания особенностей формирования и поддержания генетического уровня биоразнообразия популяций невозможно сохранение биологического разнообразия в целом. Глава 1 посвящена обоснованию этого положения.

В Главе 2 приведены результаты исследований, проведенных совместно с моими аспирантами и коллегами из других организаций во время работы в Уфимском научном центре РАН. Работа по изучению генетического разно-

образия лесных древесных растений начата в середине 80-х годов, когда профессором Н.В. Старовой были заложены основы научной школы популяционной генетики. Как один из первых учеников, я выражаю ей искреннюю признательность за труд и терпение. Хотел бы благодарностью отметить дружескую поддержку сотрудников Ботанического сада-института УНЦ РАН на всех этапах исследований. Среди них выделяю директора, к.б.н. З.Х. Шигапова и д.б.н. В.П. Путенихина (под общим руководством которого по гранту NYP300 Международного научного фонда Д. Сороса выполнялась часть исследований, представленных в Главе 2).

Сохранение генофонда уникальной бурзянской бортевой пчелы в Башкортостане относится к задачам, имеющим общемировое значение. Сотрудники заповедника "Шульган-Таш" на протяжении многих лет в содружестве с исследователями из научных институтов УНЦ РАН проводятся исследования, направленные на сохранение этой уникальной популяции (Глава 3). В последнее время эта работа получила финансовую поддержку со стороны Глобального Экологического Фонда (Global Environment Facility Trust Fund). Монография издана на средства гранта TF 028315 "Содействие стабилизации популяции дикой медоносной пчелы".

Обширные исследования внутривидовой структуры лекарственных растений проводятся в Институте биологии УНЦ РАН. В Главе 4 приведены некоторые из результатов исследований популяционной изменчивости лекарственных растений к.б.н. Н.И. Федорова и его учеников. Я выражаю большую благодарность директору, профессору Р.Н. Чураеву, который в течение трех лет привлекал меня к этой работе в качестве сотрудника института.

Особую признательность выражаю доктору Герхарду Айхенбергеру (Швейцария), без помощи которого были бы невозможны исследования по некоторым разделам монографии. Нельзя не упомянуть доктора Хайке Хертель (Германия), которая в течение многих лет любезно обеспечивала авторов монографии новинками зарубежной научной литературы. Мы также благодарны директору Сибайского института БГУ З.Г. Ярмухаметову, оказавшему существенную помощь при издании монографии.

Авторы надеются, что в свете предпринимаемых руководством Башкортостана усилий по природоохранной деятельности приведенные в монографии результаты и выводы будут востребованы для развития сети особо охраняемых территорий, сохранения генофонда особо ценных популяций, рационального использования природных ресурсов и учебно-просветительской работы.

Ю.А. Янбаев, автор и ответственный редактор.

PREFACE

In the recent years certain fields of science concerned in conservation of biological diversity have developed at rapid rates. «Conservation biology» has grown into a separate branch of science. The basic factor causing the emergency of the given phenomenon is biological species' diversity diminishing at threatening rates. The world community being conscious of the vitality of the problem, scientific research on biological diversity has transformed out of pure «academic» into practical and applicable to real life. At present it is undisputed that preservation of biological species as a collection of separate individuals is not sufficient. Beyond doubt, populations should be treated as «evolutional units» developing within a long period of time and capable of regular self-reproduction. As not as often this capability depends on the genetic diversity of populations, determining their adaptive potentials.

The Southern Urals is considered to be a convenient testing area for the study of genetic factors of biological diversity conservation. It serves as a borderline between Europe and Asia forming a junction of climatic zones (boreal and subboreal). The eastern border of some broad-leaved tree species areal stretches along its territory. It also boasts of a great variability of natural and climatic zones neighbouring on a small-sized piece of land: steppes and forest-steppes, forests, taiga, subAlpine and tundra landscapes. The flora of the Southern Urals underwent different history of development. The above mentioned factors predetermine a considerable diversity of environmental conditions, specifying population structure of forest-composing species. There exist quite a number of reserves in the South Urals, especially in Bashkortostan. The conditions here are favourable for the general study of genetic diversity in the like territories unchanged by a man's activity. It is not accidental either that each of the studied species is represented by samples from the reserve of «Shulgan-Tash».

The monography presents the results of many years' research pursued by a group of scientists from different scientific institutes and organizations of the Republic of Bashkortostan, who specialize in different fields of science and apply various methods. Common to all is awareness that it is impossible to preserve biological diversity in the region without knowing the peculiarities of populations genetic diversity formation. Chapter 1 is devoted to the verification of this position.

Chapter 2 deals with the results of the research conducted in close partnership with my aspirants and colleagues from other departments at the time of my work in Ufa Scientific Centre of Russia Academy of Science (USC RAS). The starting point of the research on genetic diversity of forest trees is related to the middle of the 80-s, when professor N. V. Starova laid the foundation of the bashkirian school in the field of population genetics. As one of her first aspirants I appreciate greatly

her readiness to help and her patience. I also would like to gratify sincerely the staff of the Botanical Garden-Institute of USC RAS for friendly support at all stages of the research. My special thanks are to the Director, Dr Z. Shigapov and Doctor of Biology V. P. Putenikhin (under his guidance part of Research Chapter 2 was conducted on the Grant NYP 300 of International Scientific Fund, ISF).

The preservation of the unique Burzyan wild bee gene pool in Bashkortostan is considered to be the task of world-wide significance. The staff of the reserve "Shulgan-Tash" in close cooperation with the specialists from the Scientific Institutes of USC RAS pursue the research on preserving in wild this unique population. Of late the project has been financially supported by Global Environment Facility Trust Fund. The monography has been published at the cost of the Grant TF 028315.

Thorough research of medicinal herbs population structure is underway at the Institute of Biology of USC RAS. Chapter 4 provides some data on medicinal herbs population variability by Dr. I. Fedrov and his aspirants. I express my gratitude to the Director-Professor R. N. Churayev, who had engaged me for a three years period of work as a member of the Institute staff.

I am very grateful to Dr Gerhard Eichenberger – without his help the research on some parts of the monography would hardly be completed. My acknowledgements are to Dr Heike Hertel (Germany) who for many years had provided me with copies of new foreign journals in the field of genetics.

Our special thanks are to the Director of Sibai Institute of Bashkir State University Z. G. Yarmukhametov who offered a helping hand in publishing the monography.

Praiseworthy is the fact that the leadership of Bashkortostan is concerned with the problem of nature protection. The authors of the monography are hopeful that the data presented in the monography will prove applicable for reserves network development, unique populations conservation, natural resources rational use and comprehensive educational work.

Yu. A. Yanbaev,
Author and Head Editor.

ГЛАВА 1. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ И СОХРАНЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ПОПУЛЯЦИЙ¹

Сохранение генетического разнообразия в прошлые десятилетия в основном было актуальным для сельскохозяйственных растений и животных, а также видов, уже находящихся под угрозой вымирания. В последние несколько десятилетий возникло глобальное понимание проблемы, в первую очередь из-за катастрофического ускорения исчезновения видов и антропогенной трансформации окружающей среды. Сохранением биоразнообразия занялись не только ученые и природоохранные организации, но также различные политические институты. В качестве примеров можно привести конференцию министров по сохранению лесов (Франция, 1990; Финляндия, 1993), конференцию ООН по проблемам окружающей среды (Рио де Жанейро, Бразилия, 1992), конференцию ФАО по растительным генетическим ресурсам (Германия, 1996) и др. На этих форумах были разработаны соответствующие программы, принят на вооружение "Глобальный план действия". Разработка стратегических подходов для решения проблемы становится предметом многочисленных исследований в большинстве развитых стран (Колесников, 1979; Эрлих, 1983; Iroshnikov et al., 1989; Мамаев и др., 1994; и др.). Ширится понимание того, что недостаточно сохранение только видового богатства, а необходимо сохранение также и генетического разнообразия, как его основы.

Громадность территории России обусловила сохранение части девственных лесов, особенно на ее востоке. Несколькими поколениями исследователей была проведена огромная работа по изучению внутривидовой изменчивости большого числа видов. Их труд является основой для разработки мероприятий по сохранению генетического разнообразия.

Методы сохранения генофонда растений разделяются на три группы (Мамаев и др., 1994). Первая группа предполагает создание банка семян, пыльцевых зерен, отдельных вегетативных частей растений (1). Другая группа методов (2) предусматривает сохранение отдельных частей популяций в специальных посадках (в ботанических садах, дендрариях, опытных культурах, архивах клонов и др.), в которых выращивается ограниченное число генотипов. Сюда же можно отнести и сохранение элитных деревьев в естественных насаждениях. Эти две группы методов, видимо, малоперспективны в ближайшем будущем из-за слабой разработанности ряда технологических и теоретических проблем, дороговизны и невозможности сохранения в ограниченной выборке достаточной части генофонда популяций. Поэтому в настоящее время, особенно в условиях России, наиболее перспективным методом при-

¹ Янбаев Ю.А., Косарев М.Н.

знается сохранение генофонда в природной среде обитания лесообразующих растений (3). При этом достигаются следующие цели: сохраняется естественный режим воспроизведения генофонда и генетического разнообразия, лесообразовательный процесс идет естественным путем, есть возможность сохранения значительной части генетической изменчивости видов, отсутствуют значительные затраты средств и времени (Мамаев и др., 1994).

Недавно (Beim et al., 1997) в концепции сохранения лесных генетических ресурсов Германии также были проанализированы преимущества и недостатки этой группы методов. Во главу угла были поставлены эффективность, достижимость поставленных целей и стоимость работ. Действительно, представляется, что меры *in situ* обеспечивают лучшее сохранение генофонда из-за того, что включают наибольшее число локально адаптированных популяций. Соответствующие технологии хорошо разработаны и выполняются при обычной лесохозяйственной деятельности. Для каждого из местных и интродуцированных видов были предложены способы сохранения генофонда, при этом определены приоритетность вида по классам и способы сохранения (деревьев в насаждениях, при помощи естественного возобновления, выращиванием лесных культур *in situ* и *ex situ*, использованием лесосеменных и клonalных плантаций, созданием архива клонов, хранением семян, пыльцы и частей растений, использованием микро- и макровегетативного размножения). В настоящее время 7 видов в Германии обладают наибольшим приоритетом при сохранении генофонда, хотя при изменении условий число приоритетных видов может быстро измениться. Могут быть и региональные приоритеты.

В отличие от многих дикорастущих травянистых и культурных растений, для древесных пород наиболее важным является не сохранение видов (за некоторым исключением), а сохранение их внутривидового разнообразия. Важно сохранить вид не просто как таксон, а совокупность популяций (Мамаев и др., 1988) со всем их генетическим разнообразием. Следовательно, для сохранения генетического разнообразия древесных видов актуальным является определение величины охраняемой территории. Эта величина должна быть оптимальной с биологической точки зрения и разумной – с экономической стороны.

Формально в качестве критерия для определения размера охраняемой территории можно использовать термин “минимальная жизнеспособная популяция” – популяция, способная существовать в заданный отрезок времени (число поколений) с заданной вероятностью. Большую роль в определении величины минимально жизнеспособных популяций сыграли теоретические генетико-популяционные исследования. Опыты по компьютерному моделированию показали, что численность минимально жизнеспособных популяций может составлять 500-1000 особей. Если заложить в программу информацию об изменчивости среды местообитания и другие (например, демографические) параметры, эта цифра увеличивается до 1000 – 5000. Данные о допус-

тимом уровне инбридинга в популяциях подтверждают результаты моделирования. В отношении инbredной депрессии виды сильно отличаются друг от друга, но общим мнением является то, что наличие в репродуктивной части более 500 особей может предотвратить воздействие инбридинга на структуру популяций. С учетом негенетических факторов риска потери части генотипов, желательно сохранение в одной выборке нескольких тысяч особей. Этот подход, наряду с результатами изучения популяционной структуры отдельных видов, лежит в основе разработки стратегии создания генетических резерватов.

Рекомендовано учитывать (Мамаев и др., 1994), что существует определенная иерархия популяционной структуры, разделение ее на местные популяции и их группы. Границы популяций обычно связаны с естественно-природными образованиями, но расплывчаты и динамичны. В равнинах объем популяции может быть большим, в горных районах они значительно меньше. Из-за высотной поясности и мозаичного распределения насаждений в горах конфигурация границ должна быть сложнее. На основе этих закономерностей сформулированы основные представления о минимальной величине резерватов. Наиболее важно, чтобы на территории генетического резервата была представлена и воспроизводилась основная часть генетического разнообразия популяции. Величина резервата должна обеспечивать нейтрализацию влияния инбридинга. Не должно быть "генетического загрязнения" из соседних насаждений. Территория должна быть представлена естественной средой обитания видов. В поколениях должна обеспечиваться устойчивость к неблагоприятным факторам среды. С учетом этих требований величина резерваторов должна быть в пределах 200 – 500 гектаров, хотя в горных условиях их размер может уменьшаться (10 и менее гектаров) (Мамаев и др., 1994).

Эти представления основаны на многолетних исследованиях таких широко распространенных видов, как сосна обыкновенная, лиственница сибирская, сосна сибирская, дуб черешчатый, береза-повислая и др. Для других видов, у которых внутривидовая изменчивость мало изучена, такие критерии еще предстоит разработать.

Следующей проблемой является то, что из-за антропогенного вмешательства или по естественным причинам трудно подобрать (особенно в европейской части России) необходимые площади под резерваторы. Некоторые популяции в горных условиях могут занимать местообитания меньшей площади, чем это рекомендуется. Из-за биологических особенностей некоторые покрытосеменные древесные виды не образуют больших массивов, а рассеяны в насаждениях. Для этих случаев до сих пор неясно, создавать одну большую или несколько небольших зон сохранения разнообразия? Теоретически, если в популяциях наблюдаются частые демографические флюктуации, целесообразнее выбрать для сохранения популяцию большого объема. При экологической гетерогенности среды обитания желательна представленность множе-

ства субпопуляций. Аллели, потерянные в одних выборках, могут быть фиксированы в других и в среднем вероятность их сохранения выше, чем в одной большой популяции. Кроме того, в пределах субпопуляций эффективность отбора против рецессивных аллелей выше из-за инбридинга.

Тем не менее, без учета информации об уровне генетической изменчивости и дифференциации популяций трудно обоснованно подходить к сохранению генетического разнообразия лесообразующих видов. Особенно наглядно это утверждение проявляется при анализе результатов исследований, выполненных с использованием изоферментных генетических маркеров. Этот класс маркеров в последние несколько десятилетий служит основным инструментом изучения генетического разнообразия популяций. В отличие от большинства других признаков изоферменты находятся под моногенным контролем, экспрессируются кодоминантно (по фенотипическим различиям изоферментов мы можем напрямую судить о генетических различиях особей), дают ряд методических преимуществ (в большинстве случаев они не тканеспецифичны и не подвержены модифицирующему воздействию среды, фенотипы не зависят от стадии онтогенеза и т.д.). Ниже нами приводятся примеры, когда этот класс маркеров успешно используется для решения проблем генетического и, шире, биологического разнообразия.

Можно утверждать, что основная часть результатов изучения генетической изменчивости древесных растений может быть использована для сохранения генетического разнообразия (хотя могли иметь другие первоначальные цели). Эти данные можно применять для решения трех условных групп задач: выявление, сохранение генетического разнообразия, его мониторинг (Millar and Westfall., 1992).

Одним из главных приложений применения изоферментов является оценка генетического потенциала видов. Колонизация новых, гетерогенных во времени и в пространстве, территорий требует наличия генетической множественности. Как правило, у лесных древесных пород выявляется большая внутрипопуляционная генетическая гетерогенность. Необходимость в высоком уровне полиморфизма обусловлена двумя свойствами лесных пород – длительным сроком жизни (уменьшающим возможность адаптации за счет быстрой ротации поколений) и неспособность особей к перемещению в оптимальные условия среды (Gregorius, 1989).

Недавно (Muller-Stark, 1995) было проведено сравнение уровня генетической изменчивости европейских древесных видов (7 родов) с недревесными растениями. Значения средней гетерозиготности и числа аллелей на локус у первых были значительно выше ($H = 23.4 - 25.1$ и $A = 2.2 - 2.7$ против $H = 11.3 - 16.5$ и $A = 1.4$). В целом, у долгоживущих древесных выявлено 2.22 аллеля на локус, уровень гетерозиготности составил 17.7 % (Hamrick et al., 1992). Большое аллельное разнообразие позволяет популяциям древесных формировать намного большее число (комбинации) уникальных многолокусных генотипов.

Был сделан обзор (Goncharenko et al., 1998) результатов многолетних исследований белорусской школы лесных генетиков. У сосен (изучены 11 видов и подвидов) выявлено до 4.5 аллелей на локус, немного уступают им (среди 7 таксонов число аллелей достигает 3.7). Пихты проявляют уровень аллельного разнообразия (максимальная величина показателя не превышает 2.5 среди 6 видов), который кажется низким лишь на фоне огромного генетического разнообразия сосен и елей. Ряд покрытосеменных видов также обладают большим запасом генетической изменчивости. У дубов, например, является 2.3 - 3.7 аллелей на локус (Muller-Starck and Ziehe, 1991; Kremer, Petit, 1993; Mattila et al., 1994; Kleinschmit et al., 1995; Samuel et al., 1996; Hertel and Zaspel, 1996). Информация об уровне изменчивости нужна в качестве критерия для исключения случаев, когда генетическое разнообразие хранящегося объекта будет меньше уровня, сформированного в течение длительного времени в популяциях. Как уже отмечалось, важно сохранить не просто как таксон, а как совокупность популяций (Мамаев и др., 1988) всем их генетическим разнообразием.

Литература, освещая особенности межпопуляционной изменчивости аллозимов у древесных видов, насчитывает тысяч источников. Только их перечисление заняло бы много времени.

Одним из наиболее популярных критериев при сохранении разнообразия является число аллелей на локус, который легко определяется с помощью электрофоретического анализа. Подлежащие сохранению аллели подразделяются на четыре класса (Marshall and Brown, 1981): локальные (с частотой >0.05 и <0.05) и имеющиеся у всех популяций варианты (>0.10 и <0.10). На высшем приоритетом обладают общие аллели. В то же время своеобразие популяций может определяться именно редкими вариантами. Определение отношения между этими классами является одним из наиболее впечатляющих результатов использования изоферментов (Millar and Westfall, 1992), как позволяет минимизировать число резерватов и оптимизировать их размещение.

По образному выражению одного из исследователей, выявление уровня генетической изменчивости является лишь прелюдией к сохранению генетического разнообразия. Приведем пример, когда информация об уровне генетической изменчивости повлияла на решение относительно способа сохранения генетического разнообразия. Американский эндемичный вид *Pinus strobus* в настоящее время сохранился в виде лишь двух небольших популяций. По 59 локусам выявлена полная мономорфность вида, хотя изменчивость в популяциях была фиксирована по разным аллелям. Было принято простое решение для сохранения вида - провести скрещивание представителей двух популяций, и таким образом повысить генетическое разнообразие (Ledig & Conkle, 1983).

Знание о взаимоотношениях видов также являются критическими и определяющими приоритеты в сохранении генетического разнообразия. Ал-

зимные данные могут выступать в качестве количественной меры выделения таксонов, находящихся под угрозой потери разнообразия. Например, в США предназначенные для сохранения генофонда популяции дуба были первоначально идентифицированы как принадлежащие виду *Quercus mandanensis*. В результате изоферментного анализа (Schnabel and Hamrick, 1990) было установлено, что они представляют гибриды между *Q. macrocarpa* и *Q. gambelii*. Таким образом, удалось избежать ошибочного выбора объекта для сохранения генофонда.

В другой работе (по: Millar and Westfall, 1992) были изучены 12 видов *Eucalyptus*. Было определено (морфологический анализ не позволял выяснить эту закономерность), что *E. paliformis* и *E. gupicola* являются редкими видами в течение длительного времени, а *E. burgessiana* стал редким лишь в недавнее время. В США *Cupressus abramsiana* отнесен к числу угрожаемых видов. Исследования (Millar and Westfall, 1992) показали однако, что он не представляет отдельный таксон и по генетической структуре его имеющиеся пять популяций входят в комплекс *C. sargentii*. Другой вид (*C. stephensonii*), представленный единственной популяцией, значительно отличался от остальных 13 таксонов по генетической структуре, хотя и не был занесен в список охраняемых в США объектов.

Еще одним приложением изоферментных маркеров является анализ популяционной жизнеспособности (Millar and Westfall, 1992). Эти исследования помогают определить минимальные условия для самоподдержания генетической структуры в ряду поколений с заданной степенью уверенности (см. обзор: Soule, 1987). Влияющие на жизнеспособность популяции факторы классифицируются как генетические, демографические, средовые и катастрофические (Shaffer, 1981). Теоретически при помощи изоферментов, главным образом, определяются влияние на генофонд первых двух факторов. Чаще всего анализируется воздействие на жизнеспособность особей инбридинга, который легко выявляется при помощи белковых маркеров.

При изучении видов эвкалипта (Prober et al., 1990) было установлено, что один из видов имел стабильную популяционную структуру. Другой из них в недавнем прошлом претерпел значительное сужение эффективного объема популяций и нуждается в сохранении в большей степени из-за риска гибридизации с остальными (более распространенными) видами эвкалипта.

Пихта *Abies semenovii* из Тянь-Шаня имеет ограниченный ареал и небольшую численность деревьев. Изоферментный анализ показал (Goncharenko et al., 1998), что вид претерпел жесткое воздействие инбридинга в ходе прохождения стадии "бутылочного горлышка" и находится на грани исчезновения. Вследствие этого гетерозиготность этой пихты составила всего 1.5 % и в среднем на локус выявлено чуть более одного аллеля ($A = 1.1$).

Изоферменты оказались довольно информативными инструментом для оценки риска перемещения генетического материала. Потребовавшие значительных затрат исследования опасности перемещения (с использованием фе-

нологических и морфологических признаков, при помощи испытательных культур) дали практически такую же оценку риска, что и генетические данные (Millar and Westfall, 1992).

Очень эффективные изоферментные маркеры применяются для идентификации клонов и другого вегетативного материала, требующих сохранения. В качестве примера можно привести следующие две работы (Reiseberg, 1988; Millar and Westfall, 1992). В результате нарушения среды обитания *Cercocarpus traskiae* из Калифорнии в живых осталось лишь семь особей. В результате электрофоретического анализа было установлено, что два из них были гибридами с *C. betuloides* и, таким образом, реинтродукции подлежали лишь пять оставшихся особей. При выращивании *Sequoia* *dendron giganteum* потребовалось удалить сеянцы неизвестного происхождения. Совместный анализ изоферментов взрослых деревьев и подроста позволил легко решить эту задачу.

Естественно, невозможно в небольшом издании отразить даже небольшую часть результатов работ, посвященных изучению генетической изменчивости популяций. Перед авторами стояла более скромная задача – продемонстрировать, что изоферментные генетические маркеры являются эффективным средством при сохранении генетического разнообразия. Естественно, изоферменты не панацея и ограничения электрофоретических методов в литературе освещены достаточно широко. Эффективное сохранение биоразнообразия и генетического разнообразия, как его основы, требуют интегрированного использования многих методов и подходов.

ГЛАВА 2. ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ПОПУЛЯЦИЙ ЛЕСНЫХ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ

2.1. Сосна обыкновенная²

Для сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris L.*), одной из наиболее распространенных хвойных пород, имеются многочисленные свидетельства об относительно низком уровне генетической подразделенности вида в пределах ареала (Gullberg et al., 1982; Gullberg et al.; 1985; Семериков, 1991; Prus-Glowacki et al., 1993; Goncharenko et al., 1994; Prus-Glowacki and Stephan, 1994; Шигапов и др., 1995 и др.). Целью данного раздела работы является оценка соотношения компонент межвыборочной генетической изменчивости сосны обыкновенной на различных иерархических уровнях (внутри насаждения, между насаждениями одного субрегиона, между популяциями разных субрегионов и регионов). Выбор горно-лесной части Южного Урала для выполнения этой цели был обусловлен значительным разнообразием сосновых лесов, которые произрастают в различных природно-климатических и контрастных экологических условиях (в том числе испытывают сильное антропогенное влияние), характеризуются исторической неоднородностью (Попов, 1980). Все эти факторы могут влиять на распределение внутри- и межвыборочной компонент генетического разнообразия. Полученные результаты сравнивались с данными по дифференциации десяти близких к северной границе ареала карельских популяций (Янбаев и др., 1998).

При изучении генетической подразделенности сосны обыкновенной на Южном Урале объектами исследования были 19 выборок сосны обыкновенной. Выборки группы ЗИЛ (два соседствующих насаждения Зил-1 и Зил-2) и пробная площадь Кан-1 расположены на Зилаирском плато. Сосняки второй группы выборок (группа ЗАП, пробные площади Зап-1, Зап-2 и Зап-3) представляют насаждения западного макросклона южноуральских гор (заповедник "Шульган-Таш"). Здесь в зоне преимущественного произрастания широколиственных видов сосновые леса встречаются в настоящее время в виде отдельных небольших фрагментов. Сосновые леса восточного макросклона Южного Урала представляет группа ВОС (Вос-1, Вос-2, Вос-3). Первое насаждение тяготеет к горным соснякам и находится на восточном склоне хребта Уралтау. Остальные две пробные площади заложены в близких по лесорастительным условиям Ургунском и Ахуновском борах (мелкосопочники Зауралья). Пробные площади групп САТ и КАР представляют собой сильно угнетенные промышленным загрязнением горные сосняки Челябинской области, находящиеся в зоне деятельности магнезитового (г. Сатка) и медеплавильного заводов (г. Карабаш), соответственно. Выборки Сат-1, Сат-2, Сат-3 и Сат-4 отобраны в разделенных разрывами полога и примыкающих друг к

² Янбаев Ю.А., Бахтиярова Р.М., Ганиев Р.М.

другу частях одного насаждения. По такому же принципу выделены пять выборок насаждения КАР (Кар-1 – Кар-5). Следующее насаждение (Чел-1) этого же региона находится вне зоны непосредственного воздействия выбросов промышленных предприятий. Краткая характеристика карельских насаждений сосны обыкновенной на северной границе ареала была приведена ранее (Янбаев и др., 1998). В качестве молекулярно-генетических маркеров использовали изоферменты аспартатаминотрансферазы, глутаматдегидрогеназы, формиатдегидрогеназы, и лейцинаминопептидазы, контролируемые 7 полиморфными локусами.

Построенная на основе генетических расстояний Нея дендрограмма не выявила какой-либо закономерности в распределении насаждений. Использование другого генетического расстояния (Cavalli-Sforza, Edvards, 1967), которое рекомендуется для изучения внутривидовой дивергенции под действием случайного генного дрейфа (Животовский, 1979), показало существование относительного соответствия географической дистанции между выборками их генетическим различиям. Необходимо отметить, что этот результат не выявляется при построении дендрограммы со включением данных по сильно расстроенным промышленным загрязнением насаждениям КАР и САТ и расположение выборок на рисунке при этом приобретает хаотичный характер.

Практически все группы выборок из незатронутых промышленным загрязнением насаждений образовали свои кластеры (рис. 2.1.1), хотя различия между ними были небольшими. Исключением явилась пробная площадь Вос-1 с восточного макросклона южноуральских гор, которая на дендрограмме примкнула к группе других горных сосновок ЗАП. Близлежащие к этой выборке равнинные зауральские насаждения Вос-2 и Вос-3 образовали свой отдельный кластер. Включённая нами дополнительно в анализ выборка из Инзерского лесхоза (Инз-1) на дендрограмме выделилась от других кластеров.

В выборках насаждений САТ и КАР получены близкие значения коэффициентов подразделенности F_{st} и генетических расстояний D (табл. 2.1.1.). Полученные параметры сопоставимы с дифференциацией сосны обыкновенной между группами САТ/КАР и пробной площадью Чел-1. Относительно большая подразделенность выборок в пределах двух насаждений отражает существование различий в составе и частотах аллелей. Из выявленных 32 аллелей 14 отсутствуют на той или иной части пробных площадей и лишь 18 аллелей являются общими. Коэффициенты подразделенности F_{st} в насаждениях САТ и КАР близки, несмотря на различия в соотношении гомо- и гетерозиготных генотипов (см. значения коэффициентов инбридинга F_{is} и F_{it}). Использованные нами 7 полиморфных локусов достаточно точно отражают уровень межвыборочной дифференциации сосны обыкновенной. При сравнении подразделенности 5 выборок КАР по 13 локусам (с добавлением полиморфных Mdh-1, Mdh-3, 6Pgd-1, Dia-1, Aph-1 и

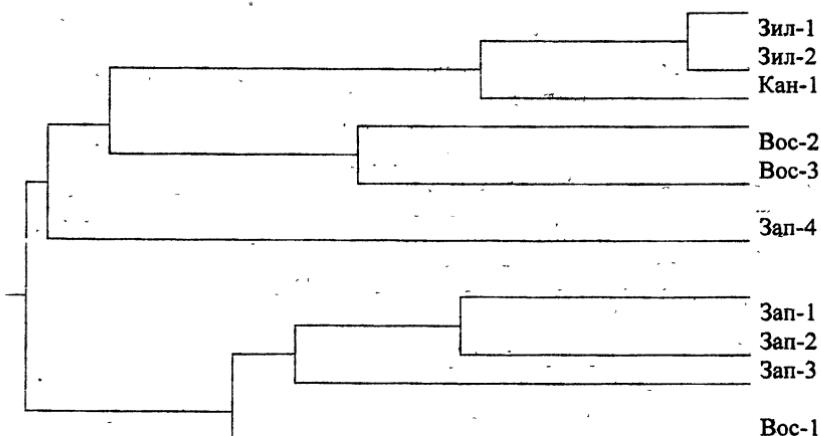


Рис. 2.1.1. Дендрограмма, построенная на основе генетических расстояний (Cavalli-Sforza, Edvards, 1967)

Skdh-1) получены такое же значение коэффициента F_{st} (0.019) и близкое значение генетическое расстояния ($D_{cp} = 0.010$).

Выявлен различный уровень дифференциации выборок в пределах каждого из четырех субрегионов. Параметры F_{st} и D оказались минимальными для насаждений Зилаирского плато (группа ЗИЛ, Кан-1). В других группах разделенность насаждений более выражена (табл. 2.1.1). Генетически более всех дифференцированы встречающиеся в виде небольших вкраплений в широколиственных лесах западного склона южноуральских гор изолированные сосняки группы ЗАП. У сосны обыкновенной из Челябинской области значения коэффициентов F_{st} и генетических расстояний D_{cp} для 9 выборок субрегиона в целом и выборок в пределах пробных площадей САТ и КАР практически совпали.

При совместном анализе всех 19 выборок установлено, что коэффициент F_{st} возрастает незначительно (с 0.020 в среднем на одну группу пробных площадей до 0.029 для всех 19 выборок), а среднее по всем парам генетическое расстояние было даже меньше (0.011 против 0.013). Полбкусный коэффициент подразделенности отклонялся от среднего значения незначительно ($Gdh-1 - 0.027$, $Fdh-1 - 0.029$, $Aat-3 - 0.020$, $Aat-2 - 0.017$, $Aat-1 - 0.035$, $Lap-1 - 0.045$), за исключением локуса $Lap-2$ ($F_{st} = 0.072$).

Таблица 2.1.1.

**Межвыборочная дифференциация сосны обыкновенной
на разных иерархических уровнях**

Выборки	F _{is}	F _{lt}	F _{st}	D _{min} - D _{max}	D _{ср}
Дифференциация в пределах насаждений					
САТ	-0.018	0	0.017	0.002-0.034	0.010
КАР	0.157	0.173	0.019	0.002-0.031	0.011
ЗИЛ	0.200	0.204	0.006	-	0.004
Дифференциация между насаждениями в пределах субрегионов					
ЗИЛ, Кан-1	0.184	0.193	0.011	0.002-0.038	0.009
ЗАП	0.006	0.034	0.028	0.006-0.045	0.016
ВОС	0.054	0.073	0.020	0.005-0.048	0.015
САТ, КАР, Чел1	0.066	0.085	0.020	0.002-0.034	0.010
Дифференциация между популяциями разных регионов					
Южный Урал	0.088	0.115	0.029	0.002-0.048	0.011
Карелия	0.162	0.183	0.023	0.002-0.022	0.008
Дифференциация между популяциями двух групп регионов					
Южный Урал, Карелия	0.113	0.140	0.030	0.002-0.048	0.011

Включение в анализ 10 карельских выборок практически не привело к увеличению средних величин выявленных у южноуральских популяций коэффициента F_{st} и генетического расстояния D_{ср}. Полокусная подразделенность сосны обыкновенной на Южном Урале выражена в большей степени, чем на северо-западе России. Исключения выявлены по локусам Aat-2 (в карельских выборках F_{st} = 0.029). В остальных локусах у сосны обыкновенной межпопуляционная подразделенность сосны из Карелии была меньше (Gdh-1 - 0.026, Aat-3 - 0.007, Aat-2 - 0.027, Aat-1 - 0.011, Lap-1 - 0.039, Lap-2 - 0.042) или равна (Fdh-1, F_{st} = 0.029 в обоих регионах). Анализ литературы показывает, что выявленный нами уровень дифференциации сопоставим с показателями подразделенности, полученными другими исследователями (Gullberg et al., 1982; Gullberg et al., 1985; Prus-Glowacki et al., 1993; Prus-Glowacki and Stephan, 1994; Goncharenko et al., 1994; Шигапов и др., 1995; Дворник и др., 1998 и др.).

По литературным данным, среднее генетическое расстояние для близко расположенных популяций хвойных составляет D = 0.008 (Дворник и др., 1998). Уровень дифференциации изученных нами трех насаждений Зилаирского плато подтверждает эту закономерность (D_{ср} = 0.004 для двух выборок ЗИЛ и D = 0.009 при добавлении в анализ пробной площади Кан-1). Полученный результат подтверждается и проведенными нами ранее исследованиями. Был вычислен коэффициент подразделенности для 4 пар выборок в

других популяциях сосны обыкновенной Южного Урала и Предуралья. Разделенные расстоянием 3-5 километров и находящиеся в однородных экологических условиях пары генетически практически не различались ($G_{st} = 0.002 - 0.008$) (Янбаев, 1998).

Ряд факторов, видимо, могут привести к нарушению этой закономерности. Деревья пробных площадей САТ и КАР различаются на уровне географически разделенных насаждений. Главной причиной может быть пространственная структурированность генетической изменчивости, вызванная неравномерным отпадом деревьев и фрагментацией древостоя из-за промышленного загрязнения. Близкорасположенные насаждения в пределах групп ЗАП и ВОС более дифференцированы, чем сосна обыкновенная в пределах всего Зилаирского плато. Генетические различия выборок этих субрегионов могут быть вызваны различными причинами. В основе относительно высокой подразделенности пробных площадей восточного макросклона южноуральских гор может лежать включение в одну группу двух отличающихся по экологическим условиям типов сосновок (горные леса и насаждения Зауральского мелкосопочника). Как уже говорилось, на западных предгорьях Южного Урала сосна обыкновенная включена в состав широколиственных лесов в виде небольших фрагментов или примесей. На повышенную дифференацию насаждений может влиять их изолированность и небольшой объем этих популяций (субпопуляций).

2.2. Ель сибирская³

Исследование генетической изменчивости и внутривидовой дифференциации ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.) на Южном Урале представляет особый интерес в связи с тем, что этот вид произрастает здесь на границе своего ареала в разнообразных природно-климатических условиях (от равнинных хвойно-широколиственных лесов до горной лесотундры). Кроме того, уральская горная система является восточным краем зоны интровергессивной гибридизации елей европейской *Picea abies* (L.) Karst. и сибирской (Бобров, 1978). В отличие от подробно изученной в популяционно-генетическом отношении ели европейской (Bergmann, 1973; Tigerstedt, 1973; Bergmann, 1974; Lundkvist and Rudin, 1977; Lundkvist, 1979; Алтухов и др., 1986; Гончаренко и Потенко, 1990; Gomory and Paule, 1993; Goncharenko et al., 1993), ели сибирской уделялось меньшее внимание (Гончаренко и Потенко, 1991; Krutovskii and Bergmann, 1993). Имеющиеся данные в основном касаются определения изменчивости и уровня дифференциации популяций из различных регионов. Генетическая структура выборок из разных экологических условий практически не исследована. В горно-лесной зоне Южного Урала

Янбаев Ю.А.

ель сибирская часто произрастает в крайне различающихся условиях произрастания в пределах одной и той же местности, включая избыточно увлажненные почвы низовых и верховых болот, верхнюю границу распространения леса.

Исследования по этому разделу проведены в три этапа. На первом исследован уровень дифференциации популяций и насаждений всей территории Башкортостана (Янбаев и др., 1997) с использованием двух групп выборок. Пробные площади Трл-1 (Тирлянский лесхоз) и Инз-1 (Инзерский лесхоз) характеризуют еловые леса центральной горно-лесной части Южного Урала. Выборка Крд-1 (Караидельский лесхоз) находится на северо-востоке Башкирского Предуралья в лесорастительном районе елово-пихтовых лесов Уфимского плато. Пробная площадь Ттш-1 заложена на территории Татышлинского лесхоза в районе южно-таежных равнинных хвойно-широколиственных лесов Бельско-Камского междуречья (северо-запад Башкирского Предуралья). Вторая группа выборок включает 4 насаждения ели из наиболее приподнятой части Южного Урала в районе горы Иремель, отличающиеся в экологическом отношении и находящиеся на условной трансекте вдоль склона. В качестве молекулярно-генетических маркеров использовали изоферменты аспартатаминотрансферазы, глутаматдегидрогеназы, лейцинаминопептидазы, шикиматдегидрогеназы и глицератдегидрогеназы, кодируемые 7 полиморфными локусами.

На втором этапе исследований иремельская группа выборок была изучена более подробно, с использованием 13 полиморфных локусов. Как уже указывалось, образцы для исследований были отобраны на четырех пробных площадях, расположенных на условной высотной трансекте вдоль северного склона горы Иремель - второго по высоте горного массива на Южном Урале. В этом регионе на относительно небольшом участке наблюдается заметная смена эколого-ценотических условий произрастания еловых лесов. Выборка (пробная площадь) Ирм-1 представляет собой заболоченный ельник межгорной котловины на высоте около 400 м. над уровнем моря. Для этих условий характерно господство в моховом ярусе *Sphagnum girgesohnii* и других бореальных мхов и присутствие в травяно-кустарниковом ярусе таких диагностических видов, как *Linnaea borealis*, *Trientalis europaea*, *Lycopodium annotinum*, *Vaccinium myrtillus* и др. Вторая пробная площадь (Ирм-2) находится на высоте 1150 м над уровнем моря. Ель здесь также образует сомкнутый древостой. Как примесь включены *Betula verticosa*, *Larix sukaczewii*, *Sorbus aucuparia*. Из диагностических видов класса *Querco-Fagetea* встречаются *Aegopodium podagraria*, *Dryopteris filix-mas*, *Lathyrus vernus*, *Milium effusum* и др. Следующие две пробные площади Ирм-3 и Ирм-4 (высота над уровнем моря 1300 м и 1350 м соответственно) находятся на границе лесной зоны и горной тундры. Выборка Ирм-3 представлена отдельными низкорослыми (1.5-2 м) деревьями и их группами. Сообщества сложены из *Juncus trifidus*, *Carex ensifolia*, *Festuca igoschiniae*, видов класса *Carici-Kobresietea*. Покров мхов и лишайников достигает 70 %, среди них преобладают *Cladina*

spp., *Cetraria* spp., *Rhytidium rugosum*. Участок Ирм-4 включает ель стелловой формы, рост которой лимитируется высотой снежного покрова. Почвы здесь не развиты и представляют собой заполнившие пространства между валунами продукты выветривания. Ассоциированность сопутствующих ели видов слабая. В качестве молекулярно-генетических маркеров использовали изоферменты аспартатаминотрансферазы, глутаматдегидрогеназы, лейцинаминопептидазы, шикиматдегидрогеназы, глицератдегидрогеназы, диафоразы, кислой фосфатазы и NADHдегидрогеназы.

На третьем этапе в сравнении с иремельским выборками изучена генетическая структура ельников на южной границе вида (район заповедника "Шульган-Таш"). Ель сибирская здесь представлена фрагментарными насаждениями, изолированными от основной зоны еловых лесов Южного Урала. Разрывы части репродуктивного ареала могут привести к резкому падению эффективной численности деревьев в популяции и уменьшению потока генов между субпопуляциями. Это изменение исторически сложившегося баланса между процессами дифференциации и интеграции генофонда видов может оказать непосредственное влияние на состояние популяций (Алтухов, 1995).

Частоты аллелей популяций из различных частей Башкортостана приведены в нашей предыдущей публикации (Янбаев и др., 1997). В изученных локусах и выборках обнаружено 23 аллельных варианта. Лишь в локусе Aat-3 альтернативные аллели имели близкие частоты, в остальных локусах наблюдалось преобладание одного из аллелей. В зависимости от пробной площади, доля редких (с частотой 0.05 и менее) аллелей составила 14.3 - 33.3 %. Многие из них являлись специфичными для одной или нескольких изученных выборок. Большая доля редких аллелей может свидетельствовать о том, что на Южном Урале проходит зона гибридизации елей европейской и сибирской - "феномен редких аллелей" наблюдается обычно при перекрывании ареалов близких видов (Barton and Hewitt, 1985). К сожалению, мы не можем сопоставить наши результаты с данными по доле редких аллелей елей европейской и сибирской вне зоны их межвидовой гибридизации. Такие исследования были проведены ранее (Krutowski and Bergmann, 1993), когда был обнаружен больший уровень генетической изменчивости в "гибридных" популяциях Среднего и Северного Урала.

Гетерогенность аллельных частот оказалась достоверной в 5 из 7 изученных локусов. При сравнении частот генотипов достоверная гетерогенность выявлена лишь в двух локусах (Gdh-1 и Lap-2). Различия в пределах выборок иремельской группы (Ирм-1, Ирм-2, Ирм-3, Ирм-4) оказались сопоставимы с гетерогенностью аллельных частот в выборках другой группы (Трл-1, Инз-1, Крд-1, Ттш-1). В первом случае достоверная гетерогенность выявлена в 16.6 % и во втором - в 23.8 % из 42 проведенных полокусных попарных сравнений в пределах отдельных групп. Большая часть генетической изменчивости приходилась на внутривыборочную составляющую. Несмотря на относи-

тельно небольшую величину доли межвыборочного генетического разнообразия ($F_{st} = 3.9\%$), по отдельным локусам этот показатель варьировал от 1.5% до 7.3%. Значения F_{is} изменялись от -0.065 до 0.181 (в среднем $F_{is} = 0.078$), свидетельствуя о 7.8 % дефиците гетерозигот в каждой из изученных выборок. Показатель F_{it} также выявил 11.5%-ный недостаток гетерозигот по сравнению с ожидаемым по Харди-Вайнбергу частотами.

Построенная на основе генетических расстояний Нея (табл. 2.2.1.) дендрограмма показала существование нескольких группировок выборок (рис. 2.2.1.). Пары пробных площадей из лесного пояса горно-лесной части Южного Урала (Ирм-1/Ирм-2 и Трл-5/Инз-6) образовали два кластера генетически близких насаждений, несмотря на их относительную географическую разобщенность. И наоборот, выборки на границе лесной зоны и горной тундры (Ирм-3 и Ирм-4) отличаются как от близлежащих пробных площадей Ирм-1 и Ирм-2, так и от двух других насаждений центральной горно-лесной части Южного Урала (Трл-1 и Инз-1). В пределах популяций из центральной горно-лесной части Южного Урала близкорасположенные выборки из различных эколого-ценотических условий дифференцированы на уровне географически относительно разобщенных насаждений. Изучение *Picea mariana* (Mill.) B.S.P. также показало значительную дифференциацию пар популяций, расположенных на разных высотах над уровнем моря (O'Reilly, Parker and Cheliak, 1985). Наиболее отличаются друг от друга и по отношению к остальным выборкам популяции из Уфимского плато (Крд-1) и северо-запада Башкирского Предуралья (Тиш-1). Среднее генетическое расстояние Нея по всем выборкам $D = 0.016$; с изменениями от 0.005 до 0.053. В пределах южноуральских и предуральских насаждений усредненные генетические расстояния составили значения 0.008 и 0.013. Расположение выборок на дендрограмме в целом соответствует распределению ели сибирской по отдельным лесорастительным районам (центральная горно-лесная часть Южного Урала, елово-пихтовые леса Уфимского плато на северо-востоке Башкирского Предуралья, южно-таежные равнинные хвойно-широколистственные леса северо-запада Башкирского Предуралья). Соответствие генетической структуры популяций и степени их географической удаленности было показано и для другого вида ели *Picea mariana* (Mill.) B.S.P. (Yeh et al., 1986).

В связи с существованием определенной генетической дифференциации разновысотных выборок, деревья на четырех иремельских пробных площадях были изучены по большему числу локусов. Частоты аллелей 13 полиморфных локусов приведены в таблице 2.2.2. Лишь локус *Aat-1* оказался практически мономорфным (за исключением пробной площади Ирм-1, где

Таблица 2.2.1.

Генетические расстояния между выборками ели сибирской

Выборки	Ирм-1	Ирм-2	Ирм-3	Ирм-4	Трл-1	Инз-1	Крд-1	Ттш-1
Ирм-1	0							
Ирм-2	0.006	0						
Ирм-3	0.009	0.008	0					
Ирм-4	0.012	0.006	0.007	0				
Трл-1	0.005	0.007	0.011	0.008	0			
Инз-1	0.008	0.010	0.021	0.016	0.005	0		
Крд-1	0.012	0.016	0.022	0.026	0.009	0.011	0	
Ттш-1	0.036	0.038	0.053	0.039	0.018	0.017	0.021	0

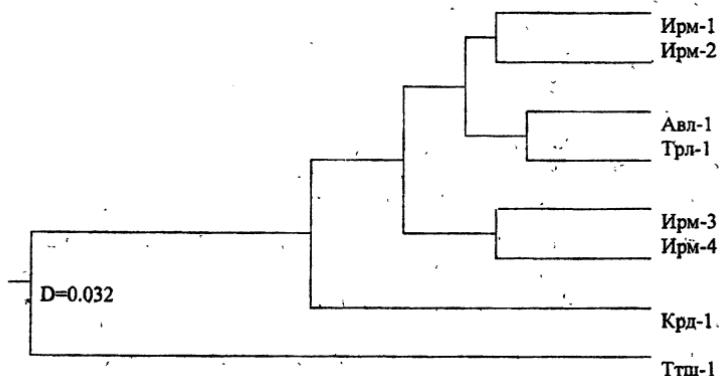


Рис. 2.2.1. Кластеризация выборок ели сибирской

обнаружен полиморфизм по редкому аллелю), в остальных локусах обнаружены по 2 - 5 аллелей. В среднем по всем выборкам доля редких (с частотой менее 0.05) аллелей составила 32.6 %.

В двух локусах (Aat-3 и Lap-1) обнаружен относительно выраженный градиент частот отдельных аллелей. Клинальная изменчивость становится более выраженной при рассмотрении частот генотипов - для семи из них отмечено возрастание или уменьшение частоты согласно расположению насаждений на условной высотной трансекте (табл. 2.2.3). Между парами Ирм-1/Ирм-2 и Ирм-3/Ирм-4 различия частот аллелей и генотипов более выражены. Тем не менее, при анализе аллельной и генотипической гетерогенности выборок по отдельным локусам выявляются их существенные различия,

сглаживаемые при подсчете средних параметров межвыборочной дифференциации.

При сравнении средних параметров генетической изменчивости между выборками каких-либо различий не выявлено. У трех из изученных 13 полиморфных локусов уровень наблюдаемой гетерозиготности изменился клинально в порядке возрастания высоты над уровнем моря: у Lap-2 (0.125 - 0.125 - 0.281 - 0.375), Lap-3 (0.312 - 0.375 - 0.437 - 0.469) и G2dh-1 (0.250 - 0.125 - 0.125 - 0.094).

Расположение выборок на дендрограмме (построенной на основе генетических расстояний Нея D) соответствует распределению ели сибирской по трансекте (рис. 2.2.2.). Выделяются два относительно близких кластера, включающие расположенные на границе лесной зоны и горной тундры пробные площади Ирм-3/Ирм-4 и находящиеся на меньшей высоте над уровнем моря насаждения Ирм-1/Ирм-2. Дендрограммы, построенные для отдельных локусов, в целом подтверждают эту закономерность. Тем не менее, большие различия в габитусе деревьев двух групп не сопровождаются столь же серьезными различиями. Вычисление параметров F-статистики Райта показало, что в исследованных выборках наблюдается небольшой дефицит гетерозиготности, статистически достоверный лишь для одного из 13 полиморфных локусов (G2dh-1, вычисленное значение критерия $G = 4.4$, табличное значение на 5% -ном уровне значимости – 3.8) в выборке Ирм-3.

Большая доля генетической изменчивости приходилась на долю внутривыборочной составляющей и усредненная межвыборочная изменчивость составила небольшую величину ($F_{st} = 2,4\%$), с изменениями по отдельным локусам от 0.1 % до 4.4. Среднее генетическое расстояние Нея ($D = 0.015$, с изменениями от 0.010 до 0.021), также показало в целом слабую дифференциацию выборок.

Небольшие объемы популяций на границе ареала теоретически могут вызывать повышение генетической подразделенности. Для проверки этого предположения мы представляем генетическую структуру ели сибирской в районе заповедника "Шульган-Таш" (пробная площадь обозначена Зпв-1, образцы собраны на прилегающей к заповеднику территории национального парка "Башкирия"). Анализ проводился при сравнении генетической изменчивости этого насаждения с данными четырех иремельских выборок.

Выборка Зпв-1 имела практически такой же набор частых аллелей, как и в сравниваемых участках. В то же время в ней обнаружены 5 новых аллелей с относительно небольшой частотой (в локусах Aat-3, Lap-3, Lap-1, Aph-2 и NADHdh-1 с частотами 0.016, 0.016, 0.031, 0.047 и 0.063, соответственно). В группе иремельских выборок имеются отсутствующие в Зпв-1 восемь относительно редких аллелей в локусах Lap-1 (аллель 1, изменения частот по 4 выборкам 0.016 - 0.063), Skdh-1 (аллель 3, 0 - 0.078), Aat-1 (аллель 2, 0 - 0.016), Lap-2 (аллель 3, 0 - 0.016), Aph-2 (аллель 1, 0.047 - 0.109) и Aph-1

Таблица 2.2.2.

Частоты аллелей в иремельских выборках ели сибирской

Локусы	Аллели	Выборки				Значимость различий
		Ирм-1	Ирм-2	Ирм-3	Ирм-4	
Aat-1	1	0.984	1.000	1.000	1.000	ns
	2	0.016	0	0	0	
Aat-2	1	0.031	0.031	0.031	0.047	ns
	2	0.969	0.969	0.969	0.953	
Aat-3	1	0.484	0.516	0.625	0.641	ns
	2	0.516	0.484	0.375	0.359	
Gdh-1	1	0.781	0.797	0.844	0.766	ns
	2	0.219	0.203	0.156	0.234	
Lap-1	1	0.031	0.125	0.047	0.063	P < 0.05
	2	0.125	0.172	0.063	0.063	
	3	0.281	0.172	0.125	0.109	
	4	0.500	0.484	0.750	0.719	
	5	0.063	0.047	0.016	0.047	
Lap-2	1	0.047	0.047	0.203	0.188	P < 0.05
	2	0.938	0.938	0.797	0.813	
	3	0.016	0.016	0	0	
Lap-3	1	0	0	0.094	0.078	P < 0.01
	2	0.141	0.250	0.125	0.234	
	3	0.813	0.703	0.766	0.656	
	4	0.047	0.047	0.016	0.031	
Skdh-2	1	0.047	0	0.031	0	P < 0.05
	2	0.828	0.813	0.781	0.844	
	3	0.047	0	0.047	0.078	
	4	0.078	0.188	0.141	0.078	
G2dh-1	1	0.156	0.063	0.031	0.031	P < 0.001
	2	0	0	0	0.016	
	3	0.844	0.938	0.844	0.953	
	4	0	0	0.031	0	
	5	0	0	0.094	0	
Dia-1	1	0.219	0.203	0.125	0.274	ns
	2	0.781	0.797	0.875	0.726	
Aph-1	1	0.016	0.047	0.031	0.016	ns
	2	0.016	0	0.016	0	
	3	0.828	0.688	0.625	0.703	
	4	0.078	0.234	0.297	0.250	
	5	0.063	0.031	0.031	0.031	
Aph-2	1	0.063	0.078	0.109	0.047	ns
	2	0.781	0.734	0.688	0.766	
	3	0.109	0.156	0.141	0.109	
	4	0.047	0.031	0.063	0.078	
NADHdh-1	1	0.281	0.125	0.219	0.094	P < 0.01
	2	0.703	0.797	0.656	0.875	
	3	0.016	0.078	0.125	0.031	

Таблица 2.2.3.

**Клинальные изменения частот генотипов ели сибирской
в разновысотных насаждениях**

Локусы	Генотипы	Выборки			
		Ирм-1	Ирм-2	Ирм-3	Ирм-4
Aat-3	1 x 1	0.281	0.281	0.406	0.437
	2 x 2	0.312	0.250	0.156	0.156
Lap-1	2 x 4	0.219	0.187	0.125	0.125
	4 x 4	0.219	0.281	0.594	0.531
Lap-2	1 x 2	0.094	0.094	0.281	0.375
	2 x 2	0.875	0.875	0.656	0.625
G2dh-1	1 x 3	0.250	0.125	0.062	0.062

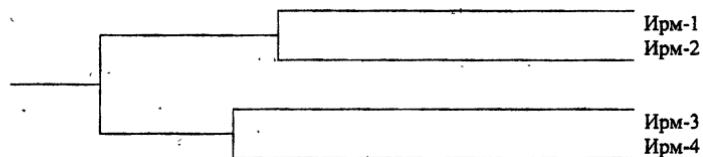


Рис. 2.2.2. Кластеризация выборок ели сибирской

(аллель 1, 0 - 0.016; аллель 4, 0.078 - 0.250 и аллель 5, 0.031 - 0.063). Несмотря на различия по относительно редким аллелям, по среднему числу аллелей на локус ($A = 3$) ель сибирская из заповедника не выделялась среди других. Такая же закономерность отмечалась и при сравнении насаждений по уровню гетерозиготности. На всех пробных площадях деревья показывали очень слабый недостаток гетерозигот, свидетельствующий о слабом влиянии инбридинга на генофонд ели сибирской. В целом обнаружено хорошее соответствие наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности (коэффициент инбридинга $F = 0.048$, в Иремельских выборках показатель изменялся от 0.019 до 0.124).

Доля генетической изменчивости пяти насаждений, приходящаяся на межвыборочную компоненту, составляет $F_{st} = 4.1\%$. При определении F_{st} только для Иремельских пробных площадей, этот показатель был почти вдвое ниже. Эта закономерность подтверждается при вычислении генетических расстояний Нея D между выборками. Между Иремельскими выборками значение D изменяется от 0.010 до 0.021, а между выборкой Зпв-1 и любой из пары Ирм-1/Ирм-4 генетическое расстояние выше в несколько раз. Наибольшие различия получены между елью сибирской из района заповед-

ника и расположеными на верхнем пределе распространения вида выборками Ирм-3 ($D = 0.082$) и Ирм-4 ($D = 0.071$). Две другие выборки из лесного пояса (Ирм-1 и Ирм-2) различаются от выборки Зпв-1 не столь значительно ($D = 0.043$ и $D = 0.048$).

Все вышеизложенное показывает относительную дифференциацию исследуемой популяции от еловых лесов центральной горно-лесной части Южного Урала. Несмотря на изолированность и фрагментированность насаждений, не обнаружено серьезное влияние инбридинга на генетическую структуру и уменьшение генетического разнообразия.

2.3. Дуб черешчатый⁴

В последние годы все чаще появляются публикации с сообщениями об уровнях аллозимной изменчивости покрытосеменных древесных растений. Среди европейских видов одним из главных объектов изучения являются дуб черешчатый *Quercus robur L.* и близкий к нему дуб скальный *Q. petraea Liebl.* У этих видов обнаружен очень большой запас генетической изменчивости. Подавляющая часть его представлена внутрипопуляционной составляющей (Kremer et al., 1991; Muller-Starck and Ziehe, 1991; Dicouso et al., 1993; Kremer and Petit, 1993; Muller-Starck et al., 1993; Zanetto et al., 1994; Bacilieri et al., 1994; Mattila et al., 1994; Kleinschmit et al., 1995; Samuel et al., 1995; Hertel and Zaspel, 1996). Однако этими исследованиями охвачена лишь западная часть ареала дуба. По ряду причин представляет интерес изучение генетической структуры популяций на восточной части ареала, граница которой одновременно является восточным флангом целого ряда широколиственных древесных видов (Горчаковский, 1972). История происхождения популяций западной и восточной Европы различается. После ледниковой эпохи на прилегающих к Южному Уралу территориях вид мог распространяться вместе с другими элементами неморальной флоры из местных рефугиумов (Семериков, 1986). Дуб черешчатый в Башкортостане является важным компонентом широколиственных лесов. В последние десятилетия наблюдается сильная деградация этих экосистем, вызванная климатическими и антропогенными факторами (Попов, 1980). Целью данного раздела работы является оценка уровня аллозимной изменчивости и дифференциации дуба черешчатого горно-лесной части Южного Урала и Башкирского Предуралья.

Число изученных ферментов, локусов и аллелей приведено в таблице 2.3.1. В локусах выявлено большое аллельное разнообразие. Лишь в *Skdh-1* имеются три аллеля, в остальных локусах число аллелей выше (по 5 аллелей обнаружены в локусах *6-Pgd-1*, *Gdh-1* и *Fdh-1*, по 6 - в *Dia-1* и *Idh-1*). Наиболее полиморфными оказались *Lap-2* и *Aar-1* (7 и 9 аллелей, соответственно). Наибольшее число аллозимов (табл. 2.3.2.) мы обнаружили в Архангельской

⁴ Янбаев Ю.А.

популяции ($A = 4.8 - 5.0$). При использовании 95 %-ного критерия среднее число аллелей на локус по отдельным выборкам относительно выравнивалось. Но Архангельская популяция имеет повышенное аллельное разнообразие не только из-за большой численности ее выборок. При объединении в две отдельные группы архангельских (153 дерева) и всех остальных пробных площадей (195 деревьев) общее число всех обнаруженных аллелей выше у первых (44 против 38 или $A = 4.90$ против $A = 3.33$). Для определения влияния числа локусов на параметры генетического разнообразия в Архангельской популяции их набор был увеличен до 14 (были добавлены полиморфные Aat-1, Aat-2, Aat-3, Fe-1, Fe-2 и NADHdh-1). Среднее число аллелей при этом не изменилось ($A = 4.9$). Увеличение числа локусов сказалось главным образом на ожидаемой гетерозиготности (при 14 локусах снизилась до $H_e = 0.316$).

Таблица 2.3.1.

Изученные ферменты, локусы и аллели дуба черешчатого

Ферменты	Номер по Е.С.	Структура фермента	Локус	Число аллелей
6-PGD	1.1.1.44	Димер	6Pgd-1	5
SKDH	1.1.1.25	Мономер	Skdh-1	3
GDH	1.4.1.2	Полимер	Gdh-1	5
FDH	1.2.1.2	Димер	Fdh-1	5
LAP	3.4.11.1	Мономер	Lap-2	7
AAP	3.4.11.1	Мономер	Aap-1	9
DIA	1.6.4.3	Тетramer	Dia-1	6
IDH	1.1.1.42	Димер	Idh-1	6

Таблица 2.3.2.

Генетическая изменчивость в выборках дуба черешчатого

Выборки	Объем выборки	A*	A 0.95	H ₀	H _e	F
Арх1	46	5.0	2.5	0.304	0.431	0.295
Арх2	49	4.9	2.4	0.312	0.421	0.259
Арх3	58	4.8	2.3	0.248	0.381	0.349
Уфа	32	3.4	2.6	0.289	0.350	0.174
Тмз	35	3.1	2.7	0.336	0.383	0.123
Чкм	32	3.1	1.9	0.250	0.285	0.123
Блг	32	3.6	2.5	0.316	0.442	0.285
Алш	32	3.4	2.6	0.328	0.398	0.176
Брс	32	3.4	2.5	0.328	0.429	0.235

Все изученные локусы показывают значительный дефицит гетерозигот (в среднем $F_{is} = 0.219$, $F_{it} = 0.247$) (табл. 2.3.3). Такой же результат был получен для дуба черешчатого из других регионов: $F_{is} = 0.244$ (Bacilieri et al., 1994), $F_{is} = 0.510$ (Samuel et al., 1995). Так как вероятность самоопыления у вида низка (Dicouso et al., 1993), дефицит гетерозигот может быть объяснен семейной кластеризацией деревьев (Bacilieri et al., 1994) из-за небольшого радиуса распределения пыльцы и семян, сильного варьирования сроков фенологических faz (Семериков, 1986). Коэффициент инбридинга F в среднем на одну южноуральскую выборку составил $F = 0.230$. Значения F увеличены в двух небольших насаждениях Блг и Брс ($F = 0.285$ и $F = 0.235$, соответственно) и на пробных площадях Архангельского лесхоза ($F = 0.259 - 0.349$), где растительные образцы собирались подряд со всех имеющихся деревьев. На остальных 4 пробных площадях получены относительно низкие ($F = 0.123 - 0.176$) значения коэффициента инбридинга. Дефицитом гетерозигот объясняются относительно частые случаи статистически достоверных на разных уровнях значимости нарушений правила Харди-Вайнберга (в 17 из 72 теоретически возможных случаев или в 23.6 %). Более половины случаев несовпадения наблюдаваемых и теоретически ожидаемых распределений генотипов выявлены в выборках Архангельской популяции.

Коэффициент межпопуляционной подразделенности составил относительно небольшую величину ($F_{st} = 3.5\%$). Тем не менее, он превышает аналогичный показатель для дуба черешчатого в пределах всей западной части ареала и всего лишь вдвое меньше вычисленного F_{st} для 33 видов рода *Quercus* (Kremer and Petit, 1993). Генетические расстояния между выборками изменяются от 0.007 до 0.056 (в среднем $D = 0.025$). Наибольшее генетическое расстояние обнаруживаются в парах с участием выборки Брс ($D = 0.027 - 0.056$, в среднем $D = 0.043$). Необходимо отметить, что эта выборка расположена на Камско-Бельском понижении, занятом широколиственными лесами лишь за последние 10 тысяч лет (Попов, 1980). Построенная на основе D дендрограмма (рис. 2.3.1.) обнаружила следующие уровни кластеризации. Выборка Брс отделилась от других на уровне 0.045. Далее выборки примыкают к остальным на уровнях 0.026 (Блг), 0.022 (Тмз), 0.016 (Алш), и 0.012 (Чкм). Объединенные Архангельские выборки и пробная площадь Уфа оказались наиболее близкими по частотам аллелей ($D = 0.009$).

Таким образом, при всех различиях в методе электрофоретического анализа и в наборе локусов, при сопоставлении полученных нами данных и результатов западноевропейских исследователей можно обнаружить две закономерности. Дуб черешчатый на Южном Урале обладает большим аллельным разнообразием по сравнению с дубом черешчатым из других регионов (число аллелей на локус в среднем на выборку $A = 3.86$). Число аллелей на один полиморфный локус у дуба черешчатого в западной части ареала изменяется в пределах $A = 2.3 - 3.7$ (Muller-Starck and Ziehe, 1991; Kremer and

Petit, 1993; Mattila et al., 1994; Kleinschmit et al., 1995; Samuel et al., 1995; Hertel and Zaspel, 1996). Популяции на восточной границе ареала более дифференцированы, по сравнению с популяциями из западной части ареала. Межпопуляционная изменчивость дуба из 7 регионов Европы была изучена по 13 (в том числе 9 полиморфным) локусам (Zanetto et al., 1994). Среднее генетическое расстояние Нея было небольшим ($D = 0.011$, с изменениями по отдельным парам выборок в пределах 0.002 - 0.0021). Для сопоставления с собственными данными мы пересчитали по данным авторов статьи среднее генетическое расстояние для полиморфных локусов (учитывая, что по мономорфным локусам $D = 0$). Значение D у южноуральских популяций было более чем в полтора раза выше (0.025 против 0.016).

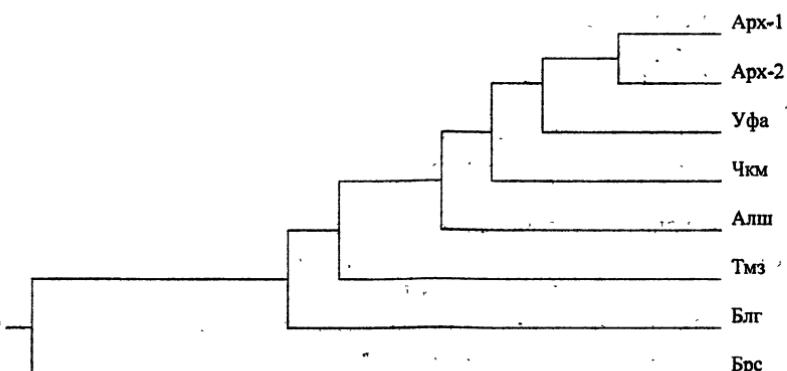


Рис. 2.3.1. Кластеризация выборок дуба черешчатого

Таблица 2.3.3.

Параметры F-статистики в выборках дуба черешчатого

Локусы	F_{is}	F_{it}	F_{st}
6Pgd-1	0.259	0.304	0.060
Skd-1	0.142	0.175	0.039
Gdh-1	0.128	0.159	0.035
Fdh-1	0.106	0.126	0.022
Aap-1	0.344	0.368	0.037
Lap-2	0.104	0.130	0.029
Dia-1	0.365	0.389	0.037
Idh-1	0.241	0.265	0.032
В среднем:	0.219	0.247	0.035

Практически такая же закономерность была получена при сравнении межпопуляционной компоненты генетической изменчивости ($F_{st} = 0.035$ для южноуральских и $G_{st} = 0.024$ для европейских популяций).

В других работах также подтверждается слабая дифференциация вида в Европе (Kremer et al., 1991; Muller-Starck and Ziehe, 1991; Muller-Starck et al., 1993), немного увеличивающаяся в популяциях на северной границе ареала (Mattila et al., 1994). Лишь в одной работе (Samuel et al., 1995) с использованием 14 локусов показана большая межпопуляционная изменчивость в выборках дуба черешчатого ($F_{st} = 0.170$, изменения попарных D наблюдались в пределах от 0.0055 до 0.0501). Данные об уровне дифференциации популяций других видов дуба приведено в таблице 2.3.5. В среднем у 33 видов дуба

Таблица 2.3.4

Генетические расстояния D между выборками

Вы- борки	Apx1	Apx2	Apx3	Уфа	Тмз	Чкм	Блг	Алш-	Брс
Apx1	0	0.015	0.007	0.016	0.030	0.019	0.029	0.017	0.027
Apx2		0	0.011	0.015	0.019	0.018	0.028	0.018	0.050
Apx3			0	0.008	0.027	0.014	0.028	0.017	0.030
Уфа				0	0.027	0.011	0.031	0.018	0.046
Тмз					0	0.018	0.026	0.023	0.049
Чкм						0	0.022	0.017	0.044
Блг							0	0.026	0.056
Алш								0	0.043
Брс									0

Таблица 2.3.5.

Коэффициенты инбридинга и межпопуляционная подразделенность видов дуба

Виды	Параметры			Ссылка
	F_{is}	F_{it}	F_{st}, G_{st}	
Q. ribra	-0.008	0.002	0.009	Schwarzmann and Gerhold, 1991
Q. ribra	0.100	0.183	0.092	Sork et al., 1993
Q. ribra/ Q. ellip- soidales	0.147	0.183	0.042	Hokanson et al., 1993
Q. ilex	-0.008	0.069	0.073	Yacine and Lumaret, 1989
Q. ilex	0.045	-	0.100	Michaud et al., 1994
Q. ilex	-	-	0.072	Lumaret and Michaud, 1991
Q. laevis	0.046	0.075	0.032	Berg and Hamrick, 1992

коэффициент межпопуляционной дифференциации G_{st} был равен 0.07 (Kremer and Petit, 1993).

Существуют несколько факторов, которые могут обусловить высокий уровень генетической изменчивости и относительно большую межпопуляционную дифференциацию вида на Южном Урале.

Значительная гетерогенность почвенных, климатических и лесорастительных условий региона обусловила произрастание дуба черешчатого в разнобразной экологической среде. Большая изменчивость условий произрастания (по сравнению с другими регионами) теоретически должна приводить к большему генетическому разнообразию популяций. Другим вероятным фактором, обусловившим дифференциацию популяций дуба черешчатого, является различное происхождение популяций. По геоботаническим данным, на Южном Урале выделяются две категории дубовых лесов (Попов, 1980). Предполагается существование древних неогеновых популяций, переживших периоды плейстоценовых похолоданий в рефугиумах западного макросклона Южного Урала. В голоцене формирование популяций на элементах относительно молодого геологического возраста в Предуралье могло происходить за счет расселения дуба этих рефугиумов и убежищ Поволжья (Семериков, 1986).

Причиной относительно большой дифференциации популяций может быть и наблюдающееся массовое усыхание дуба. Комплекс ответственных за это явление факторов включает неблагоприятные климатические условия, массовое распространение в отдельные годы энтомовредителей и т.д. В Министерстве лесного хозяйства Башкортостана в течении ряда лет проводилось обследование санитарного состояния дубовых лесов. Мы использовали часть этих данных (по 20 лесхозам, обследованная площадь превышает 4000 гектаров) для демонстрации общего состояния дубрав. Категория I (здоровые деревья) составила 58.1 %, категория 2 (ослабленные, сильно ослабленные и усыхающие деревья) - 29.7 %. Третья категория представлена отмершими деревьями (сухостоем). Можно предположить, что деградация насаждений в такой степени, выраженная по-разному в различных частях региона (например, доля здоровых деревьев изменяется по лесхозам в пределах 20 - 85 %), может повлиять и на генетическую структуру популяций.

Трудно определить, какой из трех факторов вносит наибольший вклад в выявленные нами особенности генетической структуры у дуба черешчатого. В любом случае, меры по сохранению генофонда вида в регионе должны учитывать повышенный уровень межпопуляционной дифференциации вида в регионе и высокий уровень генетического разнообразия отдельных популяций.

2.4. Клен остролистный⁵

Среди лесообразующих видов в Башкортостане клен остролистный занимает седьмое место или 3.5 % лесопокрытой площади. В последние десятилетия наблюдалось уменьшение площадей - с 271.0 тысяч гектаров (1966 г.) до 173.3 тысяч гектаров (1996 г.). Причинами этой тенденции являются не только особенности возрастной структуры или лесохозяйственная деятельность, но и неблагоприятные для вида климатические условия в конце текущего столетия. Эти процессы обуславливают актуальность получения информации о состоянии генофонда клена остролистного на Южном Урале.

В настоящее время в Западной Европе начата разработка программ сохранения генофонда древесных видов, экономически не столь значимых, но важных с точки зрения сохранения стабильности лесных экосистем. К их числу заслуженно отнесен и клен остролистный. Недавно (Turok et. al., 1998) было проведено международное совещание по проблемам сохранения генофонда популяций твердолиственных древесных видов. В большинстве европейских стран клен остролистный не относят к числу находящихся под угрозой видов. Однако имеется опасность утери отдельных популяций из-за лесохозяйственной деятельности, конкуренции с другими видами и гибридизации с *Acer pseudoplatanus*. Угроза генофонду на видовом уровне существует лишь в двух странах, а риск потери отдельных популяций - в 6 из изученных 19 стран. В 9 странах началась разработка программ по сохранению генофонда популяций клена остролистного. Тем не менее, эта активность не основана на знаниях об особенностях генетической структуры у клена остролистного - уровня генетической изменчивости, дифференциации популяций и т.д. Этой проблемы касается лишь одна работа, в которой определен уровень дифференциации популяций клена остролистного из Финляндии (Rusanen et. al., 1996).

Задачами данного раздела работы служили определение уровня генетической изменчивости клена остролистного и степени подразделенности его популяций на Южном Урале.

Для оценки уровня изменчивости ферментов и определения их генетического контроля в насаждении клена остролистного было отобрано случайным образом 32 деревьев генеративного возраста. Для выявления изменчивости исследовали изоферментный состав 14 ферментов. Из 25 предполагаемых локусов у 13 (таблица 4.2) выявлен полиморфизм хотя бы по одному образцу. Доля полиморфных локусов составляет $P = 0.52$ (52%). При использовании критерия 0.95 из-за минорности изменчивости большинства изоферментных систем доля полиморфных локусов сильно снижается. В среднем на локус без учета критерия полиморфности обнаружено 1.96 аллеля. Лишь в двух локусах выявлено большое число аллелей (Aat-1 и Aap-1,

⁵ Янбаев Ю.А., Садыков Х.Х., Ганиев Р М , Габитова Д.М.

Таблица 2.4.1.

Ферменты, локусы и аллели клена остролистного

Фермент	Структура	Локусы	Аллели
Аспартатаминотрансфераза	Димер	Aat-1 Aat-2 Aat-3	3 1 5
Диафораза	Тетramer	Dia-1	3
Шикиматдегидрогеназа	Мономер	Skdh-1	3
Лейцинаминопептидаза и Аминопептидаза	Мономеры	Aap-1 Aap-2 Aap-3	4 2 3
Малатдегидрогеназа	Димер	Mdh-1 Mdh-2 Mdh-3 Mdh-4	1 2 2 1
Кислая фосфатаза	Мономер	Aph-1 Aph-1	1 3
Пероксидаза	Мономер	Prx-1 Prx-2 Prx-3	1 2 1
Неспецифические эстеразы	Мономер	Est-1	3
NADHдегидрогеназа	Димер	Nadh-1	2
Алкогольдегидрогеназа	?	Adh-1	1
Изоцитратдегидрогеназа	?	Idh-1 Idh-2	1 1
6-фосфоглюконатдегидрогеназа	?	6Pgdh-1	1
Формиатдегидрогеназа	?	Fdh-1	1
Глутаматдегидрогеназа	?	Gdh-1	1

5 и 4 аллелей, соответственно), в 4 других локусах полиморфизм образуют 3 аллеля. В 4 локусах имеются по 2 аллеля. Ограниченный объем выборки для выявления изменчивости ферментов не позволяет утверждать, что в других выборках не выявятся новые аллельные варианты. Однако, они скорее всего будут отнесены к категории редких и при использовании критерия полиморфности вряд ли изменят вывод о низкой полиморфности локусов клена остролистного. Даже в отобранных для анализа дифференциации выборок 11 локусах (Aat-1, Aat-3, Mdh-2, Mdh-3, Dia-1, Skdh-1, Aph-1, Aap-1, Aap-2, Aap-3, Est-1) с относительно высоким полиморфизмом ожидаемая гетерозиготность была низкой (в среднем, $H_e = 0.153$). Лишь в локусе Skdh-1 показатель был на высоком уровне ($H_e = 0.489$). Согласно нашим результатам клен остролистный как вид генетически менее изменичив по сравнению с другими древесными растениями (Hamrick et al., 1981). По опубликованным данным (Perry and Knowles, 1989; Simon et. al., 1995; Young et.al., 1993^a; Young et.al.,

1993^b; Fore et al., 1992; Fore et al., 1992; Ballal et al., 1994; Geburek, 1993) мы проанализировали изменчивость у *Acer saccharum*. В среднем для 40 локусов у клена из Канады выявляется 2.62 аллеля, большинство из них относятся к категории относительно редких. Уровень изменчивости клёна ясенелистного *Acer negundo* (Янбаев и др., 1997) оказался также ниже по сравнению с другими покрытосеменными видами: доля полиморфных локусов по 95 % -ному критерию Р = 0.312, среднее число аллелей на локус А = 1.31, средняя наблюдаемая гетерозиготность 4.9 %, средняя ожидаемая гетерозиготность 5.9 %. В исследованных выборках зародышей выявлен значительный дефицит гетерозигот (средний коэффициент инбридинга имел положительную величину F = + 0.169).

Возможно, исторические события также оказали большую роль на формирование генетической изменчивости клена остролистного на Южном Урале. Виды, в прошлом пережившие значительную редукцию численности популяций по тем или иным причинам и широко расселившиеся в последующем, чаще имеют небольшое генетическое разнообразие. Для клена остролистного на Южном Урале такими причинами могли быть события ледникового периода. По геоботаническим данным (Попов, 1980) известно, что после ледниковых нашествий расселение клена остролистного на эти территории происходило из рефугиумов (плейстоценовых убежищ) широколиственных лесов, находящихся в низкогорьях западного макросклона Южного Урала. У другого вида клена (*Acer saccarum*) из Канады, который расселился на современной территории после ледникового периода, также наблюдается низкая изменчивость (Young et al., 1993).

Для изучения дифференциации популяций клена остролистного на Южном Урале исследованы выборки из 8 лесхозов Башкортостана, где находится основная часть кленовых насаждений. Стратегия выбора объектов исследования была составлена таким образом, чтобы можно было исследовать генетическую изменчивость географически разделенных популяций региона и насаждений одной популяции (в том числе из экологически контрастных условий местообитания). Отобраны 5 локусов с наибольшим полиморфизмом (Aat-1, Dia-1, Aap-1, Aap-2, Skdh-1) из числа изученных нами систем.

Аллельные частоты выборок приведены в таблице 2.4.1. Дифференциация географически разделенных популяций не превышает намного гетерогенность различающихся по условиям произрастания выборок в пределах одного (Архангельского) района. В качестве примера приводим наиболее частый аллель 1 локуса Aat-1, который в архангельских выборках изменяется от 0.766 до 0.938, а в других - 0.823 до 0.984. Это утверждение справедливо и для других локусов. Аллели, отсутствующие в одних выборках или отнесенные к категории редких, на некоторых участках значительно увеличивали частоту. В качестве примера можно привести аллель 3 локуса Aap-2, который изменяется от 0 до 0.141. Различия по редким аллелям выявлялись как между географически разделенными популяциями, так и между выборками в

пределах отдельной популяции. У большинства полиморфных локусов (в 4 из 5, кроме Aap-1) гетерогенность аллельных частот была достоверна на уровне значимости 0.001. В этих же локусах обнаружены и статистически значимые различия по частотам генотипов, хотя и выраженные в несколько меньшей степени. Ни по одному из аллелей или генотипов клинальная изменчивость не обнаружена.

Несмотря на выраженные различия между выборками, на большинстве пробных площадей выполняется правило Харди-Вайнберга. Лишь в 5 из 80 случаев (таблица 2.4.2) различия между наблюдаемыми и теоретически ожидаемыми частотами генотипов статистически значимы. Обращает на себя внимание то, что нарушения правила Харди-Вайнберга встречаются главным образом в группе выборок из Архангельского района (в 4 из 40 возможных случаев или 10 %). Среди географически разделенных выборках выявлен только один такой случае (выборка Нуримановская). В двух случаях отклонения от правила Харди-Вайнберга вызваны статистически достоверным (на уровне 0.05) дефицитом гетерозигот.

Таблица 2.4.1.

Частоты аллелей клена остролистного в выборках Южного Урала

Локусы	Аллели	Выборки							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Aat-1	1	0.063	0.063	0.063	0.047	0.050	0.156	0	0
	2	0.063	0.156	0.109	0.016	0.017	0	0.078	0.141
	3	0.875	0.781	0.828	0.938	0.833	0.766	0.922	0.813
	4	0	0	0	0	0.067	0.063	0	0.047
	5	0	0	0	0	0.033	0.016	0	0
Dia-1	1	0.063	0.063	0.063	0	0	0.031	0	0
	2	0	0	0	0.031	0.033	0.047	0.016	0.047
	3	0.938	0.938	0.938	0.969	0.967	0.922	0.984	0.953
Aap-1	1	0	0	0	0.016	0	0	0	0
	2	0.094	0.188	0.141	0.141	0.100	0.250	0.078	0.125
	3	0.906	0.813	0.859	0.844	0.900	0.750	0.922	0.875
	4	0	0	0	0	0	0	0	0
Aap-2	1	1.000	0.875	0.938	1.000	0.950	0.828	0.813	0.938
	2	0.063	0	0.031	0	0.017	0.031	0.063	0
	3	0	0.063	0.031	0	0.033	0.141	0.125	0.063
Skd-1	1	0	0	0	0.031	0	0	0	0
	2	0.750	0.594	0.672	0.656	0.567	0.391	0.563	0.703
	3	0.250	0.406	0.328	0.313	0.433	0.609	0.438	0.297

Продолжение таблицы 2.4.1.

Локусы	Аллели	Выборки							
		9	10	11	12	13	14	15	16
11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Aat-1	1	0.016	0.094	0.047	0.016	0.081	0.172	0.031	0.063
	2	0	0	0	0.063	0.081	0	0	0
	3	0.984	0.906	0.953	0.906	0.823	0.828	0.922	0.828
	4	0	0	0	0.016	0.016	0	0	0
	5	0	0	0	0	0	0	0.047	0.109
Dia-1	1	0	0.047	0	0	0	0	0	0
	2	0	0.109	0.047	0.047	0.063	0.156	0.016	0.031
	3	1.000	0.844	0.953	0.953	0.938	0.844	0.984	0.969
Aap-1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0.063	0	0.109	0.141	0.109	0.078	0.156	0.172
	3	0.938	1.000	0.891	0.828	0.891	0.906	0.844	0.813
	4	0	0	0	0.031	0	0.016	0	0.016
Aap-2	1	0.969	1.000	1.000	0.859	0.953	0.828	0.891	0.891
	2	0	0	0	0.094	0.031	0.016	0.078	0
	3	0.031	0	0	0.047	0.016	0.156	0.031	0.109
Skd-1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0.516	0.594	0.797	0.656	0.703	0.703	0.438	0.766
	3	0.484	0.406	0.203	0.344	0.297	0.297	0.563	0.234

Примечание: 1-8 – Архангельские выборки, 9 - Бураевская; 10 - Калтасинская; 11 - Татышлинская; 12 - Бирская; 13 - Балтачевская; 14 – Аскинская; 15 - Гафурийская; 16 – Нуримановская популяции.

Различия выборок по параметрам генетической изменчивости (таблица 2.4.3) в пределах одной популяции также сопоставимы с различиями географически разделенных выборок или даже превышают их. По двум группам параметров (частоты аллелей/генотипов и генетическая изменчивость) подтверждается вывод, что экологическая изменчивость условий произрастания вносит сопоставимый с географической изоляцией вклад в генетическую дифференциацию выборок. Цифровое подтверждение его можно обнаружить в таблицах 2.4.4 и 2.4.5. Если среди всех сравниваемых 16 выборок показатель межвыборочной подразделенности F_{ST} был равен 4.5 %, то у архангельских выборок он составил близкое значение 3.7 %. Генетическое расстояние Нея архангельских выборок изменялось в пределах 0.003 - 0.048; среди остальных - в пределах 0.005 и 0.034. В трех локусах (Aat-1, Aap-2, Skdh-1) различия выборок по частотам аллелей были статистически достоверны (в четырех локусах - у 16 географически разделенных выборок).

Таблица 2.4.2.
Нарушения равновесия Харди-Вайнберга

Локусы	Выборки	Критерий G		Уровень значимости
		наблюдаемый	вычисленный	
Aat-1	5	20.9	18.3	0.05
Aat-1	6	15.4	12.6	0.05
Skd-1	2	6.3	3.8	0.05
Skd-1	3	8.0	6.6	0.01
Skd-1	15	4.4	3.8	0.05

Примечание: наименования популяций и выборок приведены в примечании к таблице 2.4.1.

Графическое изображение генетических различий популяций приведено в дендрограмме (рис. 2.4.1). Выборки из Архангельского района распределились по разным кластерам; это говорит об уровне их генетических различий. Сильнее всего дивергировала от других пробная площадь Архангельская-8, расположенная на вершине хребта на наибольшей высоте над уровнем моря. Эта выборка разделена от других на уровне кластеризации $D = 0.033$. Максимальное генетическое расстояние других кластеров и выборок не превышает $D = 0.015$.

Анализ литературы показал, что клен остролистный на Южном Урале по изменчивости и генетической дифференциации обнаруживает те же закономерности, что и клен *Acer saccharum* (Yong et. al., 1993). Доказательства приведены в таблице 2.4.6. Изученные нами выборки при этом показывают чуть большую дифференциацию, чем сравниваемый вид. Также выше и уровень аллельного разнообразия. В условиях Финляндии (где у клена остролистного эффективный размер популяций значительно меньше и вид представлен в составе насаждений в меньшей степени) межпопуляционная подразделенность клена остролистного значительно выше ($F_{st} = 0.126$) (Rusanen et. al., 1996).

В связи с относительно высокой подразделенностью выборок из Архангельского лесхоза, описание генетической структуры некоторых из них приведено подробнее. В исследованиях использованы две группы насаждений Куртовского лесничества Архангельского лесхоза. В первую группу включены два насаждения Тр1-н (Архангельская-1) и Тр1-в (Архангельская-5) относительно невысокого хребта, расположенные на высоте около 200 м и 500 м над уровнем моря. Следующие три пробные площади Тр2-н (Архангельская-2), Тр2-с (Архангельская-6) и Тр2-в (Архангельская-8) находятся на другом хребте на высотной трансекте у подножий, на середине склона и на вершине плато на высотах около 200 м, 350 м и 550 м над уровнем моря, соответственно.

Таблица 2.4.3

Генетическая изменчивость выборок клена остролистного

Выборки	A	Доля полиморфных локусов по критериям		Гетерозиготность	
		1.00	0.95	H _e	H _o
1	2.0	80	80	0.162	0.183
2	2.4	100	100	0.275	0.308
3	2.4	100	100	0.219	0.247
4	2.4	80	60	0.181	0.187
5	2.8	100	80	0.207	0.230
6	2.8	100	100	0.300	0.341
7	2.2	100	80	0.206	0.230
8	2.2	100	80	0.225	0.236
9	1.8	80	40	0.150	0.144
10	1.8	60	60	0.213	0.188
11	1.8	80	40	0.138	0.142
12	2.8	100	80	0.231	0.256
13	2.6	100	80	0.215	0.230
14	2.4	100	100	0.319	0.290
15	2.4	100	80	0.244	0.230
16	2.4	100	80	0.244	0.248

Примечание: A - среднее число аллелей на локус, H_e - ожидаемая гетерозиготность и H_o - наблюдаемая гетерозиготность.

Таблица 2.4.4.

Параметры F-статистики в 16 выборках клена остролистного

Локус	F _{is}	F _{it}	F _{st}
Aat-1	-0.016	0.028	0.043
Dia-1	-0.089	-0.047	0.038
Aap-1	-0.100	-0.068	0.029
Aap-2	-0.041	0.013	0.052
Skd-1	0.158	0.203	0.053
В среднем:	0.026	0.070	0.045

Таблица 2.4.5

Параметры F-статистики в архангельских выборках
клена остролистного

Локус	F _{is}	F _{it}	F _{st}
Aat-1	0.035	0.068	0.034
Dia-1	-0.056	-0.038	0.017
Aap-1	-0.124	-0.098	0.023
Aap-2	-0.018	0.032	0.049
Skd-1	0.263	0.298	0.047
В среднем:	0.077	0.111	0.037

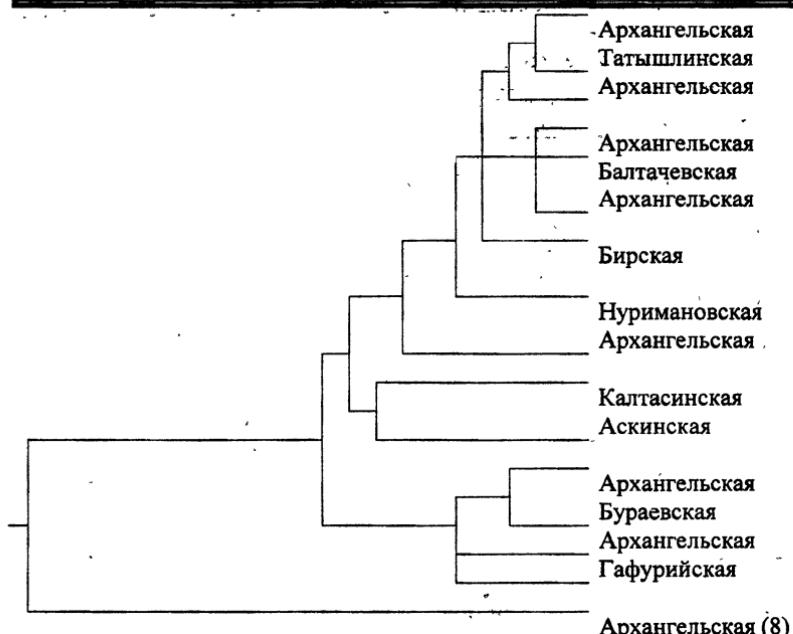


Рис. 2.4.1. Кластеризация выборок клена остролистного

Таблица 2.4.6

Различия генетической изменчивости и дифференциации двух видов клена

Показатели, по популяциям	<i>Acer platanoides</i>	<i>Acer saccharum</i>
Межвыборочная изменчивость F_{st}	0.045	0.049
Коэффициент инбридинга F	-0.124 - +0.263	-0.095 - +0.156
Генетическое расстояние D	0 - 0.033	0.002 - 0.013
Среднее число аллелей на локус	1.8 - 2.8	1.76 - 2.06

В выборках обнаружено 11-18 генотипов. Многие из них являлись специфичными для одной или нескольких изученных пробных площадей. Часть генотипов обнаруживали клинальные изменения частот от нижней части склона до вершины хребтов. На отдельных пробных площадях обнаружено 10 - 14 аллельных вариантов. В зависимости от пробной площади, доля редких (с частотой 0.05 и менее) аллелей доходила до 0.294. Аллели, причисляемые к редким в нижней части склона, в расположенных выше над уровнем моря выборках увеличивали частоту более 5 %. Как и генотипы (таблица 2.4.7.), часть аллелей обнаруживала направленные изменения частот от нижней части склона до вершины хребтов. Клинальное изменение генотипов и аллелей на высотном градиенте обычно объясняется дифференциальной выживаемостью различных генотипов в экологически разнообразных условиях и/или ступенчатым переносом генов. В нашем случае первое объяснение представляется более вероятным, так как изменения частот некоторых генотипов носят мозаичный характер.

Статистическая обработка результатов показала достоверные различия частот генотипов и аллелей трех разновысотных выборок клена остролистного группы Тр-2 в 8 из 15 теоретически возможных случаев. Это обусловлено относительным, своеобразием находящейся на вершине хребта выборки Тр2-в – на двух других участках дифференциация была не столь заметной. Расположенные внизу и на середине склона выборки Тр2-н и Тр2-с на дендрограмме образовали один кластер с уровнем генетического расстояния Ней $D = 0.006$, а уровень кластеризации между ними и выборкой Тр2-в оказался в несколько раз выше ($D = 0.026$). Гетерогенность генотипических и

Таблица 2.4.7.

Частоты генотипов, обнаруживающих клинальные изменения

Локусы	Генотипы	Частоты по выборкам		
		Tr2-н	Tr2-с	Tr2-в
Aat-1	1x3	0.062	0.100	0.250
Aat-1	3x3	0.906	0.767	0.625
Aat-1	4x4	0	0.033	0.062
Dia-1	2x3	0.062	0.067	0.094
Dia-1	3x3	0.938	0.933	0.844
Aap-2	1x1	1.000	0.900	0.688
Aap-2	1x2	0	0.033	0.062
Aap-2	1x3	0	0.067	0.219
Skd-1	2x2	0.437	0.333	0.187
Skd-1	3x3	0.125	0.200	0.406

аллельных частот на пробных площадях группы Тр-1 оказалась недостоверной, генетическое расстояние между ними составляло относительно небольшую величину $D = 0.011$. Эти закономерности выявлялись и при вычислении параметра межвыборочной изменчивости F_{st} . Выборки Тр2-н, Тр2-с и Тр2-в дифференцированы почти в два раза выше ($F_{st} = 4.1\%$) по сравнению с другой группой выборок ($F_{st} = 2.2\%$).

Рассмотрение структуры генетической изменчивости вдоль высотного градиента показало следующие закономерности. В обеих группах выборок наблюдается направленное возрастание показателей генетического разнообразия (таблица 2.4.8.). В расположенных на небольшой высоте над уровнем моря выборках Тр1-н и Тр2-н гетерозиготность практически одинакова, гетерозиготность имеет наибольшее значение в находящейся на высоте 550 м участке Тр2-в. Полукусковый анализ изменения гетерозиготности в целом обнаруживает те же тенденции. Этот факт можно объяснить преимущественным выживанием более гетерозиготных особей в экстремальных условиях среды. Близ вершин увалов у клена появляются признаки угнетения, деревья становятся низкорослыми и кривостольными, с шатрообразной кроной.

Для доказательства влияния клина факторов среды на состояние популяций можно привести следующие результаты наших исследований. На территории Ассинского лесничества Инзерского лесхоза нами проводилось изучение температурного режима в экстремально холодную зиму в разновысотных смешанных насаждениях дуба, клена и липы. Пробные площади были заложены на высотах приблизительно 100 (котловина), 200, 300 и 400 (плато) метров над уровнем моря. Вследствие инверсии перепады зимних температур составили до 10° на 300 м высоты (с абсолютным минимумом $50-52^{\circ}$ в межгорной котловине в год проведения исследования). До зимы 1979-1980 г.г., по данным лесоустройства, клен остролистный преобладал на изученных участках на всех контрольных высотах. В настоящее время на высотах 100 и 200 м клен выпал полностью, на высотах 300 и 400 м его запасы снизились на 58 и 14 %, соответственно. Запасы дуба по высотному градиенту снизились на 17, 14, 4 и 5 %, соответственно. Освободившиеся ниши были заняты листвой мелколистной (запасы которой возросли по высотам на 39, 71, 39 и 140 %). Такие драматические события, несомненно, воздействуют на численность популяции и, через его изменения, на генетическую структуру клена остролистного.

Для реализации стратегии сохранения генофонда клена остролистного в Европе предлагается для каждого вида и региона создать сеть из минимум 20 охраняемых чистых или смешанных насаждений, сеть должна быть структурирована согласно климатической изменчивости и включать краевые популяции (Rusanen, 1998). В каждом из этих насаждений должны быть

Таблица 2.4.8.

**Генетическая изменчивость разновысотных насаждений
клена остролистного**

Выборки	Среднее число аллелей на локус	Наблюданная гетерозиготность	Ожидаемая гетерозиготность
Tр1-н	2.07	0.162	0.183
Tр1-в	2.47	0.275	0.308
Tр2-н	2.47	0.181	0.187
Tр2-с	2.87	0.207	0.230
Tр2в	2.87	0.300	0.341

представлены по крайней мере 20 регулярно плодоносящих деревьев. Однако эта стратегия исходит из того, что в Западной и Центральной Европе клен остролистный не образует чистых и больших по размерам насаждений. Популяции здесь имеют небольшой эффективный объем, относительно большую межпопуляционную дифференциацию, доходящую до уровня $F_{st} = 12.6\%$ (Rusanen et. al., 1996).

В условиях Южного Урала на восточной границе клена остролистного, несомненно, требуется внесение корректив в предлагаемые меры сохранения генофонда популяций. В лесах Башкортостана на относительно небольшой площади было сосредоточено около 90 % эксплуатируемого запаса клена остролистного территории бывшего СССР (Рябоконь, 1984). Вид на Южном Урале часто образует большие по площади чистые кленовники или насаждения с его доминированием. В таблице 2.4.9. приведен список лесхозов, где клен остролистный получил наибольшее распространение. В четырех лесхозах сосредоточено более 70 % запаса кленовых насаждений Башкортостана и во всех приведенных в таблице 11 хозяйствах - более 96 %. Такая высокая концентрация кленовников теоретически должна обуславливать относительно большой объем популяций, слабую межпопуляционную дифференциацию из-за интенсивного потока генов.

Другим процессом, который должен учитываться при разработке программ сохранения генофонда, является изменение состояния насаждений. Нами на примере одного из районов наибольшего распространения клена остролистного (Архангельском) по материалам лесоустройства трех ревизионных периодов прослежена динамика средних таксационных показателей (табл. 2.4.10.). Наибольшие изменения произошли до предпоследнего лесоустройства в лесхозе, поэтому в таблице данные за 90-е годы не приведены. Судя по данным таблицы, в период с 1975 по 1985 г.г. произошли (по некоторым параметрам существенные) изменения состояния кленовников. В основном, их первоначальными причинами являются такие экстремальные факторы, как холодные зимние температуры.

Таблица 2.4.9.

Лесхозы с наибольшей концентрацией кленовых насаждений

Лесхозы	Запас	
	в тыс. куб. м.	в % от общего запаса кленовых насаждений
Инзёрский	4900	23.0
Гафурийский	4878	22.9
Макаровский	3118	14.7
Архангельский	2174	10.2
Кутарчинский	1419	6.7
Мелеузовский	1269	6.0
НП "Башкирия"	937	4.4
Нуримановский	558	2.6
Зианчуринский	499	2.3
Бурзянский	463	2.2
Авзянский	260	1.2

Таблица 2.4.10.

Динамика средних таксационных показателей насаждений клена остролистного в Архангельском лесхозе

Показатели	Годы лесоустройства		
	1963	1975	1985
Покрытая лесом площадь, га	43 596	39 303	21 531
Средний возраст, лет	97	105	118
Средний класс бонитета	IV.0	IV.0	IV.1
Средняя полнота	0.59	0.60	0.55
Запас на 1 га лесопокрытой площади	137	149	133

Нами были подобраны 29 выделов, в которых из-за труднодоступности в период с 1963 г. не проводились лесохозяйственные работы (рубки). Таким образом, изменения в составе древостоях этих выделов мы можем рассматривать, как проходившие в основном по естественным причинам. По лесоустроительным материалам трех ревизионных периодов мы проанализировали в этих выделах состав древостоя. Несмотря на имеющуюся в некоторых случаях разнонаправленность изменения доли клена, общей тенденцией является значительное уменьшение его представленности. Если до 1975 г. участие вида даже немного увеличилось в изученных насаждениях (с 38.6 до 40.0 %), то в следующее десятилетие его доля сильно снизилась (до 11.0 %). Полученная закономерность наглядно свидетельствует об интенсивности происходящих процессов в древостоях с участием клена остролистного.

Естественное возобновление само по себе не способно в полной мере обеспечить восстановление кленовников. В Архангельском лесхозе, например, 53 % вырубок клена не обеспечены в достаточной степени подростом

как по главной породе, так и по общему количеству (данные лесоустроительных организаций). В этой связи, представляет интерес изучение возможности сохранения генофонда при искусственном возобновлении.

С этой целью нами был проведен следующий эксперимент. В двух насаждениях были собраны семена с большого числа деревьев. Семена после перемешивания отдельно по выборкам использовали в 1996 г. для создания смешанных (Клен + Дуб) испытательных лесных культур общей площадью 14.4 га. Посев производился на площадках размером 4 x 2.5 м, общее число посадочных мест 7000 шт. на га. Согласно перечетным ведомостям инвентаризации двух участков лесных культур и актам технической приемки, достигнута высокая приживаемость клена остролистного (94.7 – 96.0 % в 1997 г. 88.9 – 89.9 % в 1999 г.).

С обоих участков были отобраны образцы для электрофоретического анализа. Было установлено, что по частотам аллелей потомство двух участков сбора семян (Клт-1 и Клт-2) были близки (табл. 2.4.11.). Различия были выявлены в основном по редким аллелям, достоверность различий по ним обычно тестируется на выборках большего объема. В любом случае, гетерогенность частот аллелей в двух выборках была статистически незначимой, кроме локуса Aap-2 (различия были достоверными из-за мономорфности выборки Клт-1). В целом, полученные результаты довольно сильно отличаются от наших данных (Янбаев и Садыков, 1998) об уровне генетических различий 2-х и 5-летнего подроста под пологом одного насаждения. Дифференциация выборок лесных культур была выражена меньше - коэффициент F_{st} в выборках подроста от естественного возобновления составил значение 1.9 % (против 2.6 % у подроста естественного возобновления).

Таблица 2.4.11.

Частоты аллелей лесных культур клена остролистного

Локусы	Выборки	Аллели			
		1	2	3	4
Aat-1	Клт-1	0.047	0.016	0.938	0
	Клт-2	0.010	0.083	0.906	0
Dia-1	Клт-1	0	0.031	0.969	0
	Клт-2	0	0	1.000	0
Aap-1	Клт-1	0.016	0.141	0.844	0
	Клт-2	0	0.115	0.875	0.010
Aap-2	Клт-1	1.000	0	0	0
	Клт-2	0.844	0.063	0.094	0
Skdh-1	Клт-1	0.031	0.656	0.313	0
	Клт-2	0	0.542	0.448	0.010

В таблице 2.4.12. приведена информация об уровне генетической изменчивости выборок культур. Все их параметры были выше, чем у подростка от естественного возобновления (у последнего среднее число аллелей на локус $A = 2.2$, наблюдаемая гетерозиготность $0.135-0.141$, ожидаемая гетерозиготность $0.156-0.162$). Параметры F-статистики Райта выборок лесных культур характеризует таблица 2.4.13. Наиболее важным кажется то, что в отличие высоких значений коэффициентов инбридинга у подростка семенного возобновления ($F_{it} = +0.141$, $F_{is} = +0.118$, индекс фиксации Райта F изменялся от $F = +0.130$ до $F = +0.134$), в лесных культурах инбридинг практически равен нулю. Распределение частот наблюдаемых генотипов точно соответствовало ожидаемым по правилу Харди-Вайнберга значениям.

Обычно клен остролистный в естественных и типичных для вида условиях доминирует в подростке, но из-за интенсивного отпада до возраста спелости доживает лишь его небольшая часть. Судьба подростка различна в зависимости от условий роста. Под пологом леса доминирует подрост в возрасте до 4 лет, элиминирующийся в массовом порядке в последующем. Многочисленный подросток более старшего возраста встречается лишь в окнах. Было установлено (Янбаев и др., 1998), что между разными возрастными группами подростка и материнскими деревьями существуют статистически достоверные различия аллельных и генотипических частот. Величина межвыборочной составляющей генетической изменчивости поколений даже под пологом одного насаждения была сопоставима с уровнем подразделенности географически подразделенных популяций (в среднем $F_{st} = 0.026$ против $F_{st} = 0.019$ у лесных культур). Большие положительные значения индекса фиксации Райта свидетельствуют о выраженным влиянии демографических процессов на формирование генетической структуры в популяции клена остролистного.

Таким образом, наибольшие генетические изменения происходят в первые годы жизни потомства, составляющие критический период возобновления клена остролистного (Кулагин, 1984). В это же время, видимо, элиминируется большая часть подростка от инбридинга (инбредная депрессия приводит к снижению шансов на выживание). Причиной выявленной дифференциации выборок сеянцев могут быть и генетические различия фенологических форм деревьев, вносящих разный вклад в образование семян в зависимости от погодных условий в период цветения.

Анализ литературы показал существование такой же тенденции у *Acetosella saccharum* (Simon et al., 1995). Число редких аллелей было вдвое выше в выборке деревьев. Параметры генетического разнообразия выборок разных поколений были близки, но проявлялась тенденция увеличения изменчивости с возрастом (например, по наблюдаемой гетерозиготности наблюдалось возрастание показателя с 0.120 до 0.142). Коэффициент инбридинга был выше у подростка. В другой работе (Fore et al., 1992) сравнивались параметры

Таблица 2.4.12.

Генетическая изменчивость выборок лесных культур

Выборки	Среднее число аллелей на локус	Гетерозиготность	
		Наблюдаемая	Ожидаемая
Клт-1	2.6	0.246	0.237
Клт-2	2.4	0.181	0.187

Таблица 2.4.13.

Параметры F-статистики в выборках лесных культур

Локусы	Fis	Fit	Fst
Aat-1	0.031	0.043	0.012
Dia-1	-0.032	-0.016	0.016
Aap-1	-0.150	-0.147	0.002
Aap-2	-0.135	-0.063	0.063
Skd-1	0.061	0.077	0.016
В среднем:	-0.021	-0.001	0.019

генетической изменчивости зародышей, 1-летних сеянцев и подроста с диаметром менее 2 см, деревьев двух групп возраста. В первых трех возрастных группах в отдельных локусах наблюдалась статистически значимые различия наблюдаемых и ожидаемых по правилу Харди-Вайнберга частот генотипов. В этих же локусах отмечались положительные значения коэффициента инбридинга.

Таким образом, при искусственном возобновлении клена остролистного не выражены наблюдающиеся у потомства естественного возобновления различия и дисбаланс генетической структуры возрастных групп. Кроме того, при искусственном семенном возобновлении клена пространственное распределение генотипов с разными фенологическими формами должно носить случайный характер (о влиянии фенологической изменчивости на генетическую структуру популяций см.: Янбаев и др., 1998). Эти выводы имеют важное значение при разработке программ сохранения генофонда популяций *in situ* при помощи искусственного лесовозобновления. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что возможно практиковать лесокультурные работы клена остролистного в большей степени – при этом не существует риска ухудшения (в том числе, обеднения) генофонда популяций.

Ряд изложенных здесь, а также полученных нами ранее данных (Янбаев и др., 1998) могут быть использованы при разработке программ по сохранению генофонда клена остролистного на Южном Урале:

- 1) клен остролистный обладает относительно невысоким уровнем генетической изменчивости;
- 2) в целом, географически разделенные популяции клена остролистного относительно слабо дифференцированы и, видимо, в регионе вид обладает в целом общим генофондом;
- 3) основной вклад в величину дифференциации вносит экологическая изменчивость условий местопроизрастания - насаждения на верхнем пределе распространения обладают наибольшим запасом генетической изменчивости и отличающейся генетической структурой;
- 4) в пределах насаждений наблюдается локальная пространственная структурированность генетической изменчивости, основными причинами которого могут быть особенности скрещивания (стратегии семенного возобновления) и пространственного расположения фенологически различающихся особей;
- 5) существующие в насаждениях фенологически различающиеся субпопуляции относительно дифференцированы также и генетически.
- 6) в ходе естественного отпада у клена остролистного за счет первоочередной элиминации генетически менее изменчивых особей происходит повышение уровня полиморфизма, что может рассматриваться как одна из составных частей стратегии семенного размножения вида, направленного на снижение эффекта инбридинга;
- 7) при искусственном возобновлении клена остролистного не выражены наблюдающиеся у потомства от естественного возобновления различия и дисбаланс генетической структуры возрастных групп.

2.5. Береза повислая⁶

Несмотря на распространность и лесохозяйственную ценность, виды берез слабо изучены в популяционно-генетическом плане (Махнев, 1987). Выявляемая изоферментными маркерами генетическая изменчивость, широко используемая для анализа внутривидовой дифференциации древесных растений (Hamrick et al, 1992), у берез практически не исследована (Payne and Fairbrothers, 1973; Wang, 1996). На основе исследования морфологической изменчивости известно (Махнев, 1987), что на популяционную структуру вида (помимо общих для древесных растений факторов, как долговечность, способность переносить семена и пыльцу, на далекие расстояния и т.д.) влияют специфические характеристики, связанные со способностью к гибридизации, разнообразием биоморф берез. Кроме того, на Южном Урале березовые леса подразделяются на коренные, ведущие свою историю от плейстоценового лиственнично-сосново-березового комплекса, и вторичные, возникшие на месте коренных хвойных и широколиственных насаждений (По-

⁶ Янбаев Ю А , Коновалов В Ф , Галеев Э И . Ганисов Р М.

пов, 1980). Целью данной работы является изучение аллозимной изменчивости бересы повислой (*Betula pendula* Roth.) , которая в Башкортостане занимает 26.3 % лесопокрытой площади и является самой распространенной лесообразующей породой.

На первом этапе исследований по данному разделу изучали генетическую изменчивость и дифференциацию 6 насаждений по 6 полиморфным локусам. Изученные нами выборки представляют березняки бореально-лесной, широколиственно-лесной и лесостепной зон растительности Южного Урала и Предуралья. Первая зона представлена Учалинским лесхозом (выборка Учл), расположенным на восточном макросклоне Южного Урала. Два исследованных насаждения (Ашинский лесхоз Челябинской области и Государственный природный заповедник "Шульган-Таш", пробные площади Аша и Штш) характеризуют широколиственно-лесную зону и находятся на западном макросклоне Южного Урала. Следующие три выборки представляют лесостепное Предуралье: Белебеевскую возвышенность (Шаранский лесхоз, Шрн) и Прибельскую холмисто-увалистую равнину (Кушнаренковский лесхоз, Кшн) и Уфимский лесхоз, Уфа).

Частоты аллелей изученных 6 локусов приведены в таблице 2.5.1. Вклад локусов в дифференциацию выборок неравнозначен - от практически полной гомогенности частот аллелей (Aat-2) до различий между максимальными и минимальными значениями 0.359 (NADHdh-1). За исключением NADHdh-1, в остальных локусах один и тот же аллель является наиболее общим во всех пробных площадях. Различия выборок в этом случае выявляются по относительно редким аллелям. Частый в березняках Южного Урала аллель NADHdh-1² в предуральских насаждениях встречается с меньшей частотой. Достоверные различия частот при использовании G-теста выявляются в 4 из 6 возможных случаях по аллелям и в 3 - по генотипам (таблица 2.5.2). Южноуральские выборки статистически значимо отличались по трем локусам на уровнях значимости $p < 0.01 - 0.05$, а предуральские - лишь по одному локусу, но на очень высоком ($p < 0.001$) уровне. Генетическая изменчивость, приходящаяся на долю межгрупповой компоненты, составила в среднем 5.1 % (табл. 2.5.3.) и при сравнении с 22 видами покрытосеменных видов ($F_{st} = 9.2\%$) (Алтухов и др., 1989) свидетельствует о промежуточном уровне дифференциации бересы повислой на Южном Урале.

Генетическое расстояние Нея между выборками изменялось от 0.005 до 0.051 (таблица 2.5.4.). Попарные сравнения показали, что внутри двух групп насаждений D изменялось в небольшой степени (в Предуралье $D = 0.006 - 0.021$ и на Южном Урале $D = 0.005 - 0.012$). В то же время между любой парой, выборки которой принадлежат к разным группам, значения генетических расстояний в несколько раз выше (0.017 - 0.051). Наглядное изображение данных табл. 2.5.4. дает дендрограмма (рис. 2.5.1.).

Таблица 2.5.1.

Частоты аллелей полиморфных локусов бересклета повислого

Локусы	Аллели	Выборки				
		Учл	Аша	Штш	Уфа	Кин
Aap-1	1	0.067	0.050	0.094	0.149	0.297
	2	0.933	0.800	0.828	0.838	0.703
	3	0	0.083	0.031	0.014	0
	4	0	0.067	0.016	0	0
	5	0	0	0.031	0	0
Aap-2	1	0	0	0.016	0	0.063
	2	0.633	0.767	0.688	0.878	0.672
	3	0.089	0.117	0.203	0.014	0
	4	0.278	0.117	0.094	0.108	0.266
	5	0.011	0	0.016	0.014	0.016
Aat-1	1	0.133	0.033	0.063	0.068	0.063
	2	0	0.117	0.031	0.068	0.016
	3	0.789	0.800	0.766	0.743	0.719
	4	0.067	0.050	0.125	0.108	0.188
	5	0.044	0.067	0.063	0.054	0.031
Aat-2	1	0.956	0.933	0.938	0.946	0.969
	2	0.989	0.950	0.906	0.986	1.000
	3	0.011	0.050	0.063	0.014	0
	4	0	0	0.031	0	0
	5	0.433	0.383	0.375	0.595	0.734
NADHdh-1	1	0.567	0.617	0.625	0.405	0.266
	2					0.328

Таблица 2.5.2.

Статистическая оценка гетерогенности частот аллелей и генотипов в выборках бересклета повислого

Локусы	Гетерогенность частот аллелей/генотипов			
	В группах популяций		Межгруппы популяций	
	Южный Урал	Предуралье		
Aap-1	**/ns	ns	***/ns	***/ns
Aap-2	*/**	***/**		***/**
Aat-1	**/**	ns		*/*
Aat-2	ns	ns		ns
Aat-3	ns	ns		ns
NADHdh-1	ns	ns	***/**	***/**
Всего случаев:	3/2	1/1		4/3

Примечания: знаками (*) , (**) и (***) отмечены достоверные различия частот на уровнях значимости 0.05, 0.01 и 0.001, соответственно; ns - различий нет.

Таблица 2.5.3.

Межвыборочная подразделенность березы повислой

Локусы	Показатель межвыборочной подразделенности F_{st}		
	В группах выборок		Между группами выборок
	Южный Урал	Предуралье	
Aap-1	0.022	0.021	0.043
Aap-2	0.026	0.078	0.068
Aat-1	0.015	0.018	0.018
Aat-2	0.002	0.002	0.003
Aat-3	0.019	0.011	0.025
NADHdh-1	0.003	0.015	0.081
В среднем:	0.015	0.029	0.051

Таблица 2.5.4.

Генетические расстояния Нся между выборками березы повислой

Выборки	Учл	Аша	Штш	Уфа	Кшн	Шрн
Учл.	0	0.012	0.010	0.020	0.037	0.038
Аша		0	-0.005	0.017	0.051	0.029
Штш			0	0.021	0.051	0.034
Уфа				0	0.018	0.006
Кшн					0	0.021
Шрн						0

Примечание: жирным шрифтом выделены значения генетических расстояний пар выборок разных групп.

На ней представлены две группы кластеров, разделенные на уровне кластеризации $D = 0.033$. Наибольший вклад в разделение южноуральских и предуральских выборок на дендрограмме внес локус NADHdh-1. По остальным локусам (как правило с небольшими значениями D) выборки располагались на дендрограмме хаотично или практически не были разделены. Возможно, локус NADHdh-1 можно отнести к разряду диагностических для разделения популяций березы повислой.

В целом влияние инбридинга на генетическую структуру популяций выражено слабо. Параметры F_{is} и F_{it} свидетельствали о всего 0.7 и 5.9 процентном инбридинге особи относительно популяции и вида в целом, соответственно. Сравнение генетической изменчивости (табл. 2.5.5.) показывает тенденцию к увеличению полиморфизма в южноуральских выборках. В основном, эта закономерность получена из-за большого разнообразия на пробных площадях Аша и Штш из западного макросклона Южного Урала, так как участок УЧЛ с восточного макросклона южноуральских гор близок по полиморфизму к предуральским выборкам.

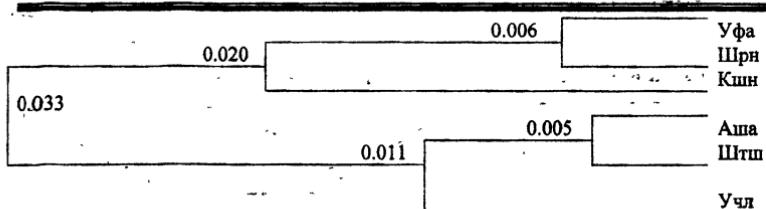


Рис. 2.5.1. Дендрограмма, показывающая кластеризацию выборок березы повислой (цифрами показаны генетические расстояния Нея D между кластерами и выборками).

Таблица 2.5.5.

Генетическая изменчивость выборок березы повислой

Выборки	Среднее число аллелей	Полиморфность локусов по критериям		Гетерозиготность	
		0.95	1.00	ожидаемая	наблюдаемая
Учл	2.5	66.7	100	0.241	0.268
Аша	2.8	100.0	100	0.300	0.299
Штш	3.5	100.0	100	0.344	0.327
В среднем:	2.9	88.9	100	0.295	0.298
Уфа	2.8	83.3	100	0.261	0.258
Кшин	2.5	66.7	83.3	0.271	0.302
Шри	2.5	66.7	100	0.229	0.228
В среднем:	2.6	72.2	94.4	0.254	0.263

Наши данные подтверждают предложенную А.К.Махневым (Махнев, 1987) схему подразделения березы повислой на Урале на группы популяций по морфологическим признакам. Видимо, изученные нами предуральские выборки относятся к группе выделенных автором камско-уфимско-бебеевских популяций и остальные - к южноуральской низкогорной группе. В этой связи представляет интерес изучение с использованием изоферментных маркеров выделяемой А.К. Махневым третьей группы (высокогорные южноуральские) популяций.

В связи с тем, что по локусу NADHdh1 березняки четко разделились на группы горных и равнинных (предуральских) популяций, мы проанализировали по этому локусу дифференциацию большего числа выборок (табл. 2.5.6.). Увеличение числа пробных площадей в целом подтвердило выявленную нами ранее закономерность распределения березы повислой по генетической структуре на группы равнинных и горных насаждений с довольно высоким уровнем межвыборочной дифференциации ($F(ST) = 0.05$). Несмотря на

Таблица 2.5.6.

Частоты аллелей и генотипов NADHdh-1

Выборки	Частота аллелей		Частота генотипов		
	1	2	1/1	1/2	2/2
1. Уфимская (Уфа)	0.595	0.405	0.297	0.595	0.108
2. Шаранская (Шрн)	0.672	0.328	0.437	0.469	0.094
3. Кушнаренковская (Кшн)	0.734	0.266	0.500	0.469	0.031
4. Белебеевская (Блб)	0.563	0.438	0.281	0.563	0.156
5. Татышлинская (Ттш)	0.375	0.625	0.125	0.500	0.375
6. Месягутовская (Мсг)	0.566	0.444	0.333	0.444	0.222
7. Стерлибашевская (Стр)	0.583	0.417	0.367	0.433	0.200
8. Дюртюлинская (Дрг)	0.567	0.433	0.200	0.733	0.067
9. Кумертауская (Кмр)	0.483	0.517	0.233	0.500	0.267
10. Ашинская (Аша)	0.383	0.617	0.167	0.433	0.400
11. Бурзянская (Штш)	0.375	0.625	0.187	0.375	0.437
12. Учалинская (Учл)	0.433	0.567	0.222	0.422	0.356
13. Зилаирская (Злр)	0.439	0.561	0.178	0.522	0.300
14. Карайдельская (Крд)	0.375	0.625	0.062	0.625	0.312
15. Баймакская (Бмк)	0.450	0.550	0.133	0.633	0.233
16. Абзелиловская (Абз)	0.350	0.650	0.033	0.633	0.333
17. Белорецкая (Блр)	0.400	0.600	0.133	0.533	0.333

довольно большой разброс частот аллелей и генотипов (таблица 2.5.6.), можно заметить тенденцию к преобладанию аллеля 1 у равнинных березняков. В группе горных насаждений частота аллеля 1 значительно ниже (изменяется от 0.350 до 0.450). В целом, равнинные березняки более дифференцированы, главным образом, за счёт выделения по частотам аллелей и генотипов Татышлинской и Кумертауской пробных площадей. Следует отметить, что эти два насаждения находятся на границе горно-лесной и лесостепной зон. При их исключении различия равнинных насаждений становятся статистически недостоверными.

Равнинные березняки образовали на дендрограмме собственную, довольно гетерогенную, группу кластеров с максимальным уровнем кластеризации $D = 0.031$ (рис. 2.5.2.). Внутри группы какой-либо закономерности в пространственном распределении пробных площадей не выявлено. Например, в одном из кластеров оказались находящиеся на значительном удалении друг от друга Месягутовская, Стерлибашевская и Дюртюлинская выборки. Территориально близкие насаждения Белебеевской возвышенности (пробные площади Шрн и Блб) разделены на уровне кластеризации $D = 0.031$. Вторая группа выборок включает, за исключением двух насаждений из лесостепной зоны (Татышлинская и Кумертауская пробные площади), все горные березняки. Они разделены на дендрограмме от равнинных березняков на высоком уровне генетического расстояния ($D = 0.093$). Внутри группы дифференциация выражена намного меньше.

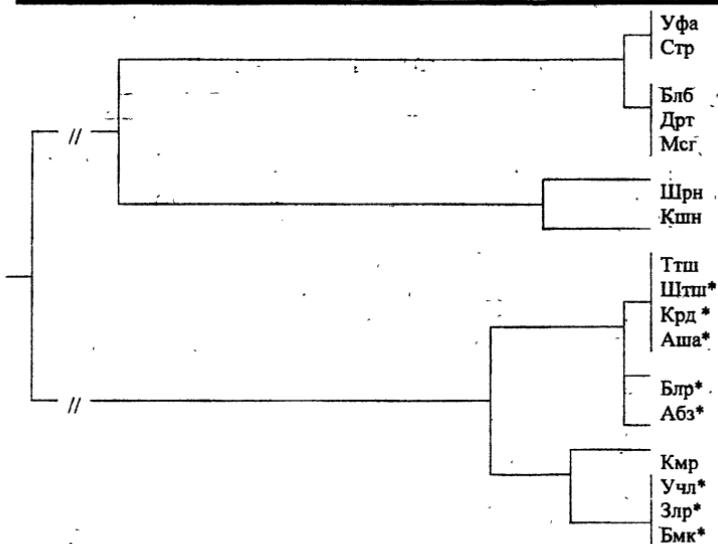


Рис.2.5.2. Кластеризация выборок бересклета повислого.
Знаком (*) обозначены горные березняки).

Находящиеся на границе лесной и степной зон Кумертауская, Зилаирская, Баймакская и Учалинская выборки образовали свой собственный кластер. Другой кластер горных березняков разделен на уровне $D = 0.012$, в пределах него какого-либо соответствия генетических и географических расстояний не имеется.

Таким образом, по большинству использованных показателей изученные нами выборки бересклета на Южном Урале образуют две метапопуляции.

2.6. Осина⁷

Осина (*Populus tremula L.*) от других изученных нами древесных видов отличается преобладанием вегетативного размножения, ее насаждения обычно представлены мозаикой клонов. До недавнего времени предпринимались попытки найти способы надежной идентификации клонов с использованием морфологических и фенологических признаков, уровня пloidности, полового диморфизма и др. Несмотря на то, что клоны состоят из генетически идентичных деревьев, из-за модифицирующего влияния среды даже в пределах рамок выявлялась значительная вариабельность. Таким образом, оценка ре-

⁷ Янбаев Ю А., Юмагужина Н.С., Кулагин А.Ю.

ально существующего генетического разнообразия осины с использованием фенотипических показателей не представляется достаточно надежной. Эту возможность представляют генетические маркеры (Bergmann, 1981), из которых для массового анализа наиболее доступны изоферменты. Теоретически при достаточном наборе локусов возможно идентифицировать каждый клон. Целью данного раздела является оценка генетического разнообразия осины горно-лесной части Южного Урала, выявление различий насаждений по составу клонов и анализ некоторых генетических процессов при семенном возобновлении.

В районе заповедника "Шульган-Таш" случайным образом были подобранны по таксационным показателям 8 насаждений без предварительной оценки морфологического разнообразия древостоев. Основная часть пробных площадей (№№ 1-4, 6-8) расположена на территории Бурзянского района, выборка 5 находится в Кугарчинском районе Башкортостана. Девятая пробная площадь (выборка подроста от семенного возобновления) заложена в Ашинском районе (Челябинская область).

Для определения уровня генетической изменчивости осины на видовом уровне мы использовали 19 локусов одиннадцати ферментных систем. При этом, были использованы клоны некоторых бурзянских выборок и образцы дополнительной пробной площади из Белорецкого района. Анализировали изменчивость аспартатаминотрансферазы (локусы Aat-1, Aat-2, Aat-3), глутаматдегидрогеназы (Gdh-1), формиатдегидрогеназы (Fdh-1), 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (6-Pgdh-1, 6-Pgdh-2), лейцинаминопептидазы (Lap-1, Lap-2), малатдегидрогеназы (Mdh-1), супероксиддисмутазы (Sod-1, Sod-2), НАДНдегидрогеназы (NADHdh-1), шикиматдегидрогеназы (Skdh-1, Skdh-2), диафоразы (Dia-1, Dia-2) и алкогольдегидрогеназы (Adh-1, Adh-2). Ряд использованных нами ферментов (AAT, ADH, LAP, SKDH, MDH, 6-PGD и GDH) также были изменчивы по данным других исследователей (Mitton and Grant, 1980; Bergmann, 1981; Cheliak and Pitel, 1984; Nyun et al., 1987; Liu and Furnier, 1993; Culot et al., 1995). В отличие от наших результатов, другие авторы не выявили полиморфизм супероксиддисмутазы (Liu and Furnier, 1993). Изменчивость трех систем (FDH, NADHDH, DIA), видимо, описана нами впервые.

Вычисления показали, что осину можно отнести к числу наиболее полиморфных видов (среднее число аллелей на локус $A = 3.1$, наблюдалась гетерозиготность $H_0 = 0.315$, ожидаемая гетерозиготность $H_0 = 0.342$). Это заключение подтверждается данными по другому виду осины *P. tremuloides* (Нун et al., 1987). Канадскими исследователями использованы 8 ферментных систем (ACO, PER, PGM, 6-PGD, PGI, GDH, GOT и IDH), контролируемые 15 полиморфными локусами. Доля полиморфных локусов в выборках изменялась от 66.7 до 93.3 % (в среднем $P = 79.2\%$), выявлено 2.7 аллеля на локус (с изменениями в пределах $A = 2.1 - 2.9$), средняя ожидаемая и наблюдалась гетерозиготность составили $H_e = 0.235$ и $H_0 = 0.125$, соответст-

венно (с изменениями $H_e = 0.207 - 0.270$ и $H_o = 0.101 - 0.160$). Некоторые различия в величине параметров генетического разнообразия *P. tremula* (наши данные) и *P. tremuloides* могут быть связаны с видовыми особенностями и различиями в наборе локусов. При этом, наш вывод о высокой полиморфности осины не меняется. Большая генетическая изменчивость осины сопровождается ее исключительно высоким морфологическим разнообразием (Молотков и др., 1982).

Для определения клоновой структуры насаждений нами изучены генотипы всех имеющихся в пробных площадях № 1-8 деревьев с использованием 9 полиморфных локусов *Aat-1*, *Aat-2*, *Aat-3*, *Gdh-1*, *Fdh-1*, *6-Pgdh-1*, *6-Pgdh-2*, *Lap-1* и *Lap-2*. Результаты анализов приведены на рис. 2.6.1. Лишь в выборке 4 (на рисунке не показана) наблюдалось явное преобладание одного клона. На первом этапе исследований среди 32 деревьев пробной площади была выявлена полная гомогенность состава изоферментов. Увеличение площади отбора проб и доведение числа деревьев до 96 позволило выявить лишь два новых многолокусных генотипа (и, соответственно, два дерева – их носителей). Таким образом, около 98 % деревьев на пробной площади были представлены одним клоном. В некоторых выборках доминировали 2-3 клона, остальные деревья представлены большим числом уникальных многолокусных генотипов. В отдельных насаждениях существует сразу несколько клонов с относительно близкой представленностью. Даже в изолированных небольших по численности выборках 1 и 5 выявлено 7 - 13 клонов с различными многолокусными генотипами. Как и в нашем случае, с использованием 7 полиморфных ферментных систем было показано, что у осины (*P. tremula*) существуют три типа пространственной структуры деревьев (Culot et al., 1995). В насаждениях, где деревья отстоят далеко друг от друга, каждая особь представлена отдельным генотипом. В другом случае выявлен моноклональный состав небольших изолированных групп. И, наконец, чистые и большие по объему насаждения представлены клонами, у которых пространственное размещение деревьев перекрывалось.

Необходимо здесь еще раз подчеркнуть эффективность изоферментных генетических маркеров для идентификации клонов осины. Среди 82 клонов восьми выборок лишь два имели одинаковый многолокусный гомозиготный генотип (1122222223333322, выборки 3 и 7). Таким образом, с использованием 9 полиморфных локусов удалось генетически идентифицировать 97.6 % клонов. Работа канадских ученых (Cheliak and Pitel, 1984) также свидетельствует об эффективности электрофоретического анализа, по сравнению с использованием морфологических признаков. С применением морфологии листьев, фенологических показателей, признаков пола, формы ствола, цвета коры и других показателей были выделены 10 клонов *P. tremuloides*. Электрофорез ферментов 9 локусов показал, что лишь два предполагаемых клона были генетически гомогенны и таким образом, действительно представляли рабочи этих клонов. В пределах каждого из остальных 8 предполагаемых

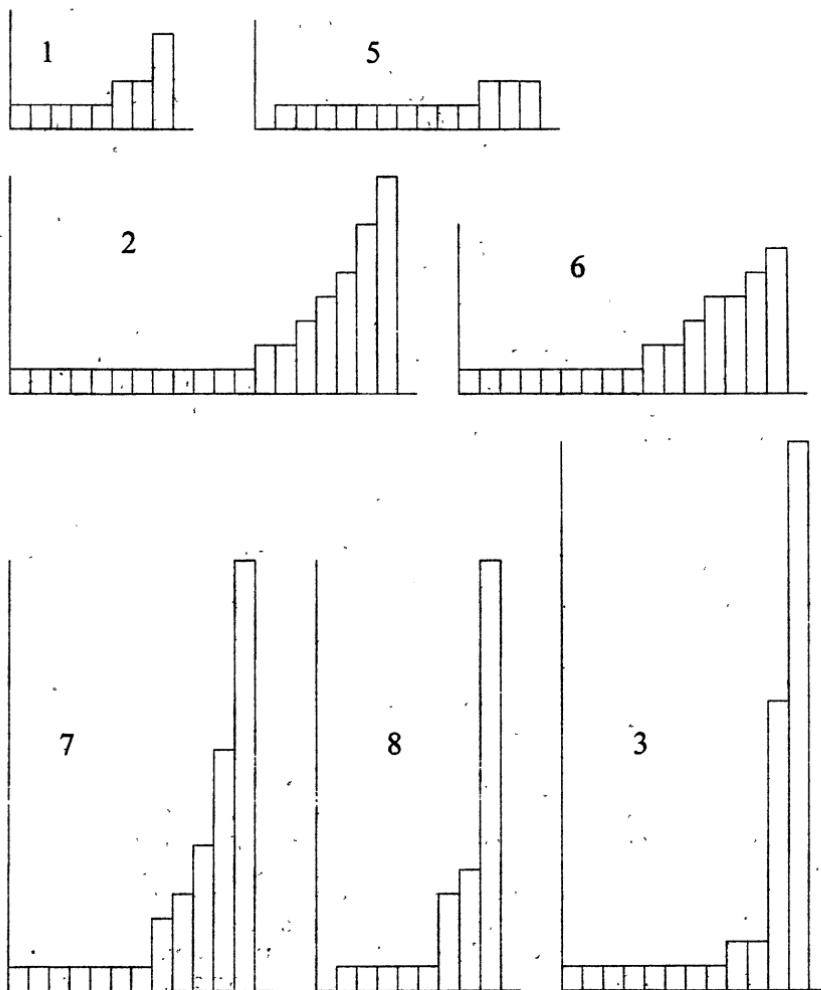


Рис. 2.6.1. Клоновая структура насаждений осины (1-8 – номера выборок). В пределах выборок каждая вертикальная колонка обозначают один клон. Высота колонки соответствует доле участия клона в выборке.

нов были выявлены различные многолокусные генотипы (с преобладанием одного или двух генотипов, с отсутствием преобладания).

Клоны отдельных древостоев в пределах исследованного региона значительно отличаются по составу генотипов (табл. 2.6.1.). Среди 8 выборок лишь 7 из 33 выявленных аллелей (21 %) были общими. В отличие от других изученных нами видов древесных, своеобразие отдельных выборок определялось не только редкими, но и частыми аллелями.

Выявлены значительные различия между насаждениями по уровню генетического разнообразия. Среднее число аллелей на локус изменяется от $A = 1.7$ до $A = 2.2$, доля полиморфных локусов – от $P = 0.44$ до $P = 0.78$. Наблюдаемая гетерозиготность составила 13 - 50 %, пределы изменения ожидаемой гетерозиготности несколько меньше (12 – 33 %). Ни в одной выборке клонов не выявлены положительные значения коэффициента инбридинга или индекса фиксации Райта (параметр изменился от $F = -0.07$ до $F = -0.49$). Различия выборок по уровню изменчивости нагляднее демонстрируются при полокусном анализе. В таблице 2.6.2. приведены значения наблюдаемой гетерозиготности по отдельным локусам. Показатель меняется по большинству локусов (*Aat-1*, *Gdh-1*, *6-Pgdh-1*, *Lap-1*) от нуля до 100 %. В отдельных случаях (выборка 4) локусы были мономорфны или все особи были гетерозиготны, что вызвано практически полной моноклональной структурой насаждения. В двух насаждениях (№№ 6 и 8) по некоторым локусам (*Lap-1*, *Gdh-1*, *6-Pgdh-1*) гетерозиготность была фиксированной по одной и той же паре аллелей, хотя здесь представлены несколько многолокусных генотипов. Этот феномен требует отдельного изучения.

Сложившуюся пространственную клоновую структуру насаждений может изменить семенное возобновление за счет перемешивания имеющихся генотипов. Для демонстрации этого явления с помощью прямых генетических данных мы провели следующий модельный эксперимент. На территории Ашинского лесхоза (Челябинская область) нами был подобран участок семенного возобновления. С одной стороны полоса группы подроста ограничена "стеной" осинника, с другой стороны находится вырубка. Семенной характер возобновления не вызывал сомнений из-за произрастания подроста на склоне на тонком слое субстрата (продукты выветривания), который подстилается щебенистой материнской породой. Таким образом, возможность вегетативного размножения за счет распространения корневых отпрысков от материнского насаждения исключалась.

Была поставлена задача выяснения двух возможных сценариев семенного размножения. Как порода-пионер, осина за счет способности к распространению пыльцы и семян на дальние расстояния теоретически может формировать состав генотипов самосева таким образом, что в ограниченном участке в новом поколении представлен весь генофонд окружающей части популяции. С другой стороны, как уже нами было показано выше в этом разделе, в со-

Таблица 2.6.1.

Частота генотипов осины по выборкам и локусам

Локусы	Генотипы	Выборки							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Aat-1	1 x 1	1.00	0.25	0.66	0	0.38	0.64	0.33	0.87
	1 x 2	0	0.55	0.33	1.00	0.38	0	0.66	0.12
	1 x 3	0	0.05	0	0	0.23	0	0	0
	1 x 5	0	0.15	0	0	0	0	0	0
	2 x 3	0	0	0	0	0	0.35	0	0
Aat-2	1 x 1	0.71	0	0	0	0	0	0	1.00
	1 x 2	0.28	0	0	0	0	0	0.33	0
	2 x 2	0	1.00	1.00	1.00	1.00	0.64	0.66	0
	3 x 3	0	0	0	0	0	0.28	0	0
	3 x 4	0	0	0	0	0	0.07	0	0
Aat-3	1 x 2	0.28	0	0.25	0	0.23	0	0.25	0
	2 x 2	0.57	0	0.75	1.00	0.76	0.64	0.66	1.00
	2 x 3	0.14	0	0	0	0	0	0.08	0
	3 x 3	0	1.00	0	0	0	0.07	0	0
	3 x 4	0	0	0	0	0	0.28	0	0
Gdh-1	1 x 2	0	0.30	0.16	0	0.38	0.33	0.08	1.00
	2 x 2	1.00	0.70	0.83	1.00	0.53	0.66	0.91	0
	2 x 3	0	0	0	0	0.07	0	0	0
Fdh-1	1 x 2	0	0.30	0	0	0.46	0.77	0.08	0.37
	2 x 2	1.00	0.70	1.00	1.00	0.53	0.22	0.66	0.62
	2 x 3	0	0.00	0	0	0	0	0.25	0
6Pgdh-1	2 x 3	0.14	0.30	0	1.00	0	0.88	0	1.00
	3 x 3	0.85	0.45	0.66	0	1.00	0.11	1.00	0
	3 x 4	0	0.25	0.33	0	0	0	0	0
6Pgdh-2	1 x 2	0	0	0	0.33	0	0	0	0
	1 x 3	0	0	0	0.33	0	0	0	0
	2 x 3	0.14	0.10	0	0	0	0	0	0
	3 x 3	0.71	0.45	0.66	0	0.53	0.33	1.00	0.62
	3 x 4	0.14	0.45	0.33	0.34	0.46	0.55	0	0.37
	4 x 4	0	0	0	0	0	0.11	0	0
Lap-1	2 x 2	0	0	0	0	0	0	0.16	0.62
	2 x 3	0	0	0.08	0.33	0.15	1.00	0.16	0.37
	3 x 3	1.00	1.00	0.83	0.66	0.84	0	0.66	0
	4 x 4	0	0	0.08	0	0	0	0	0
Lap-2	1 x 2	0	0.20	0.08	0	0	0	0	0
	2 x 2	1.00	0.80	0.41	1.00	1.00	0	0.16	0.62
	2 x 3	0	0	0.50	0	0	0	0.33	0
	2 x 5	0	0	0	0	0	0	0	0.25
	2 x 6	0	0	0	0	0	0	0.08	0
	3 x 3	0	0	0	0	0	0.66	0.16	0
	3 x 4	0	0	0	0	0	0.33	0	0
	3 x 5	0	0	0	0	0	0	0.16	0
	3 x 6	0	0	0	0	0	0	0.08	0
	5 x 5	0	0	0	0	0	0	0	0.12

Таблица 2.6.2.

Наблюдаемая гетерозиготность локусов в клонах осины

Локусы	Выборки							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Aat-1	0	0.75	0.33	1.00	0.61	0.40	0.67	-0.12
Aat-2	0.29	0	0	0	0	0	0.33	0
Aat-3	0.43	0	0.25	0	0.23	0	0.33	0
Gdh-1	0	0.30	0.17	0	0.46	0.40	0.08	1.00
Fdh-1	0	0.30	0	0	0.46	0.73	0.33	0.37
6Pgd-1	0.14	0.55	0.33	1.00	0	0.93	0	1.00
6Pgd-2	0.29	0.55	0.33	1.00	0.46	0.67	0	0.37
Lap-1	0	0	0.08	0.33	0.15	1.00	0.17	0.37
Lap-2	0	0.20	0.58	0	0	0.33	0.67	0.25
В среднем:	0.13	0.29	0.23	0.37	0.26	0.50	0.29	0.39

ставе материнского насаждения доля отдельных клонов может различаться в значительной степени. Удельный вес отдельных клонов в формировании генотипического состава семенного подростка может сильно различаться и генетическая изменчивость подроста в этом случае на ограниченной площади должна быть пространственно структурирована.

Нами была проведена угло- и длиномерная съемка на участке семенного возобновления для определения X и Y координат имеющихся 64 экземпляров подроста. Для определения пространственной структурированности генотипов использовали автокорреляционный анализ. Метод обычно применяется для тестирования степени родства близкорасположенных особей (расположенных в классах дистанций определенной величины), по сравнению с любыми случайными группами выборки. Количественная оценка убывания родства особей с увеличением дистанции между ними производится вычислением индекса Морана I (Cliff and Ord, 1981), который может варьировать от -1 до +1. Другими мерами убывания степени родства могут служить генетические расстояния, обычно используемые при электрофоретических исследованиях. В данном случае нами использовано генетическое расстояние d (Gregorius, 1974). Если значения I и d изменяются вслед за увеличением классов дистанций и выходят за пределы доверительного интервала, можно утверждать о статистически неслучайном распределении генотипов в двумерном пространстве. Вычисление параметров автокорреляционного анализа было произведено с применением компьютерной программы SGS (версия 1b), которую нам любезно предоставил доктор Бернд Деген (институт INRA, Франция).

Для генотипирования подроста использовали 5 полиморфных локусов (*Aat-1*, *Aat-2*, *Fdh-1*, *Gdh-1* и *6-Pgdh-1*). Среди 64 особей был выявлен 31 многолокусный генотип (табл. 2.6.3.), частота каждого из них менялась в пределах 0.016 (1 особь) и 0.125 (8 особей). Могут быть две причины встречаемости одних и тех же многолокусных генотипов при семенном возобновлении. Они могут быть потомством одних и тех же пар родительских деревьев (клонов). Однако эту гипотезу трудно экспериментально проверить. Другой, более вероятной, причиной может быть ограниченное число локусов, которые не позволили дифференцировать фактически различающиеся многолокусные генотипы. По данному набору локусов мы вновь определили число многолокусных генотипов в 8 выборках осины из района заповедника "Шульган-Таш". Как уже упоминалось, по 9 полиморфным локусам практически для всех клонов удалось определить их уникальный генетический портрет. При использовании 5 локусов из 82 клонов лишь 34 из них имели свои многолокусные генотипы, то есть большая часть фактически генетически уникальных клонов обнаружила кажущуюся гомогенность.

Визуальный осмотр пространственного распределения генотипов подроста (рис. 2.6.2.) показал, что по некоторым локусам генетическая изменчивость может быть пространственно структурированной. В качестве примера можно привести локус *Aat-1*. Две особи являются носителями одного из аллелей в гетерозиготной форме, расстояние между ними не превышает 5 метров. По другим, более частым, аллелям и локусам потребовалась статистическое подтверждение предположения о пространственной структурированности генетической изменчивости. Компьютерный анализ показал, что аллели двух локусов (*Aat-1* и *Gdh-1*) распределены в пределах пробной площади случайным образом. Видно (рис. 2.6.3.), что значения индекса Морана находятся в пределах области доверительного интервала, а средний по классам дистанций индекс близок к нулю. Такой же результат получен при вычислении генетического расстояния Грегориуса *d*. По двум локусам наблюдалось статистически значимые изменения индекса Морана и *d* с увеличением класса дистанции. В локусе *Fdh-1* его значения возрастали до достоверного уровня в классе дистанции 8 – 10 м, в локусе *6-Pgdh-1* – убывали. В пятом локусе (*Aat-2*), хотя величины индекса Морана не выходили за пределы доверительного интервала, генетическое расстояние статистически значимо возрастало с класса дистанции 8-10 м до класса 18-20 м (рис. 2.6.4.). Приведенный рисунок может служить классическим примером неслучайного распределения генотипов в двумерном пространстве. Вычисления с использованием одновременно всех локусов показали, что значения индекса Морана лежат в пределах доверительного интервала, а генетическое расстояние Грегориуса статистически значимо увеличивается с класса дистанции 8-10 м ($P < 0.28$). Таким образом, неслучайное распределение генотипов трех из 5 изученных локусов

Таблица 2.6.3.

Частота многолокусных генотипов семенного подроста осины

Aat-1	Aat-2	Fdh-1	Gdh-1	6-Pgdh-1	Число	Частота
11	22	11	11	44	1	0.016
11	22	12	11	24	2	0.031
11	22	12	11	44	2	0.031
11	22	12	12	44	1	0.016
11	22	22	11	44	6	0.094
11	22	22	12	44	2	0.031
11	22	22	22	44	1	0.016
12	22	12	11	24	1	0.016
12	22	12	11	44	2	0.031
12	22	12	12	44	1	0.016
12	22	22	11	34	1	0.016
12	22	22	11	44	5	0.078
12	22	22	12	44	2	0.031
12	22	22	22	44	1	0.016
15	22	22	11	24	1	0.016
22	12	22	11	44	1	0.016
22	12	22	22	44	1	0.016
22	22	12	11	24	1	0.016
22	22	12	11	44	2	0.031
22	22	12	12	44	3	0.047
22	22	12	22	44	1	0.016
22	22	22	11	44	8	0.125
22	22	22	12	14	1	0.016
22	22	22	12	22	2	0.031
22	22	22	12	24	1	0.016
22	22	22	12	44	8	0.125
22	22	22	22	24	1	0.016
22	22	22	22	44	2	0.031
22	23	12	12	14	1	0.016
23	22	12	11	44	1	0.016
23	22	22	11	24	1	0.016

свидетельствует, что при семенном возобновлении осины генетическая изменчивость может быть пространственно структурирована, в зависимости от генотипического состава окружающих деревьев (клонов). Ограниченнное число родительских деревьев (клонов), видимо, является причиной выявленного у подроста высокого коэффициента инбридинга ($F = + 0.226$). В выборке БУР, представляющем клоны 8 насаждений, выявляется экзесс гетерозигот.

Для определения степени общности генофонда осины в разных частях Южного Урала мы сравнили по 5 полиморфным локусам генетическую структуру двух выборок. Одна из них (условно обозначена ШТШ) включает все обнаруженные многолокусные уникальные генотипы 8 выборок в

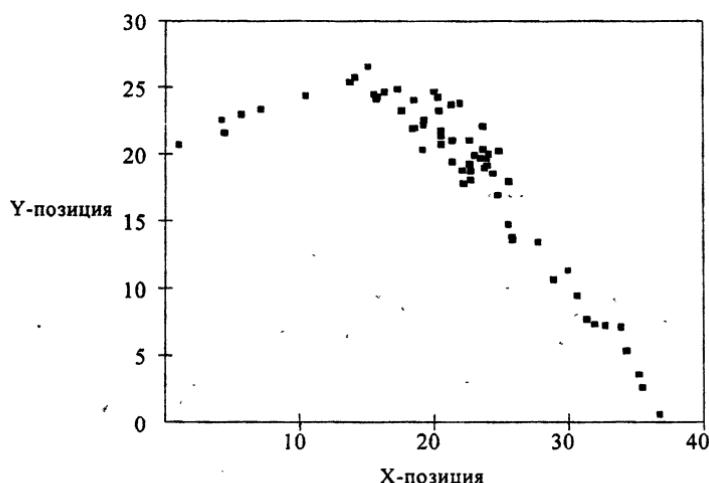


Рис. 2.6.2. Пространственное размещение семенного подроста осины.

Индекс Морана.

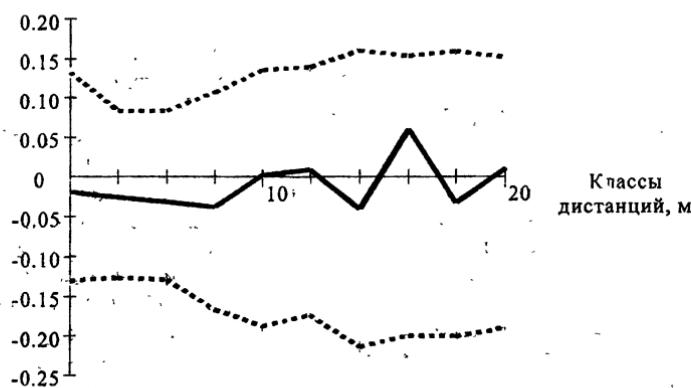


Рис. 2.6.3. Пример отсутствия пространственной структурированности генетической изменчивости (локус Gdh-1). Точечными линиями изображены границы 95 %-ного доверительного интервала.

Генетические расстояния

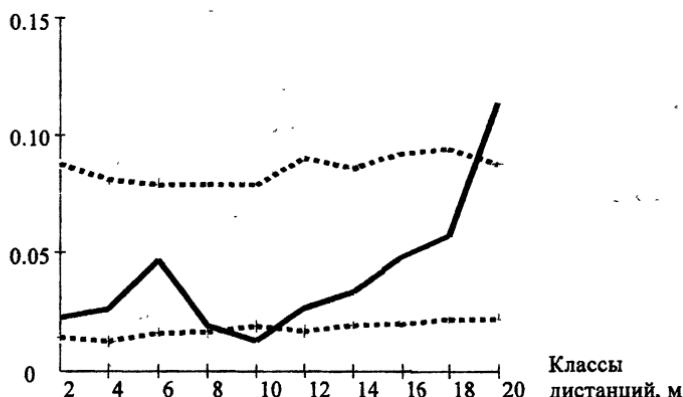


Рис. 2.6.4. Пример неслучайного распределения аллелей в двумерном пространстве. Наблюдается возрастание значений генетического расстояния Грегориуса с увеличением класса дистанций (локус Fdh-1).

районе заповедника “Шульган-Таш”. В другой выборке (АША) представлены генотипы 64 экземпляров подроста из Ашинского лесхоза.

Установлено, что одни и те же аллели являются общими в обеих выборках. Специфичные для отдельных совокупностей аллели относятся к категории редких (с частотами 0.006 – 0.050). Можно утверждать, что генофонд осины в пределах исследованного региона имеет определенную общность. По числу аллелей выявлено лишь небольшое превосходство БУР (15 аллелей, среднее число аллелей на локус A = 3.0) над другой выборкой (15 аллелей, A = 2.8). Это превышение не является следствием различной численности – при использовании критерия 0.95 различия в аллельном разнообразии сохраняются. Такая же тенденция наблюдается и по средней ожидаемой ($H_e = 0.324$ против $H_e = 0.283$) и наблюдаемой ($H_o = 0.336$ против $H_o = 0.219$) гетерозиготности. По величине межвыборочной подразделенности три локуса показали очень слабую дифференциацию двух наборов клонов ($F_{st} = 0 – 6.9 \%$). Два других локуса показали в несколько раз большую подразделенность ($F_{st} = 16.4\%$ и $F_{st} = 31.4\%$ для локусов Aat-1 и 6-Pgdh-1, соответственно). Видимо, это связано с высокой представленностью в генотипах подроста аллелей определенных пар родительских деревьев (клонов). Необходимо отметить, что уровень $F_{st} = 0.147$ не является слишком высоким для покрытосеменных древесных растений (Алтухов и др., 1989). В Канаде изучено межрегиональные различия генетической изменчивости 200 клонов *P. tremuloides* из 8 ле-

корастительных районов Онтарио (Nyun et al., 1987). Во всех выборках преобладал один и тот же аллель, но различия по их представленности были значительными – в 10 из 15 локусов гетерогенность частот аллелей была статистически достоверной. Несмотря на относительно небольшую величину подразделенности выборок (в среднем $Gst = 6.8\%$), по некоторым локусам дифференциация была значительной ($Gst = 19\%$ для $Idh-1$). В целом, связи между генетическими и географическими расстояниями не прослеживались и для вида выявлена мозаичная пространственная генетическая структура.⁸

2.7. Осокорь⁸

С точки зрения необходимости сохранения генетического разнообразия осокорь (*Populus nigra* L.) является одним из наиболее приоритетных видов. С конца 60-х годов покрытые этим видом площади начали стремительно сокращаться, главными причинами этого считаются регуляция течения рек, промышленное загрязнение и климатические изменения. По недавно приведенным сведениям (Popivshchy and Prokazin, 1998), по этим причинам с 1955 по 1997 г. в Башкортостане осокорники уменьшились с 15 500 до 588 гектаров. Такие же закономерности характерны и для других регионов России. К сожалению, все эти процессы остались вне внимания лесных генетиков. В стране до сих пор не имеется национальной программы сохранения генофонда *Populus nigra*.

В Европе проблемы сохранения генофонда вида успешно исследуются в рамках сети “*Populus nigra Network*”, являющейся частью более обширной программы EUFORGEN (European Forest Genetic Resources Programme) и координирующейся международным институтом IPGRI (International Plant Genetic Resources Institute). Одной из главных задач этой сети является генетическое изучение материала и объектов. В основном, генетические маркеры для этой цели начали использовать сравнительно недавно. Широко используются методы анализа ДНК, обзор этих работ был сделан на четвертой встрече участников программы “*Populus nigra Network*” в Бельгии (Heinze, 1998). Тем не менее, там же признано, что из-за достаточной информативности, относительной дешевизны и простоты анализа изоферменты остаются эффективным средством изучения генофонда *Populus nigra*. Изучена изменчивость изоферментов почти 30 локусов, этот класс маркеров используется для идентификации клонов, определения скрепления отдельных генов, характеристики родительских растений при гибридизации осокоря с другими представителями *Populus* (Heinze, 1998). Собственно популяционным исследованиям *Populus nigra* посвящены две основные работы (Legionnet and Lefeuvre, 1996; Legionnet, 1997). Все эти исследования проведены за рубежом, а

⁸ Янбаев Ю.А.

особенности генофонда популяций *Populus nigra* L. на территории России остаются неисследованными.

Целью проведенного нами изучения осокоря являются:

1) поиск информативных изоферментных генетических маркеров с помощью электрофоретического анализа, определение уровня генетической изменчивости вида;

2) определение уровня полиморфизма и величины генетической дифференциации модельных выборок с разной численностью особей.

В качестве объектов были выбраны два насаждения, оба находятся на западном макросклоне южноуральских гор. Выборка Инзерская (Архангельский район) насчитывает не более 40 деревьев генеративного возраста. Другое исследованное нами насаждение (Бурзянский район) является фрагментом довольно длинной прерывистой полосы осокорников вдоль р. Белой на территории заповедника "Шульган-Таш".

Число изученных ферментов, локусов и аллелей приведено в таблице 2.7.1. Более половины локусов (10 из 18) были полностью мономорфны в выборке использованных 104 деревьев. Из полиморфных локусов только два (*Aat-3*, *Aap-3*) имели по 3 аллеля. Таблица 2.7.2. характеризует изменчивость локусов и различия двух изученных выборок. У всех полиморфных локусов преобладает один частый (0.778 - 0.993) и 1-2 редких аллелей. Выборки различаются по полиморфности – в выборке Инзер лишь один локус был изменчивым, в то время как на другой пробной площади обнаружены 8 полиморфных локусов. Это же заключение можно вывести при анализе наблюдаемой гетерозиготности. В среднем по полиморфным локусам гетерозиготность первой выборки была в 2.4 раза больше ($H_e = 0.122$ против $H_e = 0.051$). Несмотря на относительно небольшие величины генетического расстояния H_{st} (в среднем $D = 0.005$) и коэффициента межвыборочной подразделенности ($F_{st} = 0.032$), по трем локусам (*Aat-3*, *Aap-1*, *Aap-2*) различия частот были статистически достоверны при использовании критерия χ^2 . У них же параметр F_{st} был значительно выше, чем у остальных пяти полиморфных локусов ($F_{st} = 0.001 - 0.014$). Обычно для сравнения выборок по полиморфизму рекомендуется использовать критерии полиморфности (например, критерий $P_{0.05}$ позволяет считать локус мономорфным, если частота одного из аллелей превышает 0.95). В таблице 2.7.3. приведены данные, позволяющие сопоставить две выборки по средним параметрам полиморфизма с использованием таких критериев. Несмотря на некоторое снижение величин среднего числа аллелей на локус и доли полиморфных локусов в выборке "Шульган-Таш", сделанный ранее вывод об ее большей генетической изменчивости не изменился.

В целом, как вид *Populus nigra* обладает слабым уровнем генетической изменчивости. Относительно недавно по большому числу публикаций была

опубликована сводка (Hamrick et al., 1992) об уровне генетической изменчивости разных категорий растений. Исследованный нами вид был менее изменчив ($A = 1.6$, $P = 0.44$, $H_e = 0.051$, средние величины для двух выборок и всех локусов), по сравнению со всеми древесными ($A = 1.97$, $P = 0.51$, $H_e = 0.150$), долгоживущими древесными ($A = 2.22$, $P = 0.65$, $H_e = 0.177$), покрыто-семенными древесными ($A = 2.10$, $P = 0.59$, $H_e = 0.257$), древесными лесной и лесостепной зон ($A = 2.58$, $P = 0.82$, $H_e = 0.206$).

Как нам кажется, увеличение числа выборок может изменить средние показатели генетической изменчивости осокоря. Однако вряд ли это увеличение кардинально изменит сделанный нами вывод о сравнительно низком уровне полиморфизма *Populus nigra*. Для доказательства этого утверждения приведем данные о генетической структуре осокоря в Европе (Legionnet and Lefevre, 1996).

Были изучены выборки популяций 7 стран (Болгария, Румыния, Словакия, Венгрия, Бельгия, Италия и Франция). Гетерозиготность полиморфных локусов изменялась в пределах $H_e = 0.010\text{--}0.391$ (полученные нами различия очень близки к этому интервалу: $H_e = 0.014\text{--}0.341$). Средняя ожидаемая гетерозиготность составила значение $H_e = 0.170$. Необходимо отметить, что в анализируемой работе использованы лишь полиморфные локусы, хотя определение уровня генетической изменчивости видов должно производиться с использованием как полиморфных, так и мономорфных систем. При учете обнаруженных нами мономорфных локусов эта величина ($H_e = 0.065$) почти совпадает со средней гетерозиготностью уральской выборки (0.051). При пересчете наших данных для полиморфных локусов были получены относительно близкие к этим данным значения (для выборки "Шульган-Таш" $H_e = 0.143$). Небольшое превышение ожидаемой гетерозиготности на 2.7 % может объясняться представленностью в работе французских исследователей фонда аллелей со всей Западной и Центральной Европы. В цитированной выше работе (Legionnet and Lefevre, 1996) установлено, что популяции разных регионов довольно четко различаются по представленности тех или иных аллелей, вплоть до инверсии частот общих морф. Большинство редких аллелей во Франции имели меньшие частоты, чем в целом в изученной выборке. Наибольшее число редких аллелей обнаружено в горной части исследованной территории (Альпы). Вследствие этих закономерностей различия частот аллелей статистически были достоверны. Между насаждениями существовали большие различия по индексу генного разнообразия H_e (в интервале $H = 0.115 - 0.204$). Соответствие генетических и географических дистанций меж-

Таблица 2.7.1.

Изученные ферменты, локусы и аллели осокоря

Фермент	Структура фермента	Локус	Число Аллелей
Диафораза, DIA	Мономер	Dia-1 Dia-2	2 1
6-Фосфоглюконатдегидрогеназа, 6-PGD	Димер	6-Pgd-1 6-Pgd-2	2 2
Аспартатаминотрансфераза, AAT	Димер	Aat-1 Aat-2 Aat-3	2 2 3
Аланинаминотрансфераза; AAP	Мономер	Aap-1 Aap-2 Aap-3	2 1 3
NADHDдегидрогеназа, NADHDH	?	NADHdh-1	1
Глутаматдегидрогеназа, GDH	?	Gdh-1	1
Алкогольдегидрогеназа, ADH	?	Adh-1	1
Шикиматдегидрогеназа, SKDH	?	Skdh-1 Skdh-2	1 1
Формиатдегидрогеназа, FDH	?	Fdh-1	1
Малатдегидрогеназа, MDH	?	Mdh-2 Mdh-3	1 1

ду выборками не обнаружено – наиболее удаленные друг от друга два насаждения имели наименьшие генетические различия. Хотя межпопуляционная подразделенность между всеми выборками выражена слабо ($G_{st} = 0.017$), между отдельными парами значение параметра доходило до $G_{st} = 0.035$ (между уральскими выборками аналогичный показатель $F_{st} = 0.032$). Таким образом, в работе европейских исследователей в целом обнаружены те же самые тенденции, что и в исследованных нами выборках осокоря.

В отличие от большинства других древесных видов, осокорь произрастает в экосистемах с высокой пространственной и временной динамичностью пригодных для вида условий произрастания (из-за частых затоплений, изменений русла рек и других аналогичных факторов). Все это, безусловно, должно накладывать отпечаток на формирование пространственной генети-

Таблица 2.7.2.

Частоты аллелей, достоверность различий частот и наблюдаемая гетерозиготность полиморфных локусов в выборках осокоря

Локусы	Аллели	Частота аллелей по выборкам		Вычисленный χ^2	Гетерозиготность по выборкам	
		Шульган-Таш	Инзер		Шульган-Таш	Инзер
Dia-1	1	0.979	1.000	1.3	0.042	0
	2	0.021	0			
6-Pgd-1	1	0.993	1.000	0.5	0.014	0
	2	0.007	0			
6-Pgd-2	1	0.222	0.203	0.9	0.417	0.406
	2	0.778	0.797			
Aat-1	1	0.986	1.000	0.9	0.028	0
	2	0.014	0			
Aat-2	1	0.972	1.000	1.8	0.056	0
	2	0.028	0			
Aat-3	1	0.896	1.000	7.2 (**)	0.153	0
	2	0.097	0			
	3	0.007	0			
Aap-1	1	0.063	0	4.2 (*)	0.125	0
	2	0.938	1.000			
Aap-3	1	0.090	0	15.6 (***)	0.139	0
	2	0.792	1.000			
	3	0.118	0			

Примечание: символами (*), (**) и (***) отмечены значения критерия, достоверные на уровнях значимости $P < 0.05$, $P < 0.01$ и $P < 0.001$, соответственно.

Таблица 2.7.3.

Генетическая изменчивость выборок осокоря

Выборки	Среднее число аллелей на локус, по критериям			Доля полиморфных локусов, по критериям			Гетерозиготность	
	P0.00	P0.01	P0.05	A0.00	A0.01	A0.05	Наблю-даемая	Ожида-емая
Шульган-Таш	0.44	0.33	0.17	1.6	1.4	1.3	0.044	0.051
Инзер	0.06	0.06	0.06	1.1	1.1	1.1	0.023	0.018

ческой структуры локальных популяций (субпопуляций) вида и генетико-демографические процессы. Приведенный нами пример двух насаждений, сильно различающихся по размерам, подтверждает это предположение.

Выборка Инзерская насчитывает не более 40 деревьев генеративного возраста. Проведенное нами маршрутное обследование по направлению вниз и вверх по течению по р. Инзер показало отсутствие на расстоянии 5 километров других осокорников. Следовательно, возможности для миграции генов через изученное нами насаждение ограничены и главной причиной его слабой генетической изменчивости может быть относительная изолированность. Теоретически этот фактор, а также небольшая численность древостоя, могут уменьшить полиморфизм выборки из-за инбридинга и/или дрейфа генов. Нам даже приблизительно неизвестно число деревьев в относительно больших по площади осокорниках р. Белой в зоне нахождения пробной площади “Шульган-Таш”. Однако большой объем популяции и небольшие расстояния между ее насаждениями позволяют предположить, что инбридинг и дрейф генов здесь не являются ведущими факторами формирования генетической структуры.

ГЛАВА 3. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ БУРЗЯНСКОЙ БОРТЕВОЙ ПЧЕЛЫ

3.1. Состояние генофонда пчелы заповедника “Шульган-Таш”⁹

Проблема сохранения локальных популяций и рас в пчеловодстве имеет давнюю историю. Еще в 1852 году Я.Дзержон положил начало глобальному смешиванию рас в Европе, распространив в Германии итальянских пчел. Затем были импортированы в Европу пчелы с Кипра, из Палестины, Египта и других регионов мира. В 1870 г. из Австрии и Словении в Германию были завезены пчелы краинской расы. Они оказались лучше итальянских пчел, но отличались большой ройливостью. Импортеры пчел в этих странах вели их селекцию не по признаку продуктивности, а по способности к размножению, что отвечало задачам экспорта. До конца XIX в. широкое распространение получили пчелы, представлявшие промежуточные формы и только в отдаленных регионах удавалось сохранить аборигенные расы (Дреер, 1985).

Опасность бессистемной метизации пчеловодами была осознана лишь спустя десятилетия. В Европе У.Крамером в 90-х годах было рекомендовано чистопородное разведение местных темных пчел. В начале нашего столетия Е.Цандер принял за восстановление аборигенных пчел в Германии. В 1967 году на Международном конгрессе Апимондии в Мэриленде (США) было рекомендовано создавать резерваты для эндемичных рас пчел. Несмотря на это понимание угрозы, ухудшение генофонда пчелиных рас идет все возрастающими темпами, так что говорить о сохранении некоторых из них, возможно, уже поздно. В качестве примеров можно привести существовавшие островками европейские *Apis mellifera mellifera*, уникальные капские пчелы *A.m. capensis* в Южной Африке.

Во второй половине XX века европейский глобальный эксперимент с не меньшим рвением повторили в России. Большое распространение по всей стране, а также за ее пределами получили серые горные кавказские пчелы и их различные помеси. В итоге аборигенные популяции пчел повсеместно подверглись метизации. Не избежал этой участи и Башкортостан. В соответствии с планом породного районирования пчел СССР, на территории республики в степной зоне в 1965-1972 годах проводилось испытание южных рас пчел и гибридов первого поколения с местными пчелами (Джапаридзе, 1988). В 1965-1970 годах Башкирская опытная станция пчеловодства проводила породные испытания маток южных рас (скрещивали кавказских пчел с местными пчелами). Проводился завоз пчел южных рас на территорию РБ и пчеловодами-любителями (Газизов, 1987). Бесконтрольная метизация среднерусских пчел с южными малозимостойкими расами является одной из основных причин гибели и ослабления пчелиных семей в зимне-весенний пе-

⁹ Николенко А.Г., Саттаров В.Н., Косарев М.Н., Юмагужин Ф.Г.

риод (Черевко и Черевко, 1998) и ведет к разрушению сбалансированной в ходе длительной эволюции генетической структуры популяций.

Вопрос о необходимости изучения и сохранения диких среднерусских пчел в районе бортевого пчеловодства в Башкортостане неоднократно поднимался российскими учеными (Кожевников, 1931; Аветисян, 1937; Алпатов, 1948). В 80-х годах Р.М.Газизовым было предложено, опираясь на районы, где еще сохранились местные неметализированные пчелы. Планировалось наладить вывод маток и трутней местной популяции медоносной пчелы, а затем путем двукратной смены маток постепенно расширять ареал распространения чистопородных пчел. В 1958 году в горно-лесной зоне Башкортостана был создан единственный в мире заповедник со специальной задачей сохранения генофонда бортевых пчел (с 1986 года – «Шульган-Таш»). Бурзянская популяция *Apis mellifera* исторически длительное время обитала в условиях относительной изоляции и территория одноименного района может быть одним из немногих мест в России, где среднерусские пчелы сохранились в реликтовом состоянии (Соколов, 1940; Генрих и Тюльпанова, 1958). Другой из причин организации заповедника была уже тогда существовавшая угроза ухудшения генофонда бурзянской популяции из-за метизации с завозимыми кавказскими пчелами.

Проблема сохранения генофонда популяций усугубляется серьезной отсталостью методической базы. В России расовая идентификация до сих пор проводится по морфометрическому методу В.В.Алпатова (1948), к тому же постоянно упрощаемому до 1-3 показателей, принимаемых «за основу». Наши исследования в 1996 году подтвердили, что морфометрический анализ экsterьерных признаков при современном уровне метизации недостаточен для расовой идентификации медоносной пчелы.

В силу ряда причин статус и состояние генофонда бурзянской пчелы до последнего времени остается неопределенными. С одной стороны ведущие специалисты отмечают катастрофическое положение популяции (Фатхиев, 1991). Если не будут приняты кардинальные меры, мы безвозвратно потеряем ценных местных пчел даже в тех районах, где они еще сохранились.

В Башкортостане резко снижается продуктивность и отмечается большая гибель пчел как следствие сплошной гибридизации (Шакиров, 1987). В последние годы появилась опасность даже полного исчезновения бортевых пчел заповедника «Шульган-Таш» под влиянием завезенных в Башкирию других рас (Шафиков, 1978). С другой стороны, Агентство по пчеловодству Республики Башкортостан сообщает о стабилизации и улучшении ситуации (Шагимухаметов, 1999). Реальных фактов, которые бы позволили сделать обоснованный вывод, пока не так много.

В недавно вышедшей работе (Гиниятуллин с соавт., 1999) приведен основательный анализ исторических данных. Этими авторами предпринята попытка оценить состояние генофонда пчелы в заповеднике «Шульган-Таш» и сделать прогноз его развития. Отмечается, что в заповеднике происходила и происходит бессистемная метизация пчел, которая может привести к необра-

тимым процессам нарушения первоначального исходного и ценного качественного чистопородного материала». Описываемые тенденции базируются на исследованиях, проводившихся еще в восьмидесятых годах и ранее, авторы не приводят точных оценок текущего состояния генофонда бортевых пчел. К тому же все выводы сделаны исключительно на основе морфометрического анализа, где за «основу определения породной принадлежности семей брали показатели кубитального индекса, а остальные показатели экспертизы использовали в качестве дополнительных».

Не ставя под сомнение важность приведенной работы, мы попытались экспериментально, на основе современных методов идентификации, оценить текущее состояние генофонда бурзянской популяции медоносной пчелы.

Экспедиционные выезды для сбора материала проводились с 1996 по 1999 год. Помимо заповедника «Шульган-Таш» мы попытались составить представление о генофонде пчел прилегающих территорий разной степени удаленности. Эти территории можно представить в виде расходящихся расширяющихся кругов: буферная зона заповедника (в нашей работе д. Галиакбеково и д. Верхне-Нугушево) и остальная территория Бурзянского района (д. Киекбаево).

Для анализа собранного материала использовался молекулярно-генетический маркер расового происхождения пчел, разработанный в Институте биохимии и генетики УНЦ РАН (Никоноров и др., 1998). Диаллельная система локуса COI-COII митохондриальной ДНК (мтДНК) позволяет четко дифференцировать расы *A.m. mellifera* (темная лесная, среднерусская) от других рас, распространенных в России. Локус COI-COII у *A.m.mellifera* (к которой относится бурзянская пчела) представлен аллелем PQQ. Частота его встречаемости составляет более 0.99 (описано всего два случая PQQQ). У географических рас *A.m.caucasica* (серая горная кавказская) *A.m.armenica* (желтая кавказская), *A.m.carnica* (краинка), *A.m.scarpatica* (карпатская) и *A.m.ligustica* (итальянская пчела) аллель Q, видимо, фиксирован (Smith, Brown, 1988; Никоноров и др., 1998). Все перечисленные расы составляют основной источник генетического загрязнения бурзянской популяции *A.m.mellifera*.

В качестве дополнительного использовался морфометрический метод В.В.Аллатова (Аллатов, 1948) в нашей модификации, аналогичной действующим в Европе стандартам (Ruttner, 1978). Применяемый нами вариант кластерного анализа (стратегия кластеризации Варда, метрика – квадратичное Евклидово расстояние) позволил на основании морфометрических критериев рас выделить 4 подгруппы пчелиных семей со следующими морфотипами: морфотип А – среднерусская раса, морфотип В – гибрид (ближе к среднерусской расе), морфотип С – гибрид (ближе к серой горной кавказской расе), морфотип D – серая горная кавказская раса.

Обобщенные результаты исследований представлены в таблице 3.1.1. Для семей южного происхождения на территории заповедника в целом

Таблица 3.1.1.

Состояние генофонда медоносной пчелы заповедника «Шульган-Таш» и окружающих территорий

Выборки	n	Аллели локуса COI-COII mtДНК		n	Морфотипы пчелы			
		PQQ	Q		A	B	C	D
Борти и колоды заповедника	48	0.98	0.02	114	0.88	0.09	0.03	0
Пасеки заповедника	92	0.98	0.02	83	0.79	0.17	0.04	0
Буферная зона	6	1.00	1.00	25	0.88	0.12	0	0
Бурзянский район (Киекбаево)	-	-	-	23	0.87	0	0	0

составляет величину 0.02. Столь умеренный приток генов не должен, на наш взгляд, вызывать серьезных нарушений в генофонде популяции заповедника. К тому же, при бортевом содержании пчел значительно возрастает, как мы полагаем, роль естественного отбора, обеспечивающего дополнительную стабильность генофонда. Тем не менее, залет роев инородного происхождения (подобно обнаруженной нами в квартале 37 заповедника семьи с аллелем Q) (рис.3.1.1.), весьма нежелателен с точки зрения сохранности генофонда популяции в первозданном виде.

Несмотря на относительно быструю элиминацию семей южного происхождения вследствие слабой адаптации к местным условиям, даже кратковременное одно-двухлетнее воздействие создаваемого иммигрантами трутневого фона на ближайшие семьи вызывает долговременные генетические последствия. На рисунке 3.1.2. показана встречаемость морфотипов A-D на территории заповедника. Пятна генетических загрязнений (морфотипы В и С) протянулись по всему периметру заповедника и встречаются довольно часто. Это еще раз подтверждает насущную потребность в расширении буферной зоны вокруг весьма незначительного по площади заповедника. Возможно, решению этой проблемы будет способствовать недавно созданный государственный природный заказник «Алтын Солок». Очень актуальна проблема расширения территории заповедника «Шульган-Таш».

Для точного определения ареала и общей численности бурзянской популяции пчел необходимы дополнительные исследования в Бурзянском районе, за пределами охраняемых территорий, а также в Ишимбайском, Мелеузовском, Гафурийском, Белорецком и Зилаирском районах. Необходимо изучение генофонда всех трех составляющих популяций: свободноживущих, бортевых и пасечных пчел. Вопрос о взаимодействии популяции (или только единичных особей) свободноживущих семей *A.mellifera* и пасечных пчел пока также остается открытым.

Галиакберово

6/0

		Галиакберово				
		1 1/0	2 1/0	3		
Верхне-Нугушево	4 2/0	5 -	6 5/0	7 -	8 4/0	
	9 1/0	10 -	11 2/0	12 -	13 1/0	
	14 -	15 -	16 1/0	17 -	18 -	
	19 4/0	20 1/0				
	21 2/0	22 1/0				
	23 -	24 -	25 -	26 1/0		
	27 -	28 -	29 -	30 -	Гадельгареево	
	31 -	32 3/0	33 -	34 -	35 -	36 -
	37 5/1	38 1/0	39 -	40 -		
	41 -	42 -	43 1/0	44 1/0	45 -	
Пасека «Байсалан»	46 9/0	47 -	48 -	49 -	50 -	51 -
	52 -					
	53 -					
	54 -					
Пасека «Капова пещера» A55/2						
35/0						

Рис. 3.1.1. Схематическое расположение кварталов заповедника “Шульган-Таш” и встречаемость аллелей локуса COI-COII пчелы.

		Галиакберово A20-B3				
		1 A5	2 B1-C1	3		
Верхне- Нугушево A2	4 A5	5 A1	6 A6	- -	7 A2-B1	8 13
	9 A2-B1	10 -	11 A4	- -	12 A1	18
	14 A1	15 -	16 A1	- -	17 A1	18
	19 A5-C1	20 A1				
	21 A1-C1	22 A3				
	23 -	24 -	25 -	26 -		
	27 -	28 -	29 -	30 -	Гадельгареево	
	31 A9	32 A5-B1	33 -	34 -	35 -	36 -
	37 A5-B2	38 A5	39 -	40 A2-B1		
	41 A4	42 A2	43 A1	44 A1	45 A3	
Пасека «Байсалан» A36-B14-C3	46 A13-B2- C1	47 A2	48 -	49 A2	50 A5	51 A3-B1
	52 A1-B1					
	53 -					
	54 -					
		Пасека «Капова пещера» A30				

Рис. 3.1.2. Схематическое расположение кварталов заповедника “Шульган-Таш” и встречаемость морфотипов пчелы.

3.2. Генетическое разнообразие бурзянской популяции пчелы медоносной¹

В последние несколько десятилетий электрофоретический анализ изоферментов широко использовался для изучения генетической изменчивости большого числа видов. Преобладающая часть этих исследований имела дело с диплоидными растениями и животными. Генетические системы дипло- и гаплоди-пloidных организмов сильно отличаются. У последних гаплоидные мужские особи развиваются из неоплодотворенных, а диплоидные женские особи – из оплодотворенных яйцеклеток. Это обстоятельство обусловило внимание исследователей к выяснению механизмов формирования и поддержания генетической изменчивости этой группы видов. Из их числа особый интерес всегда вызывала пчела медоносная *Apis mellifera*. Изоферментные генетические маркеры оказались средством, способным решить многие проблемы микрэволюционной (популяционной) генетики этого вида. Ниже приведен ряд примеров, подтверждающих обоснованность этого утверждения.

До 1956 г. популяции пчелы Южной Америки были только европейского происхождения. Со ввозом 26 маток началось становление африканизированных пчел на этом континенте. В настоящее время этот тип пчел является здесь широко распространенным. С целью выявления генетических различий генофонда африканизированных и европейских популяций Дел Лама с коллегами (Del Lama et al., 1990) провели специальные исследования. В анализ были вовлечены 4 группы: 1) африканизированные пчелы из 9 регионов Бразилии; 2) 2 выборки из Центральной Америки (Гондурас); 3) выборка *Apis mellifera carnica* из Германии; 4) две выборки *A. mellifera ligustica* из Италии. Для большинства выборок исследовались пчелы минимум из 15 семей. Из исследованных локусов в пяти (Est-1, Est-3, Pgm-1, Hk-1, Mdh-1) выявлен полиморфизм, хотя некоторые группы были мономорфны по части генов (по Est-1 и Hk-1 итальянские и по Pgm-1 – германские). Это обстоятельство привело к четким различиям европейских (на уровне $D = 0.186$, пересчитано нами по приведенным коэффициентам генетического сходства) и южноамериканских пчел (в пределах выборок последних генетическое расстояние не превышало $D = 0.02$). Главной причиной столь высокой генетической дифференциации были различия по частотам аллелей локусов Hk-1 (частота наиболее частого аллеля составляла 0.348–0.600 против 1.000 у европейских групп) и Mdh-1 (0.647–0.900 против 0.243–0.340). Южноамериканские выборки в свою очередь разделились, хотя и с небольшим уровнем кластеризации, на группы Южная Бразилия/Центральная Америка и юго-восточная/северо-восточная. Такие же большие различия между пчелами разных континентов наблюдались по уровню гетерозиготности. На основе анализа аллельных частот установлено, что выборки из разных регионов имели

¹ Косарев М.Н., Юмагужин Ф.Г., Янбаев Ю.А., Урманцева З.Ф.

разную представленность генов африканских пчел — доля метизации европейских пчел менялась от 0.097 до 0.389. В популяции из Гондураса наблюдался дисбаланс генетической структуры (нарушения правила Харди-Вайнберга из-за отсутствия гетерозигот в двух системах).

Было показано, что полиморфизм пчелы медоносной даже из разных континентов (Южная Америка и Австралия) может быть довольно близким (Gartside, 1980). Из трех локусов (*Mdh*, *Adh*, *Est*) лишь по последнему выявлены различия, главным образом по редким аллелям.

С использованием 21 изоферментной системы (Sheppard and Berlocher, 1985) показан слабый уровень полиморфизма *A. mellifera ligustica* из Италии. Лишь у трех систем (*MDH*, *ME*, *EST*) выявлена изменчивость. У малатдегидрогеназы обнаружены три аллозима. Два из них являются относительно частыми (0.64 и 0.29). Третий, отсутствующий в других локальностях, аллозим обнаружен лишь в одной выборке с удивительно высокой частотой 0.29 и ранее описан не был. У малик-энзима наблюдается в целом минорный полиморфизм по одному из редких аллелей (частота 0 — 0.04), хотя в одной из выборок ее частота доходила до 0.26. Диаллельная система выявлена в локусе эстеразы, но у большинства групп пчел фермент был мономорфным.

Была исследована изменчивость пчелы из Норвегии (Sheppard and Berlocher, 1984). Из 23 ферментов полиморфизм был обнаружен лишь у малатдегидрогеназы и малик-энзима. У первого из них найдены три аллеля. Как и в предыдущей работе, колебания частот этих аллозимов были значительными (0 — 0.24, 0.59 — 1.0, 0 — 0.41). Этот же вывод справедлив для двух аллозимов малик-энзима (0 — 0.46, 0.54 — 1.0). Интересно, что по этому ферменту полиморфизм ранее не сообщался (Sylvester, 1976 и др.). Возможно, уровень изменчивости постоянно занижается из-за того, что при исследованиях охватывается недостаточное число выборок. Авторы делают вывод, что мономорфизм этого локуса в Новом Свете может быть результатом эффекта “бытильного горлышка”, который может возникнуть при первоначальном импорте относительно небольшого числа семей.

Итальянские исследователи (Badino et al., 1988) изучили по 15 локусам дифференциацию выборок пчелы в Греции. Только два локуса были полиморфны, еще в одном локусе (*Mdh-3*) изменчивость не поддавалась интерпретации. В локусе *Mdh-1* обнаружены два аллеля, частоты которых довольно сильно изменились от выборки к выборке (аллель 1 — в пределах 0.286 — 0.891). В другом полиморфном локусе *Est* преобладал один аллель (с частотой 0.977 — 1.000), а два других относились к категории редких. По обоим локусам островные (о. Крит) пчелы были мономорфны. Генетические расстояния в среднем по двум полиморфным локусам (пересчитано нами по приведенным данным) изменились по отдельным парам от $D = 0.030$ до $D = 0.135$. На основе пространственного расположения аллелей авторам удалось убедительно показать правомерность су-

ществующего подразделения *Apis mellifera* в регионе на отдельные расы и выделить их области распространения. Полученные данные свидетельствовали об общем происхождении пчёл юго-восточной Европы и Средиземноморья.

По 18 локусам изучена генетическая изменчивость пчелы медоносной из Чехословакии в районе расовой гибридизации (Sheppard and McPheron, 1986). Пять локусов были полиморфны. В отличие от локуса *Mdh*, где частоты основных четырех аллелей изменились значительно (0 - 0.15, 0.03 - 0.80, 0 - 0.90, 0 - 0.41), по частоте основных аллелей локусов *Est*, *Pgm*, *Me* и *Aco* выборки были близки и различия выявлялись лишь по редким аллелям. Показано, что существует гибридизация между *Apis mellifera mellifera* и *A. mellifera carnica* и в пределах изученного региона эти расы не существуют в чистом виде.

Проведен сравнительный генетический анализ полиморфизма ферментов европейских (23 колонии из Норвегии, Италии и Чехословакии) и североамериканских пчел (США, 39 колоний) (Sheppard, 1988). Первая группа была полиморфнее – в ней выявлено 15 аллелей против 9 в США. Некоторые из множественных аллелей европейских пчел, в Америке были фиксированы. Главной причиной этой закономерности считается “эффект основателя”, проявившийся из-за небольшой первоначальной численности импортируемых в Америку пчелиных семей.

Исследователи из Турции с использованием четырех полиморфных локусов (*Est-3*, *Pgm*, *Hk*, *Mdh*) провели анализ аллозимной изменчивости пчел, находящихся в зоне межрасовой гибридизации *A.m.anatolica*, *A.m.medea* и *A.m.caucasica* (Kandemir and Kence, 1995). Выявлена низкая генетическая изменчивость – гетерозиготность составила всего 3.3 %. По разным локусам были получены различные данные о взаимосвязи пчел региона и других частей ареала. По локусу *Est* турецкие и греческие (Badino et al., 1988) выборки генетически были похожи. Аллели *Hk-100* по частоте были близки к аллелям африканализированных пчел (Del Lama et al., 1990). Выявлены межрасовые различия частот аллелей. Аллель *Mdh-65*, который был относительно редким у турецких и африканализированных пчел, был общим для *A.m.ligustica* и *A.m.carnica*. Эти результаты подтверждают гипотезу, что пчелы распространились из центра и северо-востока Африки, а также из Ближнего Востока.

В Бразилии и Уругвае были изучены африканализированные выборки *Apis mellifera* (Lobo et al., 1989). Как уже указывалось, миграция этих пчел в континент началась в 1956 г. (до этого периода здесь были представлены лишь подвиды Европы) и с тех пор они распространялись со скоростью 350 км/год, скрещиваясь с *A.m.adansonii*, *A.m.ligustica*, *A.m.mellifera* и другими расами. Хотя в целом частоты аллелей полиморфных локусов были близки, наблюдалось увеличение частоты аллеля *Mdh-B* в южных популяциях. Редкие аллели в локусах *Est-3*, *Est-5* и *Pgm* встречались, в основном, в Уругвае и северо-восточной части Бразилии. Различия частот аллелей были статистически достоверны, хотя

межвыборочная составляющая генетической изменчивости не превышала 2,1%. Дифференциация была на уровне, характерном для локальных популяций. Как следует из предыдущих исследований, в последние десятилетия частоты аллелей стабилизировались. Доля африканской расы (*A.m.adansonii*) в генофонде в пределах всего региона была более 70 %, доля других пчел была меньше (*A.m.ligustica* – менее 4 %, *A.m.mellifera* – 26 %). Приведенные здесь закономерности подтверждены морфометрическим анализом.

С использованием 5 полиморфных локусов *Mdh-1*, *Me*, *Pgm-1*, *Est-3* и *Hk* изучены африканские выборки *A.m.scutellata* (обитающая в саванне) и *A.m.monticola* (лесная зона гор выше 2000 м над уровнем моря) (Meixner et al., 1994). Морфометрический анализ подтвердил правильность подразделения этих пчел на саванные и горные типы. В то же время выявлена гибридизация между ними, что нашло подтверждение при использовании кластерного анализа. Здесь не исключается вмешательство в этот процесс *A.m.litoraea*, *A.m.adansonii* и *A.m.yemenetica*. К сожалению, аналогичные исследования в России до сих пор не проводились. Ниже приведены результаты проведенного нами изоферментного анализа пчелы медоносной.

Из-за того, что рабочие пчелы одной семьи практически всегда представляют потомство одной матки, отбор образцов у пчелы медоносной отличается от отбора образцов неколониальных видов. Каждая матка несет два собственных генома и геномы оплодотворивших ее трутней. Так как матка оплодотворяется в среднем 10 трутнями (Sylvester, 1986), каждая семья представлена в среднем 12 геномами. Основываясь на анализе процессов оплодотворения пчелы (например, вклад отдельных трутней в оплодотворении матки сильно отличается), было показано, что вероятность обнаружения в семье нового генома сильно уменьшается после отбора для анализа одного или нескольких рабочих пчел. Поэтому для поиска новых геномов пчелы эффективнее отбирать образцы из как можно большего числа семей (по сравнению с методом, когда стараются брать большее число образцов из одного улья). Эта стратегия отбора была использована нами для сбора образцов для анализов.

Материал для генетических исследований (пробы рабочих пчел) собирали в районах республики Башкортостана (Бурзянский и Салаватский районы) и в других регионах России. Пчелы Бурзянского района представлены бортевыми пчелами одноименной популяции (150 рабочих пчел из 17 бортей). На территории другого (Салаватского) района Башкортостана материал был собран с двух пасек (66 рабочих пчел среднерусской породы). Материал из остальных регионов России был представлен Смоленской областью (Демидовский район, 4 частные пасеки, 29 рабочих пчел среднерусской породы) и Кавказом (две локальности, серая горная кавказская *A.m. caucasiaca* и желтая кавказская *A.m.armenica*, по 44 и 34 рабочие пчелы).

На первом этапе исследований нами было проведено гистохимическое окрашивание 25 ферментных систем (малатдегидрогеназа MDH, алкогольдегидрогеназа ADH, малик-энзим ME, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа G6PDH, диафораза DIA, алкогольдегидрогеназа ADH, 6-фосфоглюконатдегидрогеназа 6PGD, глутаматдегидрогеназа GDH, формиатдегидрогеназа FDH; изоцитратдегидрогеназа, сорбитолдегидрогеназа SDH, шикиматдегидрогеназа SKDH, аспартатаминотрансфераза ААТ, кислая фосфатаза AcPH, щелочная фосфатаза AlPH, пероксидаза PER, глицерофосфатдегидрогеназа GIPDH, эстеразы EST, аланинаминопептидаза AAP, лейцинаминопептидаза LAP, глицератдегидрогеназа GIDH, НАДН-дегидрогеназа NADHDH, супeroxиддисмутаза SOD). Из-за отсутствия гистохимической активности части ферментов или недостаточно четкого разделения изоферментов в использованной системе электрофореза для определения доли полиморфных локусов (степени генетической изменчивости пчелы) нами было отобрано 12 ферментов (MDH, ME, G6PDH, ADH, GDH, IDH, SKDH, LAP, 6PGD, SRDH, DIA и неспецифические эстеразы EST). Из их числа полностью мономорфными были 8 ферментов.

G6PDH была мономорфна в двух зонах активности, одна из которых проявлялась лишь при большой загрузке субстратом. ADH, видимо, контролируется одним неallelльным геном, его изофермент у рабочих пчел имеет низкую активность. Такой же результат получен для GDH, ее единственный изофермент состоял из семиполосных одинаковых изоферментов. IDH окрашивалась в виде двух зон активности, одна из которых имела низкую электрофоретическую подвижность. В единственной зоне активности SKDH выявлены одинаковые двухполосные фенотипы. У LAP обнаружены три мономорфные зоны активности, из которых ближайшая к катоду зона окрашивается в виде диффузной области. Для последующего анализа она не использовалась. У 6PGD и DIA выявлены по одной мономорфной зоне активности. Мы постулировали, что эти ферменты контролируются по крайней мере 11 неизменчивыми локусами.

У остальных ферментов выявлена относительно слабый уровень полиморфизма. В двух локусах изменчивость обнаружена лишь при анализе рабочих пчел из сборной пасеки ГПЗ "Шульган-Таш". В единственном локусе SRDH обнаружен редкий второй аллель (ульи №№ 2, 3, 52). Малик-энзим выявляется в основном в виде мономорфной зоны с высокой гистохимической активностью в ближней к катоду части электрофорограммы, эта же зона обнаруживается и при окрашивании гелей на малатдегидрогеназу. У фермента выявлено наличие изменчивости у одной рабочей пчелы (улей N8). В связи с тем, что изучение пасечных пчел не входило в наши планы по оценке генетического разнообразия пчелы, этот полиморфизм не был учтен. На электрофорограммах MDH наблюдалось гистохимическое окрашивание трех зон с активностью малатдегидрогеназы. Зона MDH-2 являлась инвариантной. В двух других зонах выявлялись одно- и трехполосные фенотипы изоферментов, что доказывает димерность структуры фермента у *Apis mellifera*. Анализ распределения фено-

типов изоферментов свидетельствует о том, что малатдегидрогеназа у исследуемого вида находится под контролем трех локусов - одного мономорфного (*Mdh-2*) и двух полиморфных (*Mdh-1* и *Mdh-3*). Аллель 1 локуса *Mdh-1* обнаружен нами только у пчел из бортей. Редкий аллель 1 в другом локусе *Mdh-3* встречался как у бортевых пчел, так и у образцов из других регионов. Полиморфными (по два аллеля) являются два локуса мономерных неспецифических эстераз. Изменчивость в одном из них нами обнаружена лишь у пчел из станции пчеловодства "Улу-Туляк" и по этой причине для анализа генетической изменчивости не использовалась.

Таким образом, из числа включенных в анализ 17 локусов изученной совокупности особей среднерусской породы полиморфными являются лишь три локуса *Est-1*, *Mdh-1* и *Mdh-2*. Доля полиморфных локусов при этом составляет при вычислении без критерия ограничения полиморфности $P = 17.6\%$, среднее число аллелей на локус $A = 1.18$, наблюдаемая гетерозиготность $H_0 = 0.022$, ожидаемая гетерозиготность $H_e = 0.025$. Однако при этом нужно отметить, что низкий полиморфизм не является феноменом, характерным лишь для изученных нами выборок. Анализ литературы показал, что лишь один из 39 локусов пчел имел аллельные варианты, а гетерозиготность не превышала 1 % (Sylvester, 1976). При электрофокусировании 30 ферментных систем лишь в одной выявлена изменчивость (Nunamaker, 1980), при электрофоретическом обследовании вида в следующей работе полиморфными были три из 21 системы (Sheppard and Berlocher, 1985). Низкий уровень полиморфизма подтверждается результатами по другим представителям *Homoptera* (Metcalf et al., 1975; Lester and Selander, 1979). В указанных работах приведены литературные данные по генетической изменчивости и ни у одного вида гетерозиготность не превышала 7.8 %. Для примера можно привести, что гетерозиготность 24 видов насекомых других семейств составила $H = 0.155$ (различия между двумя группами данных достоверна на уровне значимости $P < 0.01$). Обычно для объяснения низкой генетической изменчивости применяют несколько аргументов. Первым из них является небольшая изменчивость среды обитания. Однако большинство исследований отрицают эту гипотезу, так как многие высокополиморфные виды обитают в малоизменчивой среде. Слабоизменчивые виды, наоборот, могут иметь гетерогенную нишу обитания. Возможно, указанная причина может влиять на генетическую изменчивость на уровне ниже видового. Ниже нами будет показано, что горные бурзянская популяция и кавказские пчелы имели больший уровень полиморфизма, чем равнинные выборки среднерусской породы. В литературе рассматриваются и другие аргументы, но нам бы хотелось упомянуть здесь следующую гипотезу. Как уже упоминалось, генетические системы гаплоидной *Homoptera*, к которому относится и пчела медоносная *Apis mellifera*, и диплоидных организмов (например, видов дрозофил) сильно отличается. У гаплоидных организмов гаплоидные мужские особи развиваются из неоплодотворенных яйцеклеток, а диплоидные женские особи – из опло-

дтоворенных яйцеклеток. Эта особенность приводит к уменьшению генетических рекомбинаций и снижению генетического полиморфизма из-за отбора против "вредных" рецессивных аллелей у гаплоидных мужских особей (Lester and Selander, 1979), исключая локусы женских особей.

В любом случае, проблема низкой изменчивости не касается лишь изученных нами выборок, этот феномен характерен для всего вида *Apis mellifera*. В научной литературе данные об уровне полиморфизма этого вида приводятся довольно часто. Однако прямые сравнения наших данных и результатов других авторов будут не совсем корректными из-за несовпадения числа использованных локусов. Гораздо информативнее для определения степени изменчивости среднерусской породы сравнить ожидаемую гетерозиготность локуса *Mdh*, который используется практически во всех работах по пчеле медоносной. Ранее было показано, что аллельные частоты локуса клинально изменяются в зависимости от давления отбора и разные аллозимы *Mdh* отличаются по термостабильности (Cornuet et al., 1995). Результаты, вычисленные нами по представленным аллельным частотам или приведенные авторами, показаны в таблице 3.2.1. Несмотря на всю условность приведенных данных (в пределах каждого из регионов изменения гетерозиготности были довольно большими), можно выделить следующие закономерности. Наибольшей гетерозиготностью характеризуются пчелы Западной Европы и США (имеющие в основном то же происхождение). Африканские и турецкие выборки были практически мономорфны, далее повышение уровня Н наблюдается от кавказских пчел к среднерусской породе. Здесь необходимо отметить, что гетерозиготность вычисляется на основе аллельных частот ($H = 1 - (r_1^2 + r_2^2 + \dots + r_n^2)$, где r_1, r_2, \dots, r_n – частоты аллелей 1, 2, ..., n, соответственно) и опосредованно может свидетельствовать об аллельных различиях *Apis mellifera* из различных регионов (табл. 3.2.1.). Несмотря на относительную близость частот, некоторые выборки имели специфичные аллели. Уже упомянутый редкий аллель 1 локуса *Mdh-1* обнаружен лишь у бортевых пчел и аллель 3 локуса *Est-1* – в выборках кавказских пчел. В локусе *Mdh-3* различия обнаружены лишь по частотам аллелей, а не по их составу. В целом, пчелы исследованных регионов обладают близким генофондом.

Наблюдаемые и ожидаемые по правилу Харди-Вайнберга частоты генотипов во всех изученных нами выборках совпадают. Также были близки ожидаемые и наблюдаемые частоты гомозигот и гетерозигот. По всем трём полиморфным локусам имеется слабый избыток гетерозигот и в среднем коэффициент инбридинга практически близок к нулю. Все это свидетельствует о том, что в исследуемых выборках скрещивание происходит случайным образом и не ограничивается немногими семьями.

Таблица 3.2.1.

Гетерозиготность локуса *Mdh* у пчелы медоносной из разных регионов

№№	Вид, подвид	H	Ссылка
1	<i>A. mellifica</i>	0.27	Badino et al., 1985
2	<i>A. mellifera</i>	0.50	Sheppard, 1988
3	<i>A.m.carnica</i> , <i>A.m.mellifera</i> ²	0.65	Shepard and McPheron, 1986
4	<i>A.m.ligustica</i>	0.39	Badino et al., 1983
5	<i>A.m.monticolus</i> , <i>A.m.scutellata</i> ³	<0.06	Meixner et al., 1994
6	<i>A.m.anatolica</i> , <i>A.m.meda</i> , <i>A.m.caucasica</i> ⁴	0.04	Kandemir and Kence, 1995
9	<i>A.m.caucasica</i>	0.13	Данная работа
7	Бурзянская популяция <i>A.m.</i>	0.25	Данная работа
8	Среднерусская порода <i>A.m.</i> ⁵	0.24	Данная работа

Примечания: ¹ - Пчелы, интродуцированные в США; ² – зона межрасовой гибридизации в Чехословакии; ³ – пчелы из Кении (Африка); ⁴ – зона расовой гибридизации в Турции; ⁵ – без бурзянской популяции.

По ожидаемой гетерозиготности локусов полиморфизм выборок пчел не изменяется в широких пределах. По двум другим параметрам (среднее число аллелей на локус и наблюдаемая гетерозиготность) изменчивость горных бурзянской бортевой и кавказской пчел выше ($A = 2.0$, $H_0 = 0.093 - 0.155$), чем у двух равнинных выборок среднерусской породы ($A = 1.3 - 1.7$, $H_0 = 0.063 - 0.066$). Возможно (как уже указывалась), в горных нестабильных условиях повышенная гетерозиготность обеспечивает более успешную адаптацию.

Общность или близость генофонда пчелы из исследуемого региона подтверждается и при анализе параметров F-статистики Райта. Среди всех сравниваемых 5 выборок показатель межвыборочной подразделенности F_{st} был равен всего 2.3 %. Близость генофонда выборок подтверждается и при вычислении генетических расстояний Нея-D. Максимальное значение этого показателя не превышало значения $D = 0.010$, изменяясь в пределах $D = 0.001 - 0.010$.

Особенности кластеризации выборок показаны на дендрограмме (рис. 3.2.1.), построенной с использованием генетического расстояния Кавалли-Сфорца и Эдвардса d. Обращает на себя внимание то, что выборка бортевых пчел отличается от салаватской выборки среднерусской породы. Аллельный состав пчел из Салаватского района генетически гораздо ближе к расположенной на значительном удалении смоленской выборке, чем к близлежащей популяции бурзянской пчелы того же региона.

Для более точного определения генетических различий бурзянских пчел от двух других выборок среднерусской породы и кавказских пчел мы объединили в одну совокупность смоленскую и салаватскую выборки. Различия выборки

Таблица 3.2.2.

Частоты аллелей в выборках пчел из разных регионов России

Выборки	Локусы и аллели							
	Mdh-1		Est-1		Mdh-3			
	1	2	1	2	3	1	2	
Бортевые Б	0.047	0.953	0.078	0.922	0	0.146	0.854	
Салаватские Сл	0	1.000	0.047	0.953	0	0.125	0.875	
Смоленские См	0	1.000	0	1.000	0	0.167	0.833	
Кавказские К1	0	1.000	0.084	0.874	0.042	0.076	0.924	
Кавказские К2	0	1.000	0.054	0.862	0.085	0.061	0.939	

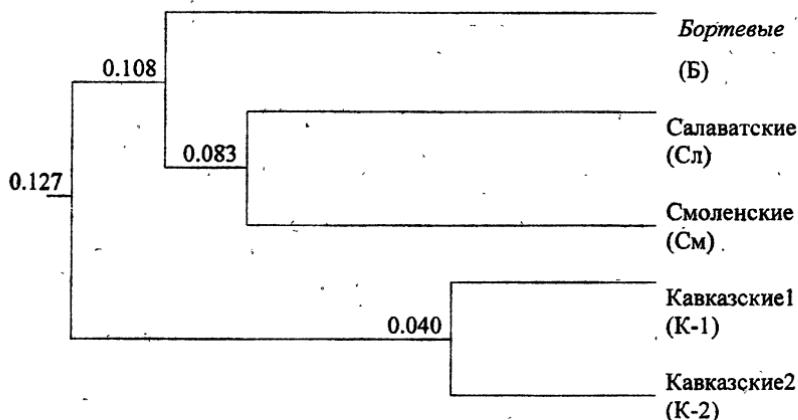


Рис. 3.2.1. Дендрограмма, показывающая кластеризацию выборок пчел из разных регионов России. Цифрами показаны генетические расстояния между кластерами и выборками.

бурзянской популяции от двух других выборок среднерусской породы составили около 75 % от общей дифференциации, полученной при включении в анализ кавказских пчел. Такая же закономерность прослеживается и при вычислении генетического расстояния Нея D.

Таким образом, бурзянская популяция по своей генетической структуре выделяется среди других пчел среднерусской породы.

ГЛАВА 4. ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ТРАВЯНИСТЫХ РАСТЕНИЙ

4.1. Морфологические особенности растений *Delphinium dictyocarpum* на территории заповедника "Шульган-Таш"²

По территории заповедника "Шульган-Таш" проходит северная граница ареала *Delphinium dictyocarpum* DC (род *Delphinium* L., семейство Ranunculaceae) в горной части Южного Урала. Растения этого вида содержат дитерпеновые алкалоиды, на основе которых могут быть получены высокоэффективные медицинские препараты для лечения сердечно-сосудистых и многих других заболеваний (Юнусов, 1997). По этим причинам является актуальным изучение популяционной структуры вида и результаты исследования будут иметь большое теоретическое и прикладное значение.

На территории заповедника "Шульган-Таш" *D. dictyocarpum* приурочен к оstepненным крутым берегам р. Белой. В Республике Башкортостан *D. dictyocarpum* имеется также в Предуралье (массовое распространение вида отмечается, главным образом, южнее г. Мелеуз), Зауралье и на Зилаирском плато (по балкам и в нижних частях склонов холмов). Растения произрастают преимущественно в кустарниковых (союз *Amygdalion nanae* V.Golub in Iljina et al. 1991) и ксеромезофильных травянистых степях (союз *Lathyro pallescens-Helictotrichion schelliani* Solm. et al. 1994) порядка *Fes-tucetalia valesiacae* Br.-Bl. et Tx. ex Br.-Bl. 1949 класса *Festuco-Brometea* Br.-Bl. et Tx. 1943, а также на участках разреженных оstepненных лесов (союз *Lathyro-Quercion* Solm., Grigorjev et Khaizachmetov 1989 порядка *Quercetalia pubescantis* Klika 1933 класса *Querco-Fagetea* Br.-Bl. et Vlieger in Vlieger 1937) и вторичных послелесных лугов союза *Trifolion montani* Naumova 1986 (порядок *Galietalia veri* Mirkin et Naumova 1986 класс *Molinio-Arthenathe-retea* R.Tx. 1937 em. R.Tx. 1970).

Цель данного раздела – анализ степени морфологической обособленности растений *D. dictyocarpum* на северной границе распространения вида (в пределах территории заповедника "Шульган-Таш") от других популяций. Материал для исследования собран на 8 пробных площадях. Две пробные площади – Мелеузовская (МЕ) и Зианчуринская (ЗИ) находятся в Предуралье. Первая из них представляет степное сообщество союза *Lathyro pallescens-Helictotrichion schelliani*, вторая – заросли кустарников, относящихся к союзу *Amygdalion nanae*. Следующие две пробные площади заложены в Зауралье, в растительных сообществах союза *Amygdalion nanae*. Участок Акмурунский (АК) находится в равнинной части Зауралья, Юлдыбаевская (ЮЛ) пробная площадь заложена на

² Федоров Н.И., Мухаметзянова К.Ф.

крутом южном склоне горы на границе распространения степной растительности в месте ее замещения горными сосново-березовыми лесами (восточный макросклон Южного Урала). Четыре выборки – Бурзянская (БУ), Кугарчинская (КУ), Семиколенковская (СЕ) и Идельбековская (ИД) находятся в горной части Южного Урала. Самая северная из них (БУ) расположена на крутом оstepненном берегу р. Белой в зарослях кустарников, относящихся к союзу *Amygdalion panae*. Участки КУ и СЕ подобраны в нижних частях стенок балок, расчленяющих сырты Зилаирского плато, в сообществах союза *Amygdalion panae*. Самая южная пробная площадь (ИД) расположена на переходе плоскогорий Зилаирского плато в холмисто-увалистый рельеф на границе с Оренбургскими степями и представляет степное сообщество союза *Lathyto pallescens-Helictotrichion schellianii*.

На каждой из пробных площадей отбирали случайным образом (но не ближе, чем в 20 м друг от друга) 30-35 генеративных растений. У каждой особи учитывали 25 вариабельных параметров стебля, соцветия, цветка и листа, отражающих внутри- и межпопуляционные морфологические особенности растений. Для характеристики генеративных побегов использованы их пигментированность, длина ($D_{0\text{p}}$) и густота опушения нижней части побега, а также отношение числа листьев на побеге к его высоте. Для характеристики соцветий использованы оцененные по трехбалльной шкале опущенность (O_c), относительная длина соцветия (O_{Dc}), нормированное по длине соцветия число паракладиев (плотность соцветия (P_c)), длина конечного междуузлия соцветия и отношение длины верхнего паракладия к длине конечного междуузлия. Для характеристики цветка использованы оцененная по трехбалльной шкале интенсивность окраски, высота шпорца и его изогнутость, отношение высоты шпорца к его длине, угол верхнего отгиба венчика, ширина бокового листочка околоцветника и отношение ширины бокового листочка околоцветника к его длине, отношение длины бокового листочка околоцветника к длине шпорца. Для характеристики листа выбраны следующие параметры: оцененные по трехбалльной шкале опущенность верхней стороны листа, угол между крайними лопастями листовой пластины в градусах, отношение расстояния от основания листовой пластины до выемки между средней и соседней к ней лопастями к длине листовой пластины, нормированная по длине листа его ширина, ширина основания средней лопасти и длина центрального сегмента средней лопасти, нормированная по ширине основания средней лопасти ширина основания центральной доли средней лопасти, отношение ширины средней лопасти к основанию ширины средней лопасти, относительная ширина средней лопасти ($O\text{Ш}_{ca}$).

Для анализа популяционной структуры был применен кластерный анализ по средневыборочным значениям морфологических параметров выборок с использованием программы SYN-TAX IV (Podani, 1990). В качестве меры различия, выборок использовали Евклидово расстояние, дендрограмму строили по методу

“дальнего соседа” (Песенко, 1982). Результаты кластерного анализа межпопуляционных различий растений *D. dictyosargum* приведены на рисунке 2.1.1.

На дендрограмме выделяется северная изолированная популяция БУ. Ее контакт с близко расположенным выборками КУ и МЕ был возможен только в период господства степной растительности на Южном Урале в начале голоцена (Горчаковский, 1953, 1963). Популяция находится в горно-лесной зоне, поэтому растения здесь отличаются более поздним (на 10-15 дней) началом цветения. Остальные выборки группируются в 2 макрокластера. Первый из них включает участки ЗИ, ИД и АК. Эти выборки приурочены к зоне распространения степных сообществ по периметру южной оконечности Уральского хребта. Здесь растения *D. dictyosargum* встречаются по опушкам оステпненных лесов и в безлесных сообществах, распространение вида лимитируется преимущественно антропогенными факторами. Выборки ЗИ и ИД на дендрограмме практически не различаются. Обе они, видимо, являются фрагментами единой “южноуральско-степной” популяции, приуроченной к холмисто-увалистому рельефу на границе Южного Урала и оренбургских степей. Зауральская выборка АК обособлена от остальных почти на таком же уровне, как и БУ. Ее можно рассматривать как самостоятельную “зауральско-степную” популяцию. Выборка АК ранее могла иметь контакт с “южноуральско-степными” популяциями, но в настоящее время изолирована от них вследствие антропогенного влияния (выпас скота, распахивание земель). Второй макрокластер объединяет выборки с южной оконечности Уральского хребта - Зилаирского плато (КУ и СЕ), а также западных (МЕ) и восточных (ЮЛ) предгорий Южного Урала. Здесь растения *D. dictyosargum* встречаются как по опушкам оステпненных лесов, так и в безлесных сообществах. Выборки можно отнести к условной категории “лесостепных” популяций. Распространение вида здесь лимитируется преимущественно антропогенными факторами.

При анализе средневыборочных значений морфологических параметров растений (табл. 4.1.1.) выявлена клинальная изменчивость параметров ОШ_{сл} и ОД_с. В Предуралье и на Южном Урале их значения вдоль трансекты “север – юг” увеличиваются с 5.20 до 8.41 и с 0.21 до 0.40, соответственно. По этому направлению распространение вида меняется от локальных изолированных до больших по объему популяций. Так как большие значения ОШ_{сл} и ОД_с отмечены в условиях экологического оптимума *D. dictyosargum*, их можно интерпретировать как параметры, отражающие «виталитет» этого вида.

Растения северного типа популяций (БУ) отличаются более коротким и плотным соцветием (меньшей ОД_с и большей П_с). Это, видимо, свидетельствует о менее благоприятных условиях произрастания на краю ареала в горно-лесной зоне. Для растений южноуральско-степного типа популяций характерны более ромбовидные доли листа (большая относительная ширина средней лопасти (ОШ_{сл})). Растения зауральско-степного типа популяций (АК)

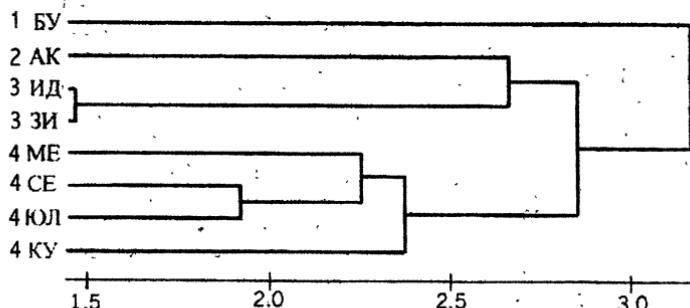


Рис. 4.11. Кластеризация выборок *Delphinium dictyocarpum*. Группы популяций: 1 – северная, 2 - зауральско-степная, 3 - южноуральско-степная, 4 – лесостепная.

Таблица 4.1.1.

Характеристика популяций *Delphinium dictyocarpum* DC

Морфологические параметры	Популяции							
	Север- ная	Степные			Лесостепные			
		ЗУ	ЮУ					
	БУ	АК	ИД	ЗИ	МЕ	СЕ	ЮЛ	КУ
Пс	0.16	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01
ОДс	0.21	0.30	0.40	0.38	0.29	0.36	0.35	0.31
ДОп	1.79	0.66	1.31	1.46	1.57	1.16	1.35	1.94
Ос	0.24	0	0.17	0.24	0.32	0.80	0.24	0.27
ОШсл	5.20	6.08	8.41	7.65	6.54	6.68	6.86	6.16

Примечание: в таблице приведены только параметры, определяющие морфологические различия растений разных популяций; ЗУ- зауральские и ЮУ- южноуральские популяции.

отличаются более коротким опушением стеблей и всегда голыми соцветиями. Отсутствие опушения на чашелистиках, цветоножках и оси соцветия у растений этого типа позволяет отнести его к распространенной на равнинных местобитаниях в Западной Сибири вариации вида *D. dictyocarpum* var. *glaberrimum* Trautv. (Крылов, 1931). На территории заповедника "Шульган-Таш" и на других пробных площадях этой группы популяций в той или иной степени представлены растения с опущенными соцветиями. Это свидетельствует о присутствии наряду с *D. dictyocarpum* var. *glaberrimum* Trautv. еще и вариации с опущенными соцветиями - *D. dictyocarpum* var. *pubiflorum* Trautv., рассматриваемой некоторыми авторами (Невский, 1937; Цвелев, 1996), как самостоятельный вид *D. cyananthum* Nevski., встречающийся в горных степях Алтая и предгорьях Средней Азии (Цвелев, 1996). Лесостепная группа популяций (КУ, СЕ, МЕ, ЮЛ) характеризуется меньшей выраженностью у растений морфологических особенностей, характерных для растений предыдущих типов.

Таким образом, в период господства степной растительности на Южном Урале в начале голоцене *D. dictyocarpum* мог иметь большее распространение. Изолированные в настоящее время популяции и субпопуляции у северной границы ареала, возможно, были ранее объединены в единую популяцию с непрерывным ареалом. Наличие во всех выборках (за исключением зауральско-степной) вариации вида *D. dictyocarpum* var. *pubiflorum* может свидетельствовать о возможной филогенетической близости горных популяций Западной Сибири и Южного Урала.

4.2. Популяционная структура *Delphinium elatum* L. на Южном Урале¹

Delphinium elatum L. является видом, широко распространенным в Сибири, европейской части России, в горах Средней Азии и Средней Европы (Невский, 1937). Благодаря внутри- и межвидовой гибридизации, произрастанию в новых условиях местообитания вид образовал множество форм (Малютин, 1973), некоторые из которых иногда рассматриваются как подвиды или даже самостоятельные виды (Цвелев, 1996). Цель данного исследования – анализ уровня генетической дифференциации популяций *D. elatum* на Южном Урале. Для изучения этой проблемы мы использовали метод электрофоретического анализа изоферментов.

Материал для исследования собран на 7 пробных площадях, заложенных на основе анализа распространения этого вида. Для выделения изоферментов использовали покоящиеся почки корневищ растений, собранных по той же методике, что и для изучения морфологических особенностей растений (раздел 4.1). Башкирское Предуралье представлено 3 выборками: одна из них (условно обоз-

¹ Федоров Н.И., Канчурин М Н, Редькина Н.Н., Исангулова А.А.

значена Ми) находится в Мишкинском районе (зона широколиственных лесов) и две – в Карайдельском районе (К1, зона смешанных хвойно-широколиственных лесов; К2, темнохвойная тайга). В горной части Южного Урала заложены 3 пробные площади. Одна из них (Ин) находится в Белорецком районе в зоне сосново-березовых лесов на территории Южно-Уральского государственного заповедника. Пробные площади Киекбаевская (Ки) и Шульган-Ташская (Шу) заложены южнее этой территории в Бурзянском районе в зоне смешанных хвойно-широколиственных лесов. Зауралье (Учалинский район) представлено выборкой (Уч) на отрогах хребта Нурали. В результате предварительного анализа нескольких ферментных систем по ряду параметров (полиморфность, высокая гистохимическая активность, доступность интерпретации электрофорограмм и др.) были отобраны изоферменты лейцинаминопептидазы, глутаматдегидрогеназы и алкогольдегидрогеназы.

Анализ электрофорограмм показал, что глутаматдегидрогеназа выявляется в виде одной зоны активности GDH с тремя одинарными и несколькими семиполосными фенотипами. Мы предположили, что одинарные полосы представляют три аллозима гомозиготных по локусу *Gdh-1* особей, а многополосным фенотипам соответствуют гетерозиготные растения.

Активность алкогольдегидрогеназы обнаруживается в двух зонах, из которых стабильным и интенсивным окрашиванием обладает лишь ADH-1. Выявлены 5 однополосных фенотипов и большее число трехполосных вариантов, представляющих одновременно комбинацию двух однополосных вариантов и полосы с промежуточной электрофоретической подвижностью. Такой спектр возможен при димерности ферmenta и если он контролируется локусом с 5 аллелями.

Анализ электрофорограмм лейцинаминопептидазы в зоне LAP-1 показал, что имеются лишь одно- и двухполосные фенотипы. Возможно, фермент является мономером и зона контролируется одним локусом (*Lap-1*) с двумя частыми и одним редким аллелями. Изоферменты зоны активности LAP-2 в анализ не включены из-за недостаточно четкого их разделения в гелях. Частоты использованных аллелей приведены в таблице 4.2.1.

В основном, различия выборок выявляются лишь по частотам аллелей, а не по их составу. Аллели, специфичные для отдельных популяций, относятся к категории редких. Частоты основных аллелей варьируют между популяциями незначительно, за исключением выборки Уч (локусы *Adh-1* и *Lap-1*). В количественном отношении эти закономерности представляет таблица 4.2.2., где приведена оценка статистической значимости различий частот аллелей (над диагональю) и генотипов (под диагональю). Несмотря на существование статистически достоверных различий аллельных частот в отдельных парах, в целом межпопуляционная изменчивость выражена слабо – коэффициент подразделенности составил всего 3,1 %. Этот параметр по отдельным локусам варьирует незначительно (2,1, 3,6 и 3,7 % для локусов *Adh-1*, *Lap-1* и *Gdh-1*).

Таблица 4.2.1.

Частоты аллелей изученных локусов *Delphinium elatum*

Локусы и аллели	Выборки						
	K2	K1	Ми	Ин	Ки	Шу	Уч
1. Adh-1							
1	0	0.047	0.016	0.000	0.000	0.000	0.000
2	0.141	0.109	0.156	0.179	0.141	0.094	0.283
3	0.016	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
4	0.844	0.813	0.781	0.804	0.844	0.891	0.717
5	0.000	0.031	0.047	0.018	0.016	0.016	0.000
2. Lap-1							
1	0.156	0.063	0.094	0.161	0.156	0.172	0.300
2	0.016	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
3	0.828	0.938	0.906	0.839	0.844	0.828	0.700
3. Gdh-1							
1	0.016	0.031	0.047	0.036	0.016	0.000	0.000
2	0.875	0.938	0.938	0.893	0.781	0.813	0.917
3	0.109	0.031	0.016	0.071	0.203	0.188	0.083

Таблица 4.2.2.

Статистическая оценка гетерогенности аллелей

Выборки	K2	K1	Ми	Ин	Ки	Шу	Уч
K2	ns	*(3)	ns	ns	ns	ns	ns
K1	ns		ns	ns	**(3)	**(3)	
Ми	ns	ns		ns	ns	*** (3)	** (2) *(3)
Ин	ns	ns	ns		ns	ns	* (3)
Ки	ns	*(3)	ns	ns		ns	ns
Шу	ns	*(3)	*(3)	ns	ns		* (1)
Уч	ns	*(1) ** (2) *(3)	*(2)	ns	ns	* (1)	

Примечания: ns – различие недостоверно; символами (*), (***) и (****) обозначены статистически значимые различия на уровнях $P < 0.05$, 0.01 и 0.001 , соответственно. В скобках приведены номера локусов (табл. 4.2.1.), по которым различия были достоверными.

соответственно). Генетические расстояния Нея D между выборками также показывают небольшой уровень различий (таблица 4.2.3.).

Наиболее вероятной причиной в целом слабого разделения популяций можно считать то, что формирование современной южноуральской части ареала завершилось относительно недавно после завершения "малого ледникового периода".

В литературе данных по изучению видов *Delphinium* L. с использованием изоферментных генетических маркеров практически нет. Мы нашли всего одну работу, где исследовалась генетическая структура 17 популяций узкоэндемичного североамериканского вида *D. viridescens* (Richter et. al., 1994). Обнаружено соответствие географических и генетических дистанций между популяциями ($P < 0.001$), а популяционная структура соответствовала островной модели изоляции дистанцией Райта. В парах близкорасположенных выборок получены наибольшие значения генетической идентичности, а различия между географически разделенными парами были в несколько раз выше. Уровень межпопуляционной дифференциации – коэффициент подразделенности F_{st} по разным локусам изменился от 0.059 до 0.285, составляя в среднем 20.9 %. Эта величина меньше, чем вычисленное по 25 опубликованным работам среднее межпопуляционное разнообразие многолетних травянистых растений $G_{st} = 0.278$ (Hamrick et. al., 1992). Более того, при исключении из анализов двух наиболее дивергировавших изолированных популяций уровень дифференциации значительно снижался, свидетельствуя о довольно высокой общности генофондов популяций. Среднее генетическое расстояние H_{ej} , пересчитанное нами на основе представленных в статье значений генетической идентичности I , составило при этом всего $D = 0.033$. Специфичных для отдельных популяций аллелей было относительно мало, различия в основном выявлялись по частотам. Таким образом, полученные нами данные о низком уровне дифференциации южноуральских популяций *D. elatum* подтверждены на примере другого вида *Delphinium*. В близлежащих выборках выявляется большая генетическая идентичность, чем между выборками из различных частей исследованного региона. Генетические расстояния между парами выборок Ки/Шу и К1/Ми были намного меньше,

Таблица 4.2.3.

Генетические расстояния в популяциях *Delphinium elatum*

Выборки	K2	K1	Ми	Ин	Ки	Шу	Уч
K2	0						
K1	0.007	0					
Ми	0.006	0.001	0				
Ин	0.001	0.005	0.003	0			
Ки	0.004	0.014	0.015	0.007	0		
Шу	0.004	0.015	0.017	0.008	0.001	0	
Уч	0.017	0.032	0.024	0.013	0.027	0.028	0

чем в среднем между всеми популяциями (табл. 4.2.4.). Находящиеся на небольшом расстоянии друг от друга, но произрастающие в различных условиях растения выборок К1 и К2 проявляют тенденцию к повышению уровня дифференциации. Возможно, экологический фактор в случае с *D. elatum* вносит определенный вклад в формирование генетической структуры популяций. Находящаяся на восточном макросклоне Южноуральских гор Учалинская выборка по генетическому расстоянию выделяется от других пробных площадей (рис. 4.2.1.). Таким образом, генетическая дифференциация большинства популяций достаточно хорошо соответствует модели, при которой генетические различия формируются изоляцией расстоянием. Выявленной закономерности не подчиняются расположенные на значительном удалении друг от друга выборки пары К2/Ин, которые близки по частотам аллелей. Возможной причиной может быть их приуроченность к одним и тем же экологическим условиям (крутым и холодным северным склонам, на которых сформировались горные неполноразвитые почвы с выходами горных пород). Общим для этих двух выборок является еще и присутствие в травяном ярусе растений плейстоценового комплекса (*Primula cortusoides*, *Cortusa matthioli* и др.), что свидетельствует о реликтовом характере растительности в этих местообитаниях.

На Южном Урале нами отмечена значительная внутри- и межпопуляционная изменчивость растений *D. elatum* по характеру опушения побегов (наличию железистого и оттопыренного прямого опушения). Этот признак был использован во "Флоре Сибири" (Фризен, 1993) для разделения *D. elatum* и близких к нему видов. В связи с этим возникает вопрос о степени соответствия морфологической вариабельности и уровня генетической дифференциации в регионе. С этой целью мы попытались сопоставить данные изоферментного анализа с нашими результатами о межпопуляционной изменчивости вида по соотношению растений с различными типами опушения.

Таблица 4.2.4.

**Генетическое расстояние и межвыборочная подразделенность
*Delphinium elatum***

Локусы	Пары выборок						По всем выборкам	
	К1 и К2		Шу и Ки		К1 и Ми			
	F _{st}	D	F _{st}	D	F _{st}	D		
Adh-1	0.005	0.003	0.005	0.002	0.003	0.001	0.021	
Lap-1	0.025	0.007	0	0	0.003	0.001	0.036	
Gdh-1	0.015	0.004	0.001	0.001	0.001	0	0.037	
В среднем	0.013	0.005	0.002	0.001	0.003	0.001	0.030	

К пробным площадям, описанным ранее, мы добавили выборку из Белорецкого района (Ир), расположенную у верхней границы распространения леса на горе М. Иремель. В качестве маркеров были выбраны изоферменты локуса Adh-2. Предварительные вычисления показали, что величина межпопуляционной подразделенности по одному этому локусу для 7 выборок практически полностью копирует различия этих же выборок по трем полиморфным локусам (см. выше).

Генетические различия большинства популяций по Adh-1 выражены слабо (рис. 4.2.2.). Лишь выборка Ир значительно (на уровне $D = 0.093$) дифференцирована от остальных; величина генетического расстояния Ней D почти в четыре раза превышает нижеследующий уровень кластеризации (пробная площадь Уч). Выборка Ир наиболее сильно выделяется от всех остальных также по морфологическим признакам. В ней доминируют растения с полностью железисто-опущенными побегами и железисто-опущенными завязями (табл. 4.2.5.). По совокупности признаков растения этого типа популяций близки к южносибирскому горному эндемику *Delphinium malyschevii*, но отличаются от него более крупными размерами. Хотя уровень генетической дифференциации остальных выборок слабо выражен, имеются и некоторые другие параллели в закономерностях формирования популяционной структуры по изоферментным маркерам и морфологическим признакам.

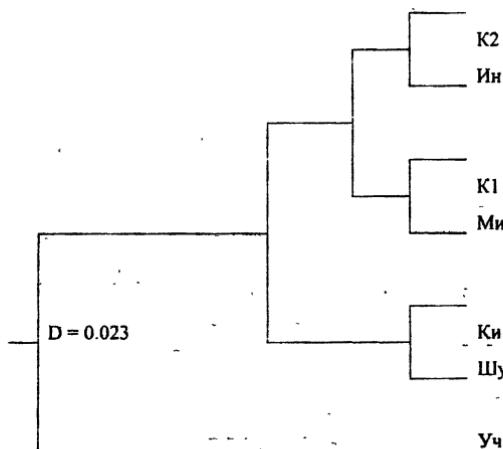


Рис. 4.2.1. Кластеризация выборок *D. elatum*

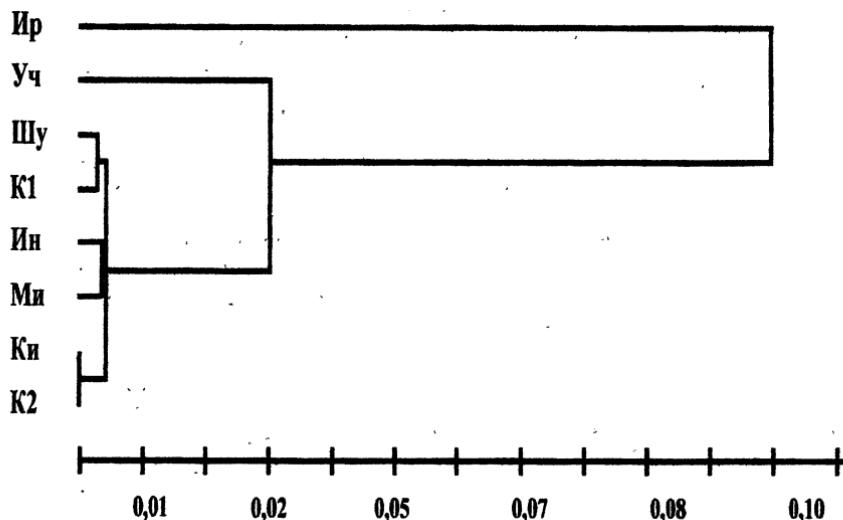


Рис. 4.2.2. Кластеризация выборок по локусу Adh-2

Таблица 4.2.5.

Представленность в выборках *Delphinium elatum* растений с различным опушением

Опушение побегов	Представленность растений в выборках. В %							
	Ир	Ин	Ки	Шу	К2	Уч	Ми	К1
С железистым опушением								
В соцветии	100	46	-	40	12	0	0	0
В нижней части стебля	84	56	37	21	100	0	0	0
С простым опушением								
В соцветии	5.0	29	-	27	0	0	0	0
В нижней части стебля	21.0	100	74	38	100	85	81	38

Предуральские выборки Ми и К1 имеют достаточно высокое сходство, а Учалинская от них сильно отличается. Причиной дифференциации последней,

видимо, является изоляция Уральским хребтом и возможный относительно недавний контакт с западносибирскими популяциями. Выборки Ки и Шу морфологически и генетически сходны, что может быть связано с близким расположением. В выборках присутствуют горные и равнинные фенотипы. Генетически близкие выборки К2 и Ин приурочены к расположенным над поймами рек Карайдель и Инзер крутым, холодным северным склонам, на которых сформировались горные неполноразвитые почвы с выходами горных пород. В обеих выборках широко представлены растения с железистым опушением внизу стебля и голым соцветием. Этот фенотип распространен по периметру южноуральского хребта и, видимо, является результатом гибридизации в конце плейстоцена равнинной (без железистого опушения) и подгольцовой форм (с железистым опушением всех частей в генеративных побегах).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аветисян Г.А. Некоторые вопросы эволюции, распространения, охраны и использования видов и пород пчел // XVIII Международный конгресс по пчеловодству. М., 1937. - С.57-65.
2. Аллатов В.В. Породы медоносной пчелы. М.: МОИП. - 1948.
3. Алтухов Ю.П. Внутривидовое генетическое разнообразие: мониторинг и принципы сохранения // Генетика. - 1995. - Т. 31. - С. 1333-1357.
4. Алтухов Ю.П., Крутовский К.В., Гафаров Н.И. и др. Аллозимный полиморфизм в природной популяции ели европейской (*Picea abies* (L.) Karst.). Системы полиморфизма и механизмы их генного контроля // Генетика. - 1986. - Т.22. - С.2135-2151.
5. Алтухов Ю.П., Крутовский К.В., Духарев В.А. и др. Биохимическая генетика популяций лесных древесных растений // Лесная генетика, селекция и физиология древесных растений. Матер. Межд. Симп. (25-30 сентября 1989, г. Воронеж) - М.: 1989. - 222 с.
6. Газизов Р.И. Племенное улучшение местных пчел Башкирии // Пчеловодство. - 1987. - №5. - С.7-8.
7. Генрих В.Г., Тюльпанова В.А. Башкирские бортевые пчелы // Пчеловодство. - 1958. - №8.
8. Гиниятуллин М.Г., Шафиков И.В., Косарев М.Н., Юмагужин Ф.Г., Нуруманов Р.Г. Экстерьерные признаки бурзянской бортевой пчелы // Изучение природы в заповедниках Башкортостана. Миас, 1999. - С.19-27.
9. Гончаренко Г.Г., Потенко В.В. Параметры генетической изменчивости и дифференциации в популяциях ели европейской (*Picea abies* (L.) Karst. и ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.). - Генетика. - 1991. - Т.27. - С.79-92.
10. Гончаренко Г.Г., Потенко В.В. Изменчивость и дифференциация у ели европейской *Picea abies* (L.) Karst. в популяциях Украины, Белоруссии и Латвии // Доклады АН БССР. - 1990. - Т.314. - N.2. - С.492-496.
11. Горчаковский П. Л. История развития растительности Урала, изд. 2. Свердловское книжное издательство, 1953. 144 с.
12. Горчаковский П.Л. Широколиственные леса и их место в растительном покрове Южного Урала. М.: Наука, 1972. 147 с.
13. Дворник В.Я., Котов В.С., Михеенко И.П. Генетическая дифференциация сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), произрастающих в различных экотопах // Генетика. - 1998. - Т. 34. - С. 1258-1262.
14. Джапаридзе Т.Г. План породного районирования пчел в СССР // Пчеловодство. - 1988. - №5. - С. 4-5.
15. Дреер К. В защиту естественных пород пчел // Пчеловодство. - 1985. - №4. - С.6-7.

16. Животовский Л.А. Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991. – 271 с.
17. Кожевников Г.А. Естественная история пчелы. М., 1931.
18. Колесников Б.П. Проблемы охраны растительного мира СССР // Отчет межд. ботанич. конгр. Л: Наукa, 1979. – С. 96-109.
19. Крылов П. Род *Delphinium*. // Флора Западной Сибири. Руководство по определению западносибирских растений. Томск, 1931, Вып. 5. – 1931. – С. 1135-1146.
20. Малютин Н.И. Филогения и систематика рода *Delphinium* L. // Ботанический журнал. – 1973. – Т.58. – С. 1710-1722.
21. Мамаев С.А., Махнев А.К., Ирошников А.И. Охрана генофонда древесных растений в России // Мат. межд. симп. (г. Уфа, 4-11 августа 1991). Уфа: 1994. – С. 24-36.
22. Мамаев С.А., Семериков Л.Ф., Махнев А.К. О популяционном подходе в лесоводстве // Лесоведение. – 1988. - № 1. – С. 3-9.
23. Махнев А.К. Внутривидовая изменчивость и популяционная структура берез секции *Albae* и *Nanae*. М.: Наука. - 1987. - 128 с
24. Молотков П.И., Паттай И.Н., Давыдова Н.И. и др. Селекция древесных пород. – М.: Лесн. пром-сть, 1982. – 224 с.
25. Невский С. А. Род *Delphinium* L. // Флора СССР. М - Л., 1937.
26. Никоноров Ю.М., Беньковская Г.В., Поскряков А.В., Николенко А.Г., Вахитов В.А. Использование метода ШЦР для контроля чистопородности пчелосемей *Apis mellifera mellifera* L. в условиях Южного Урала // Генетика. - 1998. - Т.34. - С.1574-1577.
27. Песенко Ю.А. Принципы и методы количественного анализа в фаунистических исследованиях. М.: Наука, 1982. - 287 с.
28. Попов Г.В. Леса Башкирии. Уфа: Башк. кн. изд-во, 1980. - 144 с.
29. Семериков Л.Ф. Популяционная структура древесных растений (на примере видов дуба европейской части СССР). М.: Наука, 1986. - 141 с.
30. Семериков В.Л. Дифференциация сосны обыкновенной по аллозимным локусам: Автoref. ... канд. биол.. наук. - М., 1991. - 21 с.
31. Соколов А.И. Краткий очерк Башкирского заповедника // Социалистическое хозяйство Башкирии. - 1940. - С.3.
32. Стрельцова С.Г., Санников С.Н., Петрова И.В., Янбаев Ю.А. О фенологической и генетической дифференциации разновысотных популяций сосны обыкновенной на Южном Урале // Деп. в ВИНТИ 27.12.91, № 4775-В91.
33. Фатхиев Ф.Ф. Сохраним башкирскую бортевую пчелу // Пчеловодство. - №7. - 1991. - С.10-11.
34. Фризен Н.И. Род *Delphinium* // Флора Сибири. Новосибирск, 1993. - Т. 6. - С. 118-128.
35. Цвелев Н. Н. О некоторых родах семейства лютиковых (*Ranunculaceae*) в Восточной Европе. // Бот. журн.-1996.-Т. 81. С. 112-122.

Список литературы

36. Черевко Ю.А., Черевко Л.Д. Чистопородное разведение и доходность в пчеловодстве // Пчеловодство. - 1998. - №4. - С.14-16.
37. Шагимухаметов Р.Б. Сохранить башкирских пчел // Пчеловодство. - 1999. - №4. - С. 14-15.
38. Шакиров Д.Т. Нужны не слова, а дела // Пчеловодство. - 1987. - № 12. - С.9.
39. Шафиков И.В. Изучение и селекция бурзянских бортевых пчел Башкирского государственного заповедника: Автограферат дисс. канд. с.-х. наук. М.: 1978.
40. Шигапов З.Х., Бахтиярова Р.М., Янбаев Ю.А. Генетическая изменчивость и дифференциация природных популяций сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris L.*) // Генетика. - 1995. - Т. 31. - С. 1386-1393.
41. Эрлих П. Стратегия охраны природы, 1980-2000 // Биология охраны природы. М: Мир, 1983, - С. 368-386.
42. Юнусов М.С. Алкалоидная флора бывшего СССР - источник биологически активных соединений. // Химия в интересах устойчивого развития, М., 1997. - № 5. - С. 41 - 56.
43. Янбаев Ю.А. Генетическая структура популяций сосны обыкновенной // В. кн: Биоценотическая характеристика хвойных лесов и мониторинг лесных экосистем Башкортостана. Уфа: Гилем, 1998. С. 111-122.
44. Янбаев Ю.А., Садыков Х.Х. Генетическая изменчивость подроста клена остролистного // Биолого-химические науки в высшей школе. Проблемы и решения. Материалы всероссийской конференции. Бирск. 1998. - С. 226-229.
45. Янбаев Ю.А., Садыков Х.Х., Ганиев Р.М. Генетические различия фенологических форм клена остролистного // Материалы докладов научной конференции "Фауна и флора Республики Башкортостан: проблемы их изучения и охраны". - Уфа: Гилем. - С. 104-107.
46. Янбаев Ю.А., Садыков Х.Х., Ганиев Р.М. Изоферментные генетические маркеры клена ясенелистного (*Acer negundo L.*) // Проблемы агропромышленного комплекса на Южном Урале и Поволжье. Материалы научно-практической конференции молодых ученых и специалистов. Уфа: Башкирский ГАУ, 1997. - С. 196-199.
47. Янбаев Ю.А., Тренин В.В., Шигапов З.Х. и др. Генетическая изменчивость и дифференциация популяций сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris L.*) на территории Карелии // Научные основы селекции древесных растений севера. - Петрозаводск, 1998. - С. 25-32.
48. Янбаев Ю.А., Шигапов З.Х., Путенюхин В.П., Бахтиярова Р.М. Дифференциация популяций ели сибирской (*Picea obovata Ledeb.*) на Южном Урале // Генетика. - 1997. - Т.33. - С. 1244-1249.
49. Bacilieri R., Labbe T., Kremer A. Intraspecific genetic structure in a mixed population of *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Q. robur* L. // Heredity. - 1994. - V. 73. - P. 130-141.

50. Badino G., Celebrano G., Manino A. Genetic variability of *Apis mellifera ligustica* Spin in a marginal area of its geographical distribution // Experientia. - 1982. - V. 38. - P. 540-541.
51. Badino G., Celebrano G., Manino A. et al. Enzyme polymorphism in the Sicilian honeybee // Experientia. - 1985. - V. 41. - P. 752-754.
52. Badino G., Celebrano G., Manino A. et al. Allozyme variability in Greek honeybees (*Apis mellifera* L.) // Apidologie. - 1988. - V. 19. - P. 377-386.
53. Ballal S.R., Fore S.A., Guttman S.I. Apparent gene flow and genetic structure of *Acer saccharum* subpopulations in forest fragments // Canad. J. Bot. - 1994. - V. 72. - P. 1311-1315.
54. Barton N.H., Hewitt G. Analysis of hybrid zones// Ann. Rev. Ecol. Syst. - 1985. - V.16. - P.113-148.
55. Beim A. et al. Concept for the conservation of forest genetic resources in the Federal Republic og Fermany // Silvae genetica. - 1997. V. 46. - P. 24-34.
56. Bergmann F. Genetische Untersuchungen bei *Picea abies* mit Hilfe der Isoenzym-Identifizierung. 111. Geographische Variation am 2 Esteraseund 2 Leucin-aminopeptidase-Loci in der Schwedischen Fichtenpopulation // Silvae Genet. - 1973. - V.22. - P.63-66.
57. Bergmann F. Genetischer Abstand zwischen Populationen. 11. Die Bestimmung der genetischen Abstands zwischen europäischen Fichtenpopulationen (*Picea abies*) auf der Basis von Isoenzym-Gen-Häufigkeiten // Silvae Genet. - 1974. - V. 23. - P.28-32.
58. Bergmann A. Unterscheidung von pappeklonen mit hilfe von isoenzymmustern // Die holzschucht. - 1981. - P. 24-27.
59. Bornus,L. Results of the comparative evaluation of hybrids between several races of bees. Buletin Scientifique de Apimondia, 1972. - P. 121-123.
60. Cavalli-Sforza L.L., Edvards A.W. Phylogenetic analysis: models and estimation procedures // Am. J. Hum. Genet. -1967. - Vol. 19. - P. 233-257.
61. Cheliak W.M., Pitel J.A. Electrophoretic identification of clones in trembling aspen // Can. J. For. Res. - 1984. - V. 14. - P. 740-743.
62. Cliff A. D., Ord J. K. Spatial Autocorrelation - Models and Applications. - Pion Ltd, London, UK. - 1981. - 341 pp.
63. Cornuet J.-M., Oldroyd B.P., Crozier R.H. Unequal thermostability of allelic forms of malate dehydrogenase in honey bees // J. of Apic. Res. - 1995. - V. 34. - P. 45-47.
64. Culot A., Vekemans X., Lefevre C., Homes J. Taxonomic identification and genetic structure of populations of the *Populus tremula* L., *P.alba* L. and *P.xCanezensis* (Ait.) Sm. complex ussing morphological and electrophoretical markers // Population genetics and genetic conservation of forest trees (Ph. Baradat, W.T. Adams and G.Müller-Starck, eds). - SPB Academic publishing, Amsterdam, The Netherlands. - 1995. - P. 113-119.

65. Del Lama M.A., Lobo J.A., Soares A.E.E. et al. Genetic differentiation estimated by isozymic analysis of Africanized honeybee populations from Brazil and from Central America // Apidologie. - 1990. - V. 21. - P. 271-280.
66. Dicouso A., Michaud H., Lumaret R. Réproduction and gene flow in the genus *Quercus* L. Ann. Sci. For. - 1993. - V. 50, Suppl. 1. - P. 91s-106s.
67. Fore S.A., Hickey R.J., Guttman S.I. et al., Temporal differences in genetic diversity and structure of sugar maple in an old-growth forest // Can. J. For. Res. - 1992. - V. 22. - P. 1504-1509.
68. Gartside D.F. Similar allozyme polymorphism in honeybees (*Apis mellifera*) from different continents // Experientia. - 1980. - V. 36. - P. 649-650.
69. Geburek T., Knowles P. Ecological genetic investigations in environmentally stressed mature sugar maple (*Acer saccharum* Marsh.) populations // Water air soil pollut. - 1992. - V. 62. - P. 261-268.
70. Gomory D., Paule L. Isozyme polymorphism in Norway spruce (*Picea abies* Karst.) from slovak carpathians// Norway spruce provenances and breeding. Proceedings of IUFRO (S2.2-11) Symposium, Latvia, 1993. - P.60-67.
71. Goncharenko et al. Genetic resources of pine, spruce and fir species in the former Soviet Union: analysis of their gene pools, phylogenetic relationships and genome organization // Sustainable forest genetic resources programmes in the Newly Independent States of the former USSR. Proceedings of a workshop, 23-26 September 1996, Belovezha, Belarus (Goncharenko G.G., Turok T., Gass T and Paule L., eds). Copublished by Arbora Publishers, Zvolen, Slovakia and International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. - 1998.
72. Goncharenko G., Potenko V., Zadeika I., Birgelis J. Isozyme structure of Norway spruce stands in Latvia// Norway spruce provenances and breeding. Proceedings of IUFRO (S2.2-11) Symposium, Latvia, 1993. - P.50-59.
73. Goncharenko G.G., Silin A.E., Padutov V.E. Allozyme variation in natural populations of Eurasian pines. III. Population structure, diversity, differentiation and gene flow in central and isolated populations of *Pinus sylvestris* L. in Eastern Europe and Siberia // Silvae Genetica. - 1994. - Vol. 43. - P.119-132.
74. Gregorius // Genetic effects of air pollutants in forest tree populations. Proceedings of the joint meeting of the IUFRO working parties (Grosshansdorf, August 3-7, 1987). - Springer-Varlag Berlin Heidelberg, 1989. - P. 163-172.
75. Grégorius H.-R. Genetischer Abstand zwischen Populationen. 1. Zur Konzeption der genetischen Abstandsmessung // Silvae Genetica. - 1974. - V.23. P.22-27.
76. Gullberg U., Rudin D., Yazdani R. Genetic differentiation between adjacent populations of *Pinus sylvestris* // Silva Fennica. - 1982. - Vol. 16. - P. 205-214.

77. Gullberg U., Yazdani R., Rudin D., Ryman N. Allozyme variation in Scots pine (*Pinus sylvestris L.*) in Sweden // *Silvae Genetica*. - 1985. - Vol. 34. - P. 193-201.
78. Hamrick J. L., Godt M.J.W., Sherman-Broyles S.L. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species // *New Forest*. - 1992. - № 6. - P. 95-124.
79. Hamrick J. L., Godt M.J.W., Sherman-Broyles S.L. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species // *New Forest*. - 1992. - № 6. - P. 95-124.
80. Hamrick J.L., Mitton J.B., Linhart Y.B. Levels of genetic variation in trees: the influence of life history characteristics // Proc. Symp. Isozymes of North Am. For. Trees and Insects (M.T.Conicle, tech. coord.). - USDA For. Serv. Gen. Tech. Rep. PSW-48. - 1981. - P. 35-41.
81. Heinze B. Biochemical and molecular genetic methods available for the characterization of *Populus nigra L.* In: Turok J., Lefevre F., de Vries S., Alba N., Heinze B., Van Slycken J., compilers. *Populus nigra Network (Report of 4th meeting, 3-5 October 1997, Geraardsbergen, Belgium)*. - IPGRI, Rome, Italy, 1998. - P. 42-70.
82. Hertel H., Zaspel I. Investigations on vitality and genetic structure in oak stands // *Ann. Sci. For.* - 1996. - V. 53. - P. 761-773.
83. Hyun J.O., Rajora O.P., Zsuffa L. Genetic variation in trembling aspen in Ontario based on isozyme studies // *Can. J. For. Res.* - 1987. - V. 17. - P. 1134-1138.
84. Iroshnikov A.I., Mamaev S.A., Nekrasov V.I. The genetical fund and forest timber species of the USSR // *Forest genetics, breeding and physiology of woody plants*. Proc. Int. Symp. M., 1989. - P. 11-21.
85. Kandemir I., Kence A. Allozyme variability in a central Anatolian honeybee (*Apis mellifera L.*) population // *Apidologie*. - 1995. - V. 26. - P. 503-510.
86. Kleinschmit J.R.G., Baciliéri R., Kremer A., Rolof A. Comparision of morphological and genetic traits of pendeculate oak (*Q. robur L.*) and sessile oak (*Q. petraea (Matt.) Liebl.*) // *Silvae Genetica*. - 1995. - V. 44. - P. 256-269.
87. Kremer A., Petit R., Zanetto A., Fougere V., Ducoussو A., Wagner D., Chauvin C. Nuclear and organelle gene diversity in *Quercus robur* and *Q. petraea* // *Genetic variation in European populations of forest trees (G. Müller-Starck and M.Ziehe (eds.))*. Frankfurt am Main: Sauerlander's Verlag, 1991. - P. 141-166.
88. Kremer A., Petit R.J. Gene diversity in natural populations of oak species // *Ann. Sci. For.* - 1993. - Vol. 50, Suppl. 1. - P. 186s-202s.
89. Krutowskii K.V., Bergmann F. Genetic variation of Norway and Siberian spruce species and their zone of introgressive hybridisation studied by isozyme loci // *Norway spruce provenances and breeding. Proceedings of IUFRO (S2.2-11) Symposium, Latvia, 1993*. - P. 93-99.

90. Ledig F.T., Conkle M.T. Gene diversity and genetic structure in a narrow endemic, Torrey pine (*Pinus torreyana*). *Evolution.* – 1983. – V. 37. – P. 79-85.
91. Legionnet A.P. Diversity and population biology of *Populus nigra* L.: relevant issues to the conservation of genetic resources. In: *Populus nigra Network* (Report of 3th meeting, 5-7 October 1996, Savar, Hungary). - IPGRI, Rome, Italy, 1997. – P. 53-58.
92. Legionnet A.P., Lefevre F. Genetic variation in riparian pioneer tree species *Populus nigra* L. I/ Study of population structure based on isozymes // *Heredity.* – 1996. – V. 77. – P. 629-637.
93. Legionnet A.P., Lefevre F. Genetic variation in riparian pioneer tree species *Populus nigra* L. I// Study of population structure based on isozymes // *Heredity.* – 1996. – V. 77. – P. 629-637.
94. Lester J.J., Selander R.K. Population genetics of haplodiploid insects // *Genetics.* - 1979. – V. 92. – P. 1329-1345.
95. Liu Z., Furnier G.R. Inheritance and linkage of allozymes and restriction fragment length polymorphisms in trembling aspen // *J. Heredity.* – 1993. - V. 84. – P. 419-424.
96. Lobo J.A., Del Lama M.A., Mestriner M.A. Population differentiation and racial admixture in the africanized honey bee (*Apis mellifera* L.) // *Evolution.* - 1989. - V. 43. – P. 794-802.
97. Lundkvist K. Allozyme frequency distributions in four Swedish populations of Norway spruce (*Picea abies* Karst.). 1. Estimation of genetic variation within and among populations, genetic linkage and mating system parameter // *Hereditas.* - 1979. - V.90. - P.127-143.
98. Lundkvist K., Rudin D. Genetic variation in eleven populations of *Picea abies* as determined by isozyme analysis// *Hereditas.* - 1977. - V.83. - P.767-774.,
99. Marshall D.R., Brown A.H.D. Optimum sampling strategies in genetic conservation // *Crop genetic resources for Today and Tomorrow* (O.H.Frankel, J.G.Hawkes, eds). – Cambridge University Press, Cambridge
100. Mattila A., Pakkanen A., Vakkari P., Raišio J. Genetic variation in english oak (*Quercus robur* L.) in Finland // *Silva Fenica.* - 1994. - V. 28. - P. 251-256.
101. Meixner M.D., Sheppard W.S., Dietz A. et al. Morphological and allozyme variability in honey bees from Kenya // *Apidologie.* - 1994. - V. 25. - P. 188-202.
102. Mestriner M.A. Biochemical polymorphisms in bees (*Apis mellifera ligustica*) // *Nature.* - 1969. - V. 223. - P. 188-189.
103. Metcalf R.A., Marlin J.C., Whitt G.S. Low levels of genetic heterozygosity in Hymenoptera // *Nature.* - 1975. - V. 257. - P. 792-794.
104. Millar C.I., Westfall R.D. Allozyme markers in forest genetic conservation // *New forests.* – 1992. – V.6. – P. 347-371.

105. Muller-Starck G. Protection of genetic variability in forest trees // Forest Genetics. - 1995. - № 2 (3). - P. 121-124.
106. Muller-Starck G., Herzog S., Hattemer H.H. Intra- and interpopulational genetic variation in juvenile populations of *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* Liebl. // Ann. Sci. For. - 1993. - V. 50, Suppl 1. - P. 233s-244s.
107. Muller-Starck G., Ziehe M. Genetic variation in populations of *Fagus sylvatica* L., *Quercus robur* L., and *Q. petraea* Liebl. in Germany// Genetic variation in European populations of forest trees (G. Muller-Starck and M.Ziehe (eds.)). Frankfurt am Main: Sauerländer's Verlag, 1991. - P. 125-140.
108. Nunamaker R.A., Wilson W.T. Some isozymes of the honeybee // Isozyme Bull. - 1980. - V. 13. - P. 111-112.
109. Nunamaker R.A., Wilson W.T., Haley B.E. Electrophoretic detection of Africanized honeybees (*Apis mellifera scutellata*) in Guatemala and Mexico based on malate dehydrogenase allozyme patterns // J. Kansas Entomol. Soc. - 1984. - V. 57. - P. 622-631.
110. Ornstein L. Disk electrophoresis. I. Background and theory // Ann. New York Acad. Sci. - 1964. - V. 121. - P. 321-349.
111. Payne R., Fairbrothers D. Disc electrophoretic study of pollen proteins from natural populations of *Betula populifolia* in New Jersey // Amer. J. Bot. - 1973. - V. 60. - P. 182-189.
112. Perry D.J., Knowles P. Allozyme variation in sugar maple at the northern limit of its range in Ontario, Canada // Canad. J. Forest Res. - 1989. - V. 19. - P. 509-514.
113. Podani J. SYN-TAX IV: Computer programs for data analysis in ecology and systematics on IBM-PC and Macintosh Computers. Trieste, 1990. - 145 pp.
114. Popovshchy I.I., Prokazin A.E. Reports on the progress of activities in countries. Russian Federation. In: Turok J., Lefevre F., de Vries S., Alba N., Heinze B., Van Slycken J., compilers. *Populus nigra* Network (Report of 4th meeting, 3-5 October 1997, Geraardsbergen, Belgium). - IPGRI, Rome, Italy, 1998. - P.17-19.
115. Prober S., Tompkins C., Moran G. and Bell J.C. The conservation genetics of *Eucalyptus paliformis* and *E. parvifolia*, two rare species from south-eastern Australia // Austr. J. Bot. - 1990. - V. 38. - P. 79-95.
116. Prus-Glowacki W., Stephan B.R. Genetic variation of *Pinus sylvestris* from Spain in relation to other European populations // Silvae Genetica. - 1994. - Vol. 43. - P. 7-14.
117. Prus-Glowacki W., Urbaniański L., Zubrowska-Gil M. Allozyme differentiation in some European populations of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) // Genetica Polonica. - 1993. - Vol. 34. - P. 159-176.
118. Reiseberg L.H. Saving California's rarest tree // Center for plant Conservation Newsletter. - 1988. - V. 3. - P. 1-8.

119. Richter T.S., Soltis P.S., Soltis D.E. Genetic variation within and among populations of the narrow endemic, *D. viridescens* (Ranunculaceae) // Am. J. Bot. - 1994. - V. 81. - P. 1070-1076.
120. Rusanen M., Matila A., Vakkari P. Jaloen lehtipuden geneettinen monimuotoisuus-sayliyta ja kayta // Metsant. Tied. - 1996. - 605. - P. 133-162.
121. Rusanen M. Norway maple (*Acer platanoides*) and sycamore (*Acer pseudoplatanus*) // Noble hardwoods network. Report of the second meeting, 22-25 March, 1997, Lourisan, Spain (Turok J., Collin E., Demesure B., Eriksson G., Kleinschmit J., Rusanen M. and Stephan R., compilers). Internat. Inst. Plant Genetic Resources, Rome, Italy. - 1998. - P. 40-43.
122. Ruttner F. Biogeography and taxonomy of honeybees. Berlin etc., Springer-Verlag. - 1988.
123. Ruttner F. Biogeography and taxonomy of honeybees. Berlin etc., Springer-Verlag. - 1988.
124. Samuel R., Pinsker W., Ehrendorf F. Electrophoretic analysis of genetic variation within and between populations of *Quercus cerris*, *Q. pubescens*, *Q. petraea* and *Q. robur* (Fagaceae) from eastern Austria // Bot. Acta. - 1995. - V. 108. - P. 290-299.
125. Schnabel A., Hamrick J.L. Comparative analysis of population genetic structure in *Quercus macrocarpa* and *Q. gumbelii* // Syst. Bot. - 1990. - V. 15. - P. 240-251.
126. Shaffer M.L. Minimum population sizes for species conservation // Bioscience. - 1981. - V. 31. - P. 131-134.
127. Sheppard W. S., Berlocher S. H. New allozyme variability in Italian honey bees // J. of Hered. - 1985. - V. 76. - P. 45-48.
128. Sheppard W.S. Comparative study of enzyme polymorphism in United States and European honey bee (Hymenoptera: Apidae) populations // Ann. Entomol. Soc. Am. - 1988. - V. 81. - P. 886-889.
129. Sheppard W.S., Berlocher S. H. Enzyme polymorphism in *Apis mellifera* from Norway // J. of Apic. Res. - 1984. - V. 23. - P. 64-69.
130. Sheppard W.S., McPheron B.A. Genetic variation in honey bees from an area of racial hybridization in Western Czechoslovakia // Apidologie. - 1986. - V. 17. - P. 21-32.
131. Simon J.P., Payette Y., Longpre M.H. Comparative analysis of the genetic composition of canopy and juvenile sugar maple individuals (*Acer saccharum*) in an old-growth forest in southern Quebec as related to anthropogenic disturbance // Canad. J. Forest Res. - 1995. - V. 25. - P. 743-752.
132. Smith D.R., Brown W.M. Polymorphisms in mitochondrial DNA of European and Africanized honeybees (*Apis mellifera*) // Experientia. 1988. V.44. P.257-260.
133. Soule M.E., (Ed.). Viable populations for conservation. Cambridge Univ. Press, Cambridge. - 1987.

134. Sylvester H.A. Biochemical genetics // Bee Genetics and Breeding (T. Rinderer, ed), Academic Press, Orlando, FL, 1986. – P. 177-203.
135. Sylvester H.A. Allozyme variation in honeybees (*Apis mellifera L.*) // University of California. Davis, USA1 (PhD Thesis). – 1976.
136. Tigerstedt P.M.A. Genetic structure of *Picea abies* as determined by the isozyme approach// Proceedings of the IUFRO joint meeting on working parties on population and ecological genetics, Stockholm. – 1973. - P.282-292.
137. Turok J., Collin E., Demesure B. et al., compilers. Noble hardwoods network // Report of the second meeting (22-25 March 1997, Lourizan, Spain). IPGRI, Rome, Italy. - 1998. - V. 22. – P. 643-654.
138. Wang T.L. Allozyme variation in populations, full-sib families and selfed lines in *Betula pendula* Roth. // Theoret. Appl. Genet. - 1996. - V. 92. P. 1052-1058.
139. Wright S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating // Evolution. 1965. V. 19. P. 395-422.
140. Yeh F.C., Khalil M.A.K., El-Kassaby Y.A., D.C.Trust. Allozyme variation in *Picea mariana* from Newfoundland: genetic diversity, population structure, and analysis of differentiation//Can. J. For. Res. - 1986. - V.16. - P.713-720.
141. Young A.G., Warwick S.I., Merriam H.G. Genetic variation and structure at three spatial scales for *Acer saccharum* (Sugar maple) in Canada and the implications for conservation // Can.J.For.Res. - 1993. - V. 23. – P. 2568-2578.
142. Young A.G., Merriam H.G., Warwick S.I. The effects of forest fragmentation on genetic variation in *Acer saccharum* Marsh. (sugar maple) populations // Heredity. – 1993. – V. 71. - P. 277-289.
143. Zanetto A., Roussel G., Kremer A. Geographic variation of inter-specific differentiation between *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. // Forest Genetics. - 1994. – V. 1. - P. 111-123.

Научное издание

**ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СОХРАНЕНИЯ
БИОЛОГИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ**

Подготовил: Янбаев Юлай Агиямович

Редактор: Якупов Р.Ф.
Корректор: Бикбова А.М.
Компьютерная верстка: Сабангулова Ф.М.

*Лицензия на издательскую деятельность
ЛР № 021319 от 05.01.99г.*

Подписано в печать 09.12.2000 г. Формат 60x84 1/16.

Бумага типографская № 1. Компьютерный набор.

Отпечатано на ризографе. Уч-изд. л. 6,75.

Тираж 300 экз. Заказ № 215

Редакционно-издательский центр
Башкирского государственного университета
Печатно-множительный участок Сибайского института БашГУ
Республика Башкортостан, г. Сибай, ул. Маяковского, 5