

## БИОТЕХНОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА РАСТЕНИЙ BIOTECHNOLOGY AND PLANT GENETICS

УДК 581.4.46 (571.51)

И.Е. Ямских<sup>1</sup>  
М.Г. Куцев<sup>2</sup>I.E. Yamskikh  
M.G. Kutsev

### ПОЛИМОРФИЗМ ПОПУЛЯЦИЙ *ANEMONE BAIKALENSIS* TURCZ. EX LEDEB. НА ОСНОВЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ДАННЫХ И RAF-PCR АНАЛИЗА

### POLYMORPHISM OF *ANEMONE BAIKALENSIS* TURCZ. EX LEDEB. POPULATIONS BASED ON MORPHOLOGICAL DATA AND RAF-PCR ANALYSIS

**Аннотация.** Изучен полиморфизм 9 популяций *Anemone baikalensis* Turcz. ex Ledeb., произрастающих в естественных и нарушенных местообитаниях в черневых лесах Западного Саяна и Хамар-Дабана. Выявлено, что высокий уровень модификационной изменчивости наблюдается у популяций, произрастающих на вырубках черневых лесов различного возраста. Уровень генетической изменчивости, напротив, высок в западно-саянских популяциях, произрастающих в коренных типах леса, что говорит об их ценности для сохранения генетического разнообразия вида. Полученные результаты не позволяют сделать заключение о генетической обособленности саянских и байкальских популяций ветреницы байкальской.

**Ключевые слова:** *Anemone baikalensis*, неморальный реликт, черневая тайга, морфологический анализ, генетическая структура, RAF-PCR.

**Summary.** The polymorphism of 9 populations of *Anemone baikalensis* from natural and disturbed habitats of taiga in West Sayan and Khamar-Daban (South Baikal region) has been studied. It was revealed that high level of modification is observed in the populations from taiga cutover patches of different age.

Contrary, the level of hereditary variation is higher in South Sayan populations from the natural types of forest which are thus especially valuable for the species genetic variability conservation. The study did not reveal genetic separation between Sayan and Baikal populations of *Anemone baikalensis*.

**Key words:** *Anemone baikalensis*, nemoral relic, morphological analysis, genetic structure, taiga, RAF-PCR.

*Anemone baikalensis* Turcz. ex Ledeb. — неморальный реликт, саяно-байкальский эндемик, занесенный в «Красную книгу Российской Федерации» (2008). Данный вид принадлежит к семейству Ranunculaceae и представляет собой короткокорневищное многолетнее растение, размножающееся преимущественно вегетативным способом. Ветреница байкальская имеет узкий и разорванный ареал. Известны два изолированных местонахождения: одно из них находится на южном берегу оз. Байкал, другое – на юге Красноярского края в горах Западного Саяна (Биологические ..., 1986; Глызин, 1989). Ветреница байкальская является характерным элементом черневых лесов, часто доминирует в травяни-

стом ярусе. В последние годы черневые леса интенсивно вырубаются, что и представляет угрозу для исчезновения вида.

Исследования проводились в северо-восточной части Западного Саяна (Красноярский край, Ермаковский район, окрестности селений Танзыбей, Григорьевка) и на юго-восточном побережье оз. Байкал (окр. пос. Танхой, пос. Выдрино). Объектом исследований служили 7 западно-саянских популяций, произрастающие в естественных местообитаниях и на вырубках различного возраста, а также 2 байкальские популяции ветреницы байкальской. Цель исследований – оценка модификационной и генетической изменчивости популяций реликта.

<sup>1</sup>Сибирский федеральный университет, пр. Свободный, 79; 660041, Красноярск, Россия; e-mail: iyamskikh@mail.ru

<sup>2</sup>Алтайский государственный университет, пр-т Ленина, 61; 656049, Барнаул, Россия

<sup>1</sup>Sibirian Federal University, Svobodny ave., 79; 660041, Krasnoyarsk, Russia

<sup>2</sup>Altai State University, Lenina str., 61; 656049, Barnaul, Russia

### Материалы и методы.

На первом этапе исследований изучали фитоценотическую приуроченность ветреницы байкальской. По общепринятым методикам (Воронов, 1973) произведено геоботаническое описание свыше 80 местообитаний вида. При оценке состояния популяций определяли проективное покрытие, оценивали изменчивость вегетативных и генеративных признаков, изучали генетическую вариабельность на основе RAF-PCR анализа. Геоботаническая характеристика местообитаний изучаемого вида приведена в таблице 1.

В оценку изменчивости морфологических признаков включены размеры вегетативных органов растения, приводимые в качестве диагностических для определения вида во «Флоре СССР» (Юзепчук, 1937) и «Флоре Средней Сибири» (Попов, 1957), а также ряд некоторых относительных параметров: длина черешка прикорневого листа (X1); длина стебля (X2); средняя длина цветоноса (X3); ширина обертки из стеблевых листьев (X4); длина обертки (X5); отношение X4/X5 (X6); число цветоносов на одном растении (X7); средний диаметр цветка (X8); ширина прикорневого листа (X9); длина прикорневого листа (X10); отношение X9/X10 (X11); глубина выреза центрального сегмента прикорневого листа (X12); длина центрального сегмента (X13); отношение X12/X13 (X14); глубина выреза бокового сегмента прикорневого листа (X15); длина бокового сегмента (X16); отношение X15/X16 (X17); число зубчиков на центральном сегменте (X18).

Показатели семенной продуктивности ветреницы байкальской определяли по методикам Т.А. Работнова (1950) и Г.П. Дюрягиной, М.М. Ивановой (1985). Замеряли следующие параметры: количество завязавшихся семян на соплодии (с1), реальная семенная продуктивность (количество семян на генеративный побег) (с2), потенциальная семенная продуктивность (количество семян на генеративный побег) (с3), коэффициент семенификации (с4). Измерения проводили на 30 генеративных особях, отобранных в популяциях методом случайных выборок (Шмидт, 1984). Учетной единицей служил парциальный побег. Расстояние между исследованными растениями было не менее 3 м.

При математической обработке данных рассчитывали пределы варьирования признака (min-max), среднее арифметическое ( $\bar{X}$ ) и его ошибку ( $m_x$ ), среднее квадратичное отклонение ( $\sigma$ ), коэффициент вариации ( $C_v$ ). Характер

распределения значений признаков ветреницы байкальской оценивали с помощью коэффициентов асимметрии и эксцесса. Выявлено, что для изучаемых нами параметров характерно распределение, близкое к нормальному. Внутрипопуляционную изменчивость признаков оценивали с помощью коэффициента вариации ( $C_v$ ), поскольку данный параметр позволяет сравнивать признаки, имеющие различные размерности (Шмидт, 1984). Кроме того, для коэффициента вариации С.А. Мамаевым (1972) разработана шкала уровней изменчивости. Для установления достоверных различий между среднепопуляционными значениями одноименных признаков использовали однофакторный дисперсионный анализ. Различие считалось достоверным при уровне значимости  $p < 0,05$ . Анализ сходства популяций по исследуемым признакам проводили с помощью кластерного анализа. В качестве меры сходства использовалось Евклидово расстояние.

Генетическую вариабельность 6 изучаемых популяций вида выявляли с помощью RAF-PCR метода (Randomly Amplified DNA Fingerprinting). Из каждой популяции было проанализировано 10 растений, заведомо не являющихся клонами. Для сравнения использован материал 4 особей близкородственного для ветреницы байкальской вида – *A. glabrata* (окр. г. Владивосток). Выделение ДНК производили из 15–25 мг сухой растительной ткани с помощью набора Axy-Prep Multisource Genomic DNA (AxyGen, США). RAF-PCR проводили в 12,5 мкл смеси (7,4 мкл H<sub>2</sub>O; 1 мкл ДНК; 1,25 мкл 10X-буфера; 1,25 мкл 25 mM MgCl<sub>2</sub>; 1 мкл 10 mM праймера; 0,5 мкл 20 mM dNTPs; 0.1 мкл Taq-полимеразы) на амплификаторе MyCycler BioRad с использованием реактивов производства ООО «Медиген» и ООО «СибЭнзим». Амплификацию проводили по следующей программе: 94 °C – 5 мин., 35 циклов: 94 °C – 30 сек., 57 °C – 1 мин., 56 °C – 1 мин., 55 °C – 1 мин., 54 °C – 1 мин., 53 °C – 1 мин.; завершающая стадия: 72 °C – 10 мин., охлаждение при 4 °C. Предварительно на 2 образцах ДНК из имеющегося набора праймеров (Waldron et al., 2002) опытным путем был выявлен праймер RAF K-02d (5'-GTCTCCGCCA-3'), который дал воспроизводимый полиморфный результат. После этого ПЦР проводили со всеми образцами. Анализ продуктов амплификации осуществлялся с помощью прибора Experion™ Automated Electrophoresis Station (Bio-Rad, США).

Результаты вносили в бинарную матрицу для дальнейшей статистической обработки.

Было проанализировано 55 признаков, каждый из которых оказался в различной степени полиморфным. Статистическую обработку результатов анализа проводили с помощью пакета программ TFGA version 1.3 (Miller, 1997) (UPGMA-анализ, бутстреп-тест и расчет генетических дистанций) и Popgene version 1.32 (расчет уровня генетического разнообразия (по индексу Шеннона) и показателя подразделенности популяций Fst).

#### Результаты и их обсуждение.

При оценке фитоценотической приуроченности ветреницы байкальской выявлено, что в северо-восточной части Западного Саяна она распространена в основном в пределах черневого пояса в осиновых, пихтовых, кедровых, а также березовых лесах крупнотравно-широкотравной, папоротниковой, ширококравно-папоротниковой групп. Отмечено также проникновение *A. baikalensis* в горно-таежный пояс, а в некоторых случаях вид может доходить до верхней границы леса, произрастая под пологом редкостойных

пихтарников. Изредка встречается в подтаежных березовых и смешанных, с участием сосны, лесах. Сопутствующими видами ветреницы байкальской являются *Aconitum septentrionale* Koelle, *Angelica sylvestris* L., *Geranium krylovii* Tzvel., *Athyrium monomachii* (Kom.) Kom., *Stellaria bungeana* Fenzl. В коренных растительных сообществах *A. baikalensis*, как правило, играет роль доминанта или содоминанта, а в производных – содоминанта или ассектатора.

Наибольшее проективное покрытие ветреницы байкальской зафиксировано в коренных осиновых и пихтовых черневых лесах крупнотравно-широкотравной и папоротниково-широкотравной групп (популяции Ab1, Ab4, Ab6) и составляет 75–80 % (см. табл. 1). На антропогенно нарушенных территориях проективное покрытие *A. baikalensis* варьирует от 10 до 50 %. На сплошных вырубках (Ab2) уже в первые годы отмечается резкое снижение обилия ветреницы (до 40 %), быстро реагирующей на изменение светового режима. При отсутствии

Таблица 1

Геоботаническая характеристика местообитаний *Anemone baikalensis*

Ценопопуляция	Сообщество	Состав древостоя, сомкнутость крон	Доминирующие виды травяно-кустарничкового яруса (в скобках – проективное покрытие, %)
<i>Западный Саян</i>			
Ab1	Осинник крупнотравно-широкотравный (хр. Веховой)	10Ос+Б, 0,6–0,7	<i>Anemone baikalensis</i> (80), <i>Brunnera sibirica</i> (60), <i>Heracleum dissectum</i> (15)
Ab2	2-летняя вырубка осинника крупнотравно-широкотравного	–	<i>Anemone baikalensis</i> (40), <i>Brunnera sibirica</i> (60), <i>Matteuccia sthrutiopteris</i> (40), <i>Calamagrostis langsdorffii</i> (15)
Ab3	14-летняя вырубка осинника крупнотравно-широкотравного	10Ос 0,7	<i>Anemone baikalensis</i> (50), <i>Matteuccia sthrutiopteris</i> (40), <i>Brunnera sibirica</i> (40)
Ab4	Пихтарник крупнотравно-папоротниково-широкотравный (дол. р. 2-я Белая)	9П1К, 0,6–0,7	<i>Anemone baikalensis</i> (80), <i>Brunnera sibirica</i> (15), <i>Athyrium monomachii</i> (15)
Ab5	11-летняя вырубка пихтарника крупнотравно-папоротниково-широкотравного	–	<i>Anemone baikalensis</i> (10), <i>Calamagrostis langsdorffii</i> (80), <i>Brunnera sibirica</i> (50), <i>Athyrium monomachii</i> (15)
Ab6	Пихтарник щитовниково-ветреницевый (дол. р. Чебижек)	9П1К, 0,7–0,8	<i>Anemone baikalensis</i> (75), <i>Dryopteris expansa</i> (30)
Ab7	22-летняя сплошная вырубка пихтарника	–	<i>Anemone baikalensis</i> (20), <i>Dryopteris expansa</i> (12), <i>Calamagrostis langsdorffii</i> (35)
<i>Юго-восточное побережье оз. Байкал</i>			
Ab8	Елово-пихтово-кедровый лес разнотравно-ветреницевый (дол. р. Снежная)	5К3П2Е+Б 0,8	<i>Anemone baikalensis</i> (30), <i>Anemonoides altaica</i> (20), <i>Waldsteinia ternata</i> (10)
Ab9	Пихтово-кедровый лес ветреницевый (дол. р. Осиновка, окр. пос. Танхой)	5К4П1Б 0,7	<i>Anemone baikalensis</i> (80), <i>Dryopteris expansa</i> (18)

возобновления древостоя и господстве в травяно-кустарничковом ярусе вейников (*Calamagrostis obtusata* Trin., *Calamagrostis langsdorffii* (Link) Trin.) наблюдается дальнейшее снижение проективного покрытия вида до 10–20 %.

На юго-восточном побережье оз. Байкал ветреница байкальская произрастает преимущественно в смешанных, с преобладанием пихты и кедра, лесах широколиственной, папоротниковой, вальдштейниевой групп. Проективное покрытие варьирует от 30 до 80 %.

Анализ результатов исследования внутривнутрипопуляционной изменчивости *A. baikalensis* показал, что большинство изученных нами признаков характеризуются средним и высоким уровнями изменчивости согласно шкале С.А. Мамаева (1972). К таким признакам относятся размеры листьев и их сегментов, осевых органов, меристические параметры (количество прикорневых листьев, цветков). Высокие и очень высокие значения коэффициентов вариации отмечены для показателей семенной продуктивности вида (рис. 1, табл. 2).

Для особей, произрастающих в нарушенных местообитаниях, отмечается увеличение уровня внутривнутрипопуляционной изменчивости уже в первые годы после вырубок (табл. 2, рис. 1).

Например, в популяции Ab2 коэффициент вариации длины стебля по сравнению с контролем (Ab1) возрастает с 7,5 до 32,22 %, а среднее квадратичное отклонение – с 2,37 до 7,01. Максимальные значения коэффициентов вариации зафиксированы для вырубок старшего возраста (популяции Ab5, Ab7). Рост уровня внутривнутрипопуляционной изменчивости в нарушенных местообитаниях, видимо, связан не только с изменением уровня освещенности и увлажнения, но и с неоднородным распределением травянистой растительности по территории вырубок. Вет-

реница байкальская, встречающаяся в нижнем подъярусе под иван-чаем и крупными папоротниками, имеет более крупные размеры по сравнению с растениями открытых участков.

Измерение вегетативных органов *A. baikalensis* из различных популяций показало, что наибольшие размеры характерны для растений из пихтарника щитовниково-ветреницевого (Ab6) и осинника крупнотравно-широколиственного (Ab1) (табл. 2). Здесь же условия наиболее благоприятны для семенного размножения вида, о чем свидетельствуют высокие значения потенциальной и реальной семенной продуктивности, а также коэффициента семенификации. В таблице 2 приведены результаты статистической обработки данных по четырем признакам, характеризующим развитие вегетативных органов и семенную продуктивность вида.

Для особей ветреницы, произрастающих в нарушенных местообитаниях, характерно уменьшение размеров стеблевых и прикорневого листьев, длины сегментов и осевых органов, а также снижение показателей семенной продуктивности. Примером может служить популяция Ab7, произрастающая на 22-летней вырубке пихтарника щитовниково-ветреницевого, где, по сравнению с контролем (Ab6), ширина и длина прикорневого листа уменьшаются с 17,2 до 10 см и с 13,6 до 7,9 см, соответственно, а коэффициент семенификации – с 54,4 до 23,3 % (табл. 2). Популяция Ab3, произрастающая на 14-летней вырубке осинника, где активно идет возобновление древостоя, меньше отличается по показателям внутри- и межпопуляционной изменчивости от контроля.

Далее был проведен кластерный анализ сходства изученных популяций по 17 исследуемым морфологическим признакам (x1–x7, x9–x18). На дендрограмме (см. рис. 2) четко

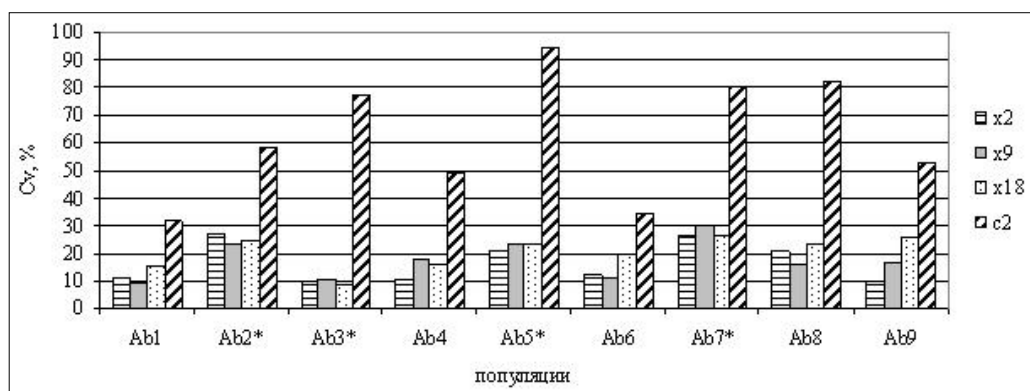


Рис. 1. Внутривнутрипопуляционная модификационная изменчивость некоторых признаков *Anemone baikalensis*: x2 – длина стебля; x9 – ширина прикорневого листа; x18 – число зубчиков на центральном сегменте прикорневого листа; c2 – реальная семенная продуктивность.

Таблица 2

Изменчивость морфологических признаков и показателей продуктивности *Anemone baikalensis* в естественных местообитаниях и на вырубках

№	min	max	X	m <sub>x</sub>	σ	Cv, %	P								
							2	3	4	5	6	7	8	9	
Длина черешка прикорневого листа, см (x1)															
Ab1	26,60	37,20	31,55	0,43	2,37	7,50	0,000	0,069	0,001	0,000	0,829	0,000	0,145	0,257	
Ab2*	7,00	38,60	21,75	1,28	7,01	32,22		0,000	0,000	0,202	0,000	0,366	0,000	0,000	
Ab3*	27,00	38,50	33,77	0,56	3,08	9,11			0,000	0,000	0,108	0,000	0,001	0,003	
Ab4	20,50	32,00	27,64	0,48	2,65	9,59				0,000	0,001	0,000	0,081	0,039	
Ab5*	15,50	33,60	23,30	0,96	5,27	22,62					0,000	0,030	0,000	0,000	
Ab6	25,50	40,10	31,81	0,66	3,60	11,33						0,000	0,095	0,177	
Ab7*	10,20	30,40	20,64	0,95	5,18	25,10							0,000	0,000	
Ab8	11,00	41,90	29,77	1,20	6,59	22,14								0,747	
Ab9	19,80	37,50	30,16	0,77	4,21	13,96									
Длина прикорневого листа, см (x10)															
Ab1	10,70	16,00	13,14	0,24	1,31	9,99	0,000	0,001	0,000	0,000	0,392	0,000	0,000	0,000	
Ab2*	5,60	13,00	8,12	0,34	1,86	22,86		0,000	0,001	0,031	0,000	0,664	0,115	0,020	
Ab3*	9,30	13,80	11,49	0,21	1,16	10,07			0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
Ab4	6,80	15,10	9,82	0,37	2,01	20,51				0,177	0,000	0,000	0,053	0,241	
Ab5*	7,20	14,30	10,04	0,26	1,41	13,99					0,000	0,010	0,558	0,858	
Ab6	10,10	18,20	13,55	0,28	1,56	11,50						0,000	0,000	0,000	
Ab7*	4,00	13,30	7,91	0,43	2,36	29,78							0,045	0,006	
Ab8	6,00	12,60	8,88	0,28	1,51	16,98								0,444	
Ab9	1,70	12,90	9,25	0,40	2,20	23,76									
Число зубчиков на центральном сегменте прикорневого листа, шт. (x18)															
Ab1	32,00	55,00	41,03	1,13	6,17	15,04	0,000	0,580	0,000	0,000	0,137	0,000	0,000	0,000	
Ab2*	17,00	41,00	26,73	1,21	6,64	24,83		0,000	0,000	0,001	0,000	0,007	0,021	0,277	
Ab3*	34,00	54,00	42,00	0,66	3,63	8,64			0,000	0,000	0,042	0,000	0,000	0,000	
Ab4	23,00	41,00	33,40	0,95	5,20	15,58				0,606	0,004	0,269	0,132	0,007	
Ab5*	20,00	44,00	32,50	1,37	7,50	23,06					0,001	0,554	0,321	0,027	
Ab6	27,00	71,00	38,43	1,39	7,60	19,78						0,000	0,000	0,000	
Ab7*	16,00	49,00	31,47	1,52	8,34	26,51							0,688	0,105	
Ab8	17,00	40,00	30,77	1,30	7,14	23,20								0,222	
Ab9	16,00	38,00	28,63	1,34	7,32	25,56									
Реальная семенная продуктивность, шт. (c2)															
Ab1	3,00	10,00	5,40	0,32	1,73	32,11	0,160	0,334	0,000	0,208	0,000	0,121	0,364	0,000	
Ab2*	0,00	8,00	3,80	0,41	2,22	58,40		0,660	0,000	0,008	0,000	0,884	0,021	0,000	
Ab3*	0,00	11,00	4,30	0,61	3,33	77,53			0,000	0,027	0,000	0,558	0,062	0,000	
Ab4	3,00	27,00	10,40	0,94	5,12	49,26				0,002	0,001	0,000	0,001	0,578	
Ab5*	4,00	20,00	11,33	0,72	3,96	34,94					0,000	0,005	0,725	0,010	
Ab6	4,00	24,00	14,20	0,90	4,92	34,62						0,000	0,000	0,000	
Ab7*	0,00	12,00	3,63	0,53	2,92	80,32							0,014	0,000	
Ab8	0,00	22,00	6,43	0,96	5,27	81,91								0,004	
Ab9	1,00	19,00	9,77	0,94	5,16	52,81									
Коэффициент семенификации, % (c4)															
Ab1	23,08	83,33	47,64	2,56	14,00	29,39	0,000	0,000	0,885	0,002	0,117	0,000	0,000	0,144	
Ab2*	0,00	50,00	18,58	2,19	12,01	64,64		0,557	0,000	0,000	0,000	0,275	0,093	0,000	
Ab3*	0,00	61,11	21,10	2,71	14,82	70,27			0,000	0,002	0,000	0,613	0,273	0,000	
Ab4	15,15	78,57	47,02	2,70	14,81	31,49				0,003	0,087	0,000	0,000	0,188	
Ab5*	26,32	83,33	53,17	2,48	13,58	25,55					0,000	0,010	0,046	0,102	
Ab6	28,57	80,77	54,36	2,12	11,59	21,32						0,000	0,000	0,003	
Ab7*	0,00	50,00	23,26	2,86	15,66	67,31							0,554	0,000	
Ab8	0,00	69,23	25,79	3,56	19,50	75,62								0,000	
Ab9	9,09	90,00	41,38	3,87	21,18	51,19									

**Примечание:** min, max – пределы варьирования признака; X – средняя арифметическая; m<sub>x</sub> – ошибка средней арифметической; σ – среднее квадратичное отклонение; Cv – коэффициент вариации; p – уровень значимости (различие между признаками достоверно при p < 0,05); \* – популяции, произрастающие на вырубках.

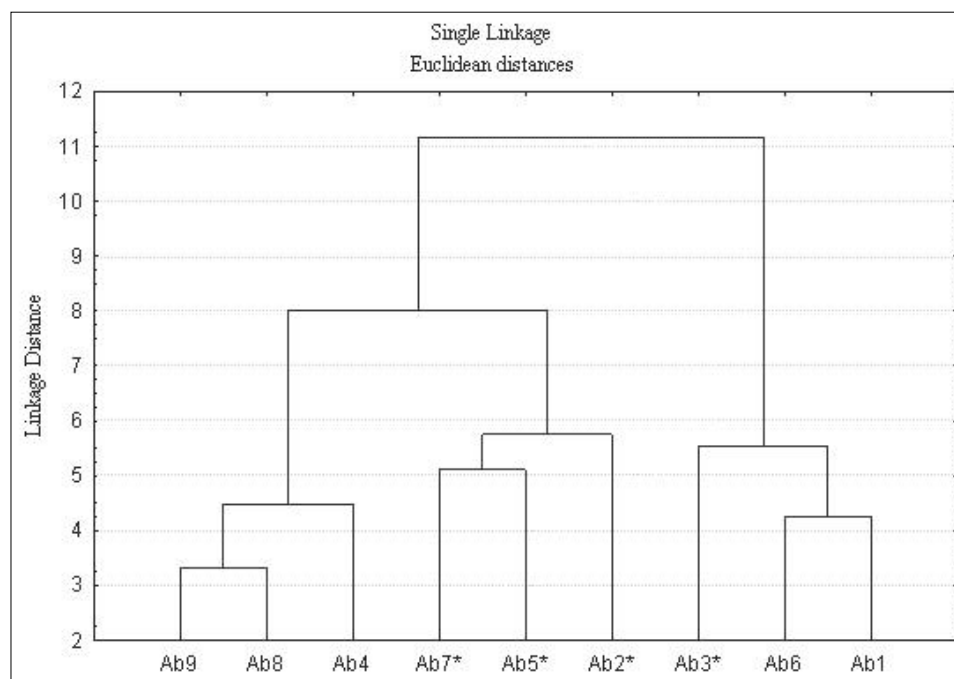


Рис. 2. Дендрограмма сходства популяций *Anemone baikalensis* на основе морфологических данных.

прослеживается разделение совокупности популяций на 3 кластера. В первый кластер объединились байкальские популяции ветреницы (Ab8, Ab9), а также западно-сянская популяция Ab4, произрастающая в пихтарнике крупнотравно-широкотравно-папоротниковом. Особи данных популяций характеризуются средними размерами вегетативных органов. Второй кластер объединяет популяции, произрастающие на сплошных вырубках осиновых и пихтовых лесов различного возраста (Ab2, Ab5, Ab7). В тре-

тий кластер вошли популяции, произрастающие в коренных осиновых и пихтовых лесах (Ab1, Ab6), особи которых характеризуются крупными размерами вегетативных органов. Тесное сходство с ними имеет популяция Ab3, произрастающая в молодом осиннике, возникшем на месте 14-летней вырубки и мало отличающаяся по изучаемым признакам от контроля.

RAF-PCR анализом выявлено 55 локусов (рис. 3), процент полиморфизма которых суммарно составляет 98,18 %, а генетическая из-

Таблица 3

Внутрипопуляционная генетическая изменчивость *Anemone baikalensis*

Популяции	Число полиморфных локусов	Процент полиморфных локусов	*I, Генетическая изменчивость (по индексу Шеннона)	Стандартное отклонение *I
Ab1	37	67,27	0,34	0,27
Ab4	37	67,27	0,36	0,27
Ab6	38	69,09	0,38	0,27
Ab7	28	50,91	0,26	0,28
Ab8	26	47,27	0,29	0,32
Ab9	33	60	0,32	0,28
Ag	36	65,45	0,39	0,29
Все популяции	54	98,18	0,47	0,22

Таблица 4

Степень генетической дифференциации популяций (Fst)

Популяции	Ab1	Ab4	Ab6	Ab7	Ab8	Ab9
Ab4	0,2006	****				
Ab6	0,1481	0,1551	****			
Ab7	0,2250	0,2215	0,1725	****		
Ab8	0,1999	0,1876	0,1761	0,1761	****	
Ab9	0,2180	0,2151	0,1741	0,2246	0,1157	****
Ag	0,2510	0,2627	0,2129	0,2203	0,2573	0,2396

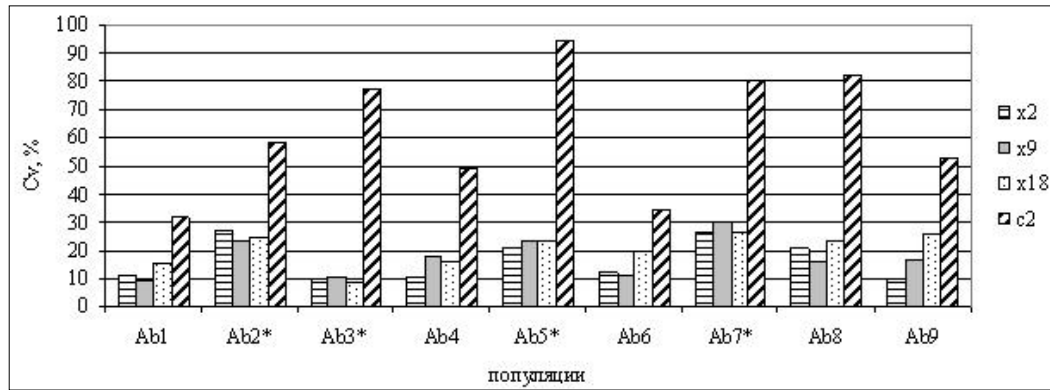


Рис. 3. Результат амплификации ДНК *Anemone baikalensis* (Ab1-Ab9) и *A. glabrata* (Ag) с праймером RAF K-02d: М – маркер молекулярного веса.

менчивость  $I=0,47$  (см. табл. 3). Размер фрагментов варьирует от 60 до 10380 тпн. Уровень выявляемого внутрипопуляционного генетического полиморфизма в целом достаточно высок (47,27–69,09 %). Максимальные значения внутрипопуляционной генетической изменчивости отмечены для западносибирских популяций *A. baikalensis*, произрастающих в коренных типах леса (Ab1, Ab4, Ab6). Наибольшее количество выявленных амплифицированных фрагментов ДНК и количество редких молекулярных маркеров говорит о высокой ценности данных популяций для сохранения генетического разнообразия вида (Боронникова и др., 2009).

Дендрограмма сходства популяций на основе RAF-анализа в общих чертах отражает географические принципы кластеризации (см. рис. 4). Значение  $F_{st}$  минимально между байкальскими популяциями (Ab8 и Ab9) и саянскими популяциями, произрастающими в коренных осиновых и пихтовых лесах (Ab1, Ab4 и Ab6) (см. табл. 4). Этот результат подтверждается и данными морфологического анализа (см. рис. 2). Исключение составляет обособленно располо-

женная популяция Ab7, произрастающая на вырубке под ЛЭП, удаленная от остальных кластеров, в том числе и от популяции Ab6, произрастающей в непосредственной близости от нее. Для данной популяции характерен высокий уровень модификационной изменчивости и относительно низкий уровень генетического разнообразия. Растения данной популяции имеют сходство как с западносибирскими, так и с байкальскими популяциями ветреницы. Особи *A. glabrata* (популяция Ag) занимают обособленное положение на дендрограмме, однако небольшой объем исследованной выборки не позволяет сделать выводы об их принадлежности к другому виду.

#### Заключение.

Проведенный анализ полиморфизма популяций *A. baikalensis* показал, что высокий уровень внутрипопуляционной изменчивости морфологических параметров отмечается для особей, произрастающих на сплошных вырубках пихтовых и осиновых лесов крупнотравно-широкотравной и папоротниково-широкотравной групп. Кроме того, в данных местообитаниях происходит снижение проективного покрытия особей вида, уменьшение параметров вегетативных органов и показателей семенной продуктивности. Особи популяций, произрастающие в коренных черневых осиновых и пихтовых лесах, напротив, характеризуются высокими показателями жизненности.

Максимальные значения внутрипопуляционной генетической изменчивости *A. baikalensis* отмечены для западносибирских популяций, произрастающих в коренных типах леса (Ab1, Ab4, Ab6), что говорит об их высокой ценности для сохранения генетического разнообразия вида. Напротив, популяция, произрастающая на 22-летней вырубке пихтарника, характеризуется снижением уровня генетической изменчивости,

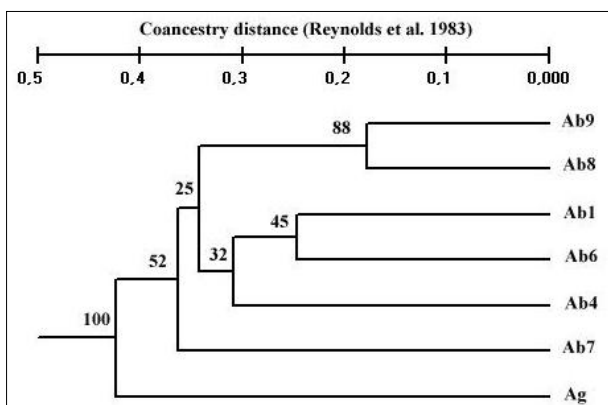


Рис. 4. Дендрограмма сходства популяций *Anemone baikalensis* и *A. glabrata* на основе RAF-PCR анализа.

что может привести к снижению приспособительных возможностей особей вида и дальнейшему выпадению их из состава нарушенных сообществ. Анализ результатов генетической подразделенности саянских и байкальских популяций ветреницы байкальской (*Fst*) не позволяет

сделать заключение об их генетической обособленности.

Работа выполнена при поддержке Федеральной целевой программы (Госконтракт № 16.740.11.0484)

#### ЛИТЕРАТУРА

- Боронникова С.В., Тихомирова Н.Н., Кравченко О.А.** Характеристика генофондов редкого лекарственного вида *Adonis vernalis* L. с использованием ISSR-маркеров // Аграрный вестник Урала, 2009. – № 5. – С. 67–70.
- Воронов А.Г.** Геоботаника. – М.: Высш. шк., 1973. – 384 с.
- Глызин А.В.** Состояние ценопопуляций ветреницы байкальской (*Anemone baikalensis*) в растительных сообществах юго-восточного Прибайкалья // Климат и растительность Южного Прибайкалья. – Новосибирск, 1989. – С. 122–130.
- Биологические особенности растений нуждающихся в охране / Под ред. К.А. Соболевской. – Новосибирск.: Изд-во АН СССР, 1986. – 254 с.
- Дюрягина Г.П., Иванова М.М.** Характеристика ценопопуляций редких видов флоры Бурятии // Бот. журн., 1985. – Т. 70, № 11. – С. 1529–1538.
- Красная книга Российской Федерации (растения и грибы) / Гл. ред.: Ю.П. Трутнев и др.; сост. Р.В. Камелин и др. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2008. – 855 с.
- Мамаев С.А.** Формы внутривидовой изменчивости древесных растений. – М.: Наука, 1972. – 284 с.
- Попов М.Г.** Флора Средней Сибири. – М.-Л.: Изд-во СО АН СССР, 1957. – Т. 1. – 558 с.
- Работнов Т.А.** Жизненный цикл многолетних травянистых растений в луговых ценозах // Геоботаника. – М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1950. – Т. 4. – С. 70–204.
- Шмидт В.М.** Математические методы в ботанике. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1984. – 288 с.
- Юзенчук С.В.** Род *Anemone* L. // Флора СССР. – М.-Л., 1937. – Т. 7. – С. 236–282.
- Miller M.P.** Tools for population genetic analyses (TFPGA) 1.3: A Windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data: Computer software distributed by author, 1997.
- Waldron J., Peace C., Searle I., Furtado A., Wade N., Findlay I., Graham M.W., Carroll B.J.** Randomly amplified DNA fingerprinting: a culmination of DNA marker technologies based on arbitrarily-primed PCR amplification // Journal of Biomedicine and Biotechnology, 2002. – Vol. 2, № 3. – P. 141–150.