
ГЕНЕТИКА И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

GENETICS AND MOLECULAR BIOLOGY

УДК 575.13:575.17:630*165

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ПОПУЛЯЦИОННОЙ СТРУКТУРЫ *PICEA ABIES* (L.) KARST. НА ТЕРРИТОРИИ БЕЛАРУСИ

В. Е. ПАДУТОВ¹⁾

¹⁾Институт леса НАН Беларусь, ул. Пролетарская, 71, 246001, г. Гомель, Беларусь

Одним из основных лесообразующих древесных видов Беларуси является ель европейская (*Picea abies* (L.) Karst.), формирование популяционно-генетической структуры которой происходило под влиянием миграционных потоков из разных рефугиумов в постледниковый период. Для геногеографического исследования *P. abies* использованы 25 изоферментных генов (*Aat-1*, *Aat-2*, *Adh*, *Gdh*, *Idh-1*, *Idh-2*, *Mdh-1*, *Mdh-2*, *Mdh-3*, *Skdh*, *6-Pgd-1*, *6-Pgd-2*, *6-Pgd-3*, *Lap-1*, *Lap-2*, *Sdh*, *Gpi*, *Hk*, *Me*, *Dia-1*, *Dia-2*, *Dia-4*, *Pgm-1*, *Pgm-2*, *Fl-Est*) ядерной ДНК (анализ проведен в 10 популяциях), 3 микросателлитных локуса (Pt63718, Pt26081, Pt71936) хлоропластной ДНК (рассмотрены 57 популяций) и 1 микросателлитный локус (mt15-D02) митохондриальной ДНК (изучены 56 популяций). Выявлены 82 аллельных варианта изоферментных генов, 19 аллельных вариантов локусов хлоропластной ДНК и 2 аллельных варианта локуса митохондриальной ДНК. Установлено географическое распространение аллелей и рассмотрены региональные особенности геногеографической дифференциации еловой формации. Подтверждено наличие в Беларуси представителей двух миграционных потоков – южного и северного. Показано, что основная концентрация деревьев *P. abies* южного (карпатского) происхождения наблюдается на юго-западе страны. Выявлена клинальная изменчивость для ряда маркеров в направлениях с юга на север и с запада на восток. Полученные данные в целом согласуются с результатами исследований, основанных на анализе распространения фенов чешуй шишек.

Ключевые слова: ель европейская; *Picea abies*; изоферменты; микросателлитный анализ; хлоропластная ДНК; митохондриальная ДНК; интродукция.

Образец цитирования:

Падутов ВЕ. Особенности формирования популяционной структуры *Picea abies* (L.) Karst. на территории Беларуси. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология*. 2021;1:78–91.

<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-1-78-91>

For citation:

Padutov VE. Features of *Picea abies* (L.) Karst. population structure formation on the territory of Belarus. *Journal of the Belarusian State University. Biology*. 2021;1:78–91. Russian.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-1-78-91>

Автор:

Владимир Евгеньевич Падутов – член-корреспондент НАН Беларуси, доктор биологических наук, доцент; заведующий научно-исследовательским отделом генетики, селекции и биотехнологии.

Author:

Vladimir E. Padutov, corresponding member of the National Academy of Sciences of Belarus, doctor of science (biology), docent; head of the research department of genetics, breeding and biotechnology.
forestgen@mail.ru

FEATURES OF *PICEA ABIES* (L.) KARST. POPULATION STRUCTURE FORMATION ON THE TERRITORY OF BELARUS

V. E. PADUTOV^a

^aForest Institute, National Academy of Sciences of Belarus,
71 Praletarskaja Street, Homiel 246001, Belarus

One of the main forest forming tree species in Belarus is the European spruce (*Picea abies* (L.) Karst.). The formation of European spruce forest population genetic structure took place under the influence of migration flows from different refugia during the postglacial period. For the genogeographic study of *P. abies* 25 isozyme genes (*Aat-1*, *Aat-2*, *Adh*, *Gdh*, *Idh-1*, *Idh-2*, *Mdh-1*, *Mdh-2*, *Mdh-3*, *Skdh*, *6-Pgd-1*, *6-Pgd-2*, *6-Pgd-3*, *Lap-1*, *Lap-2*, *Sdh*, *Gpi*, *Hk*, *Me*, *Dia-1*, *Dia-2*, *Dia-4*, *Pgm-1*, *Pgm-2*, *Fl-Est*) of nuclear DNA (analysis was carried out in 10 populations), 3 microsatellite loci (Pt63718, Pt26081, Pt71936) of chloroplast DNA (57 populations were considered) and 1 microsatellite locus (mt15-D02) of mitochondrial DNA (56 populations were studied) were used. As a result, 82 allelic variants of isozyme genes, 19 allelic variants of chloroplast DNA loci and 2 allelic variants of mitochondrial DNA locus were found. The spatial distribution of the alleles was defined and the regional features of the genogeographic differentiation of the spruce forest were considered. The presence of two migration flows representatives (southern and northern) in Belarus was confirmed. It was shown that the highest concentration of *P. abies* trees with southern (Carpathian) origin is observed in the southwest of the country. Clinal variability was revealed for a number of markers in the directions from south to north and from west to east. In general the data obtained are consistent with the results of studies based on the analysis of the spatial distribution of the cone scales traits.

Keywords: European spruce; *Picea abies*; isozymes; microsatellite analysis; chloroplast DNA; mitochondrial DNA; introgression.

Введение

Ель европейская (*Picea abies* (L.) Karst.) является одним из основных лесообразующих видов Беларуси, выполняя важные экономические, экологические и социальные функции. Еловая формация занимает 9,4 % лесопокрытой площади территории страны и характеризуется сложной историей формирования своей популяционно-генетической структуры.

Как известно, *P. abies* произрастает на Европейском континенте, где ее ареал, занимающий обширную территорию, разделен на три изолированные между собой области [1] – альпийскую (альпийско-балкансскую), карпатскую (герцинско-карпатскую) и boreальную (восточноевропейскую, северобалтийскую), восточную границу которой точно определить затруднительно из-за широкой зоны интрагрессивной гибридизации между елью европейской и елью сибирской. Бореальная область сплошного распространения *P. abies* отделена от Карпатского региона так называемой польской дизьюнкцией, или «безъельным коридором» [2]. Выявление на территории Беларуси типов шишечек [3; 4], различающихся по форме чешуй и характерных либо для Карпатского региона Украины, либо для северо-восточной области европейской части России, позволило предположить, что в среднем голоцене данный «безъельный коридор» отсутствовал. Вследствие этого распространение ели европейской на территорию Беларуси могло происходить со стороны двух центров [2] – карпатского (*P. abies* subsp. *acuminata*) и boreального (*P. abies* subsp. *abies*). Реконструкция исторически возможных путей распространения *P. abies* карпатского происхождения на территорию Беларуси [5] показала, что наиболее вероятным является юго-западный миграционный путь, который был направлен из Восточных Карпат в Полесье через Волыно-Подольскую возвышенность. Кроме того, В. П. Зерницкая¹ в своей диссертации предполагает, что юго-западное ответвление пути (в сторону Беловежской пущи) проходило также и через Люблинскую возвышенность.

Изучение внутривидового разнообразия и дифференциации популяций лесообразующих видов, особенно в зоне внутри- и межвидовой интрагрессивной гибридизации, является важным направлением исследований в области популяционной генетики и ботаники. До недавнего времени для получения информации о процессах, происходящих в популяциях *P. abies*, как уже отмечалось выше, использовались фенотипические признаки, позднее в качестве маркеров генов применялись изоферменты [6; 7]. В последние годы в связи с разработкой специфических праймеров значительно увеличилось число генетических исследований хвойных, в которых ДНК-маркерами выступают микросателлитные локусы [8–15].

¹Зерницкая В. П. Палеогеография Белорусского Полесья в позднеледниковые и голоцене (по данным спорово-пыльцевого анализа) : автореф. дис. ... канд. геогр. наук : 11.00.04. Минск : Белорус. ордена Трудового Красного Знамени гос. ун-т им. В. И. Ленина, 1991.

Наиболее часто микросателлиты используются в популяционных и экологических исследованиях для изучения генного потока, миграционных процессов, внутривидового распределения генетической изменчивости, степени дифференциации популяций. Наряду с маркерами ядерной ДНК в генетических исследованиях широкое распространение получили методы, основанные на применении маркеров митохондриальной ДНК (у хвойных наследуются по материнской линии) и хлоропластной ДНК (у хвойных наследуются по отцовской линии), что позволяет получать дополнительную информацию о генетическом родстве популяций.

Цель данного исследования заключалась в изучении геногеографической структуры белорусских популяций ели европейской на основе анализа изменчивости трех различных типов генетических маркеров (изоферментов, хлоропластных и митохондриальных микросателлитов).

Материалы и методы исследования

Объектами исследования для изоферментного анализа были 416 деревьев из 10 природных популяций (Национальный парк «Беловежская пуща», Барабинский лесхоз, Национальный парк «Припятский», Гомельский лесхоз, Белыничский лесхоз, Могилёвский лесхоз, Бегомльский лесхоз, Глубокский лесхоз, Полоцкий лесхоз, Городокский лесхоз), для микросателлитного анализа хлоропластной ДНК – 610 деревьев из 57 природных популяций (Брестская область – 9, Гродненская – 8, Гомельская – 8, Минская – 12, Могилёвская – 8, Витебская – 12), для микросателлитного анализа митохондриальной ДНК – 596 деревьев из 56 природных популяций (Брестская область – 10, Гродненская – 8, Гомельская – 8, Минская – 13, Могилёвская – 6, Витебская – 11). Экспериментальным материалом для анализа изоферментов являлись семена, для выделения ДНК – хвоя или почки без признаков повреждения. В случае невозможности сбора хвои или почек отбирали образцы наружного слоя древесины (до 7 мм) путем сверления шнековым сверлом ($d = 10$ мм) при скорости вращения ротора не более 300–350 об/мин. Отобранный материал (≈ 100 мг) помещали в микропробирки с 70 % этианолом.

Изоферментный анализ проводился методом электрофореза в крахмальном геле. Гомогенизация образцов осуществлялась в фарфоровых ступках при температуре 5 °C с использованием экстрагирующего буфера следующего состава: сахароза – 0,81 г; ЭДТА – 1,5 мг; дитиотреитол – 1,6 мг; аскорбиновая кислота – 1,76 мг; альбумин – 11 мг; НАД – 2,7 мг; НАДФ – 2,2 мг; пиридоксаль – 0,5 мг; β-меркаптоэтанол – 0,066 мл; РВР – 0,8 г на 10 мл дистиллированной воды (рН доводится до 6,7 1 моль/л раствором три-(оксиметил)-аминометана). Гелевые блоки для электрофоретического фракционирования включали буферный раствор, 13–14 % гидролизованный крахмал и 10 % сахарозу. Оптимальным для анализа всех используемых в работе изоферментов является применение трех буферных систем:

- А (три-ЭДТА-боратная, рН 8,6) – электродный буфер содержит 900 ммол/л три- (оксиметил)-аминометан, 500 ммол/л борную кислоту, 20 ммол/л ЭДТА, 40 ммол/л MgCl₂, гелевый буфер готовится путем разведения 50 мл электродного буфера до 1 л дистиллированной водой;
- В (три-цитрат, рН 6,2/три-НCl, рН 8,0) – электродный буфер включает 233 ммол/л три- (оксиметил)-аминометан и 86,15 ммол/л лимонную кислоту, гелевый буфер содержит 500 ммол/л три- (оксиметил)-аминометан гидрохлорид, рН доводится 1 н NaOH;
- С (три-цитратная, рН 6,2) – электродный буфер включает 233 ммол/л три- (оксиметил)-аминометан и 86,15 ммол/л лимонную кислоту, гелевый буфер готовится путем разведения 35 мл электродного буфера до 1 л дистиллированной водой.

Гистохимическое окрашивание изоферментов выполнено по стандартным методикам [16–19]. Анализ проведен на основе 15 генферментных систем (буферная система А – алкогольдегидрогеназа, КФ 1.1.1.1, аспартатаминотрансфераза, КФ 2.6.1.1, гексокиназа, КФ 2.7.1.1, глутаматдегидрогеназа, КФ 1.4.1.2, лейцинаминопептидаза, КФ 3.4.11.1, малик-энзим, КФ 1.1.1.40, сорбитолдегидрогеназа, КФ 1.1.1.14, флуоресцентная эстераза, КФ 3.1.1.2, фосфоглюкомутаза, КФ 2.7.5.1; буферная система В – диафораза, КФ 1.6.4.3, изоцитратдегидрогеназа, КФ 1.1.1.42, шикиматдегидрогеназа, КФ 1.1.1.25; буферная система С – глюкозофосфатизомераза, КФ 5.3.1.9, малатдегидрогеназа, КФ 1.1.1.37, 6-фосфоглюконатдегидрогеназа, КФ 1.1.1.44), которые кодируются 25 изоферментными генами (*Aat-1*, *Aat-2*, *Adh*, *Gdh*, *Idh-1*, *Idh-2*, *Mdh-1*, *Mdh-2*, *Mdh-3*, *Skdh*, 6-*Pgd-1*, 6-*Pgd-2*, 6-*Pgd-3*, *Lap-1*, *Lap-2*, *Sdh*, *Gpi*, *Hk*, *Me*, *Dia-1*, *Dia-2*, *Dia-4*, *Pgm-1*, *Pgm-2*, *Fl-Est*).

Выделение ДНК осуществлено модифицированным СТАВ-методом [20]. Полученные препараты ДНК растворяли в 100 мкл бидистиллированной воды для последующего хранения при –4 °C. Генетический анализ хлоропластной ДНК проведен по 3 микросателлитным локусам (Pt63718, Pt26081, Pt71936), которые ранее были использованы при анализе ели европейской и ели сибирской [21; 22], с применением следующих пар праймеров: локус Pt63718 – F: 5'-CCCGTATCCAGATATACTTCC-3', R: 5'-TGGTTGATTCAATTGTTCAT-3'; локус Pt26081 – F: 5'-CACAAAAGGATTTTTTCAGTG-3',

R: 5'-CGACGTGAGTAAGAATGGTTG-3'; локус Pt71936 – F: 5'-TTCATTGGAAATACACTAGCCC-3', R: 5'-AAAACCGTACATGAGATTCCC-3'. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) выполнена по программе: длительная денатурация (3 мин, 94 °C); 30 циклов – денатурация (15 с, 94 °C), отжиг (15 с, 60 °C), элонгация (30 с, 72 °C); длительная элонгация (5 мин, 72 °C). Электрофоретическое фракционирование и детекцию меченых продуктов амплификации проводили в генетическом анализаторе ABI Prism 310 или ABI 3500 (*Applied Biosystems*, США) в соответствии с прилагаемой инструкцией. Для анализа результатов использовали программный пакет *GeneMapper 4.0* (*Applied Biosystems*).

Генетический анализ митохондриальной ДНК осуществлен по локусу mt15-D02 (номер в GenBank – AY897577) с применением праймеров F: 5'-TATCTGACTTGCCCTTATC-3', R: 5'-ATCCGAATACATACACC-3'. Для проведения ПЦР использована программа: длительная денатурация (10 мин, 94 °C); 40 циклов – денатурация (1 мин, 94 °C), отжиг (1 мин, 54 °C), элонгация (2 мин, 72 °C); длительная элонгация (10 мин, 72 °C). Электрофоретическое фракционирование продуктов амплификации выполнено в электрофоретических камерах с использованием 2 % агарозных гелей с последующим окрашиванием в растворе этидия бромида.

Математическая обработка данных проведена с помощью пакета программ *PopGene Version 1.32*, *Statistica 6.0*, *GenAlEx 6.5* и *Microsoft Excel*.

Результаты и их обсуждение

В ходе анализа 25 изоферментных генов были выявлены 82 аллельных варианта, частоты встречаемости которых представлены в табл. 1. Из данных таблицы следует, что все гены уели европейской оказались полиморфными, при этом в большинстве популяций практически для каждого гена преобладает наиболее общий (доминантный) аллель. Только для 6-Pgd-2 и Dia-4 в некоторых популяциях частота альтернативного аллеля выше, чем доминантного (для Беларуси в целом) варианта. Для таких генов, как Mdh-3, Lap-2, 6-Pgd-2, Me, Dia-4 и Gpi, различия в частотах некоторых аллелей между отдельными популяциями составляют более 20 %.

Таблица 1

Аллельные частоты по 25 изоферментным генам у *P. abies* в Беларуси

Table 1

Allelic frequencies of 25 isozyme genes of *P. abies* in Belarus

Аллель	Популяции										В целом по Беларуси
	БП	Бр	Пр	Гм	Бл	Мг	Бг	Гл	Пл	Гр	
<i>Aat-1</i>											
1,00	0,971	0,939	0,968	0,962	1,000	0,952	0,948	0,974	0,917	0,946	0,964
1,10	0,029	0,061	0,032	0,038	0	0,048	0,052	0,026	0,083	0,054	0,036
<i>Aat-2</i>											
0,30	0,013	0,015	0	0	0	0	0,017	0	0	0	0,006
0,65	0,563	0,500	0,581	0,520	0,586	0,532	0,586	0,513	0,583	0,554	0,548
1,00	0,425	0,485	0,419	0,480	0,414	0,468	0,397	0,487	0,417	0,446	0,446
<i>Adh</i>											
0,90	0,025	0	0	0,025	0,017	0	0	0,006	0	0	0,011
1,00	0,975	1,000	1,000	0,975	0,983	1,000	1,000	0,994	1,000	1,000	0,989
<i>Gdh</i>											
0,75	0,068	0,061	0,081	0,200	0,138	0,145	0,103	0,130	0,125	0,179	0,111
1,00	0,932	0,939	0,919	0,800	0,862	0,855	0,897	0,870	0,875	0,821	0,889
<i>Idh-1</i>											
0,70	0	0	0	0	0	0	0,017	0	0	0	0,001
0,90	0,005	0	0,024	0	0	0	0	0	0	0	0,003
1,00	0,951	0,944	0,976	0,962	1,000	0,903	0,966	1,000	1,000	0,982	0,967
1,10	0,044	0,056	0	0,038	0	0,097	0,017	0	0	0,018	0,029

Продолжение табл. 1
 Continuation table 1

Аллель	Популяции										В целом по Беларуси
	БП	Бр	Пр	Гм	Бл	Мг	Бг	Гл	Пл	Гр	
<i>Idh-2</i>											
0,70	0	0,015	0	0	0	0	0	0,013	0	0	0,004
1,00	1,000	0,985	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,987	1,000	1,000	0,996
<i>Mdh-1</i>											
0,95	0	0	0	0	0	0	0	0,006	0	0	0,001
1,00	0,996	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,994	1,000	1,000	0,998
1,10	0,004	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,001
<i>Mdh-2</i>											
0,80	0,004	0,015	0	0	0,017	0	0	0	0	0	0,004
1,00	0,996	0,985	1,000	1,000	0,983	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,996
<i>Mdh-3</i>											
0	0,013	0,015	0	0,019	0	0,016	0,017	0,007	0,042	0	0,011
0,90	0,212	0,121	0,226	0,135	0,034	0,210	0,207	0,201	0	0,107	0,172
1,00	0,674	0,803	0,726	0,827	0,948	0,661	0,707	0,746	0,917	0,804	0,748
1,15	0,068	0,030	0,032	0,019	0,017	0,097	0,052	0,045	0,042	0,054	0,051
1,30	0,034	0,030	0,016	0	0	0,016	0,017	0	0	0,036	0,019
<i>Skdh</i>											
0,80	0,004	0	0	0	0	0	0,034	0	0	0	0,004
1,00	0,950	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,948	1,000	1,000	1,000	0,981
1,05	0,046	0	0	0	0	0	0,017	0	0	0	0,015
<i>Lap-1</i>											
0	0,025	0,015	0	0	0,052	0	0,086	0,045	0	0	0,026
0,94	0,067	0,091	0,113	0,058	0,034	0,065	0,121	0,097	0,042	0,036	0,076
0,97	0	0,015	0	0,058	0	0	0	0	0	0,071	0,010
1,00	0,808	0,758	0,726	0,827	0,793	0,742	0,690	0,669	0,708	0,786	0,755
1,04	0,100	0,121	0,129	0,058	0,034	0,145	0,052	0,156	0,208	0,107	0,111
1,10	0	0	0,032	0	0,086	0,048	0,052	0,032	0,042	0	0,023
<i>Lap-2</i>											
0,95	0,021	0,030	0,016	0,019	0,017	0,103	0,069	0,019	0,042	0,036	0,031
1,00	0,763	0,727	0,613	0,827	0,776	0,776	0,569	0,786	0,708	0,768	0,744
1,05	0,150	0,182	0,290	0,135	0,207	0,086	0,293	0,149	0,083	0,143	0,169
1,10	0,050	0	0,081	0,019	0	0,034	0,069	0,032	0,167	0,054	0,043
1,05/1,10	0,017	0,061	0	0	0	0	0	0,013	0	0	0,012
<i>Sdh</i>											
0	0	0,015	0	0	0	0	0	0	0	0	0,001
0,95	0,050	0,030	0,032	0,021	0	0,016	0,034	0,013	0	0	0,026
1,00	0,950	0,955	0,968	0,979	1,000	0,952	0,966	0,968	1,000	1,000	0,966
1,05	0	0	0	0	0	0,032	0	0,019	0	0	0,006

Продолжение табл. 1
Continuation table 1

Аллель	Популяции										В целом по Беларуси
	БП	Бр	Пр	Гм	Бл	Мг	Бг	Гл	Пл	Гр	
<i>6-Pgd-1</i>											
0,90	0	0,015	0	0,038	0	0	0,052	0,019	0	0	0,011
1,00	1,000	0,970	1,000	0,962	1,000	1,000	0,948	0,981	1,000	0,946	0,984
1,10	0	0,015	0	0	0	0	0	0	0	0,054	0,005
<i>6-Pgd-2</i>											
0,65	0,346	0,379	0,452	0,435	0,517	0,468	0,483	0,474	0,458	0,429	0,427
0,85	0	0,015	0	0,022	0	0	0	0,006	0,042	0,036	0,008
1,00	0,654	0,591	0,548	0,522	0,448	0,532	0,517	0,519	0,500	0,518	0,559
1,20	0	0,015	0	0,022	0,034	0	0	0	0	0,018	0,006
<i>6-Pgd-3</i>											
0,50	0,394	0,288	0,238	0,295	0,362	0,242	0,259	0,312	0,333	0,321	0,323
1,00	0,602	0,712	0,762	0,705	0,638	0,758	0,741	0,688	0,667	0,679	0,676
1,15	0,005	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,001
<i>Fl-Est</i>											
0	0	0	0	0	0	0	0	0,009	0	0	0,001
0,70	0	0	0,081	0,038	0	0	0	0,009	0	0	0,010
1,00	0,967	0,955	0,806	0,923	1,000	0,984	0,948	0,983	1,000	0,982	0,956
1,30	0,030	0,045	0,113	0,038	0	0,016	0,052	0	0	0,018	0,032
<i>Me</i>											
0	0,004	0	0	0,020	0,100	0,016	0	0,039	0,250	0	0,022
0,10	0,030	0	0	0,040	0	0,048	0,026	0,024	0	0,018	0,024
0,60	0,026	0,045	0	0,020	0,100	0,032	0,026	0,070	0,042	0,018	0,036
1,00	0,901	0,940	1,000	0,920	0,800	0,855	0,947	0,859	0,708	0,964	0,898
1,20	0,039	0,015	0	0	0	0,048	0	0,008	0	0	0,020
<i>Dia-1</i>											
0	0,004	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,001
0,80	0	0	0,016	0	0	0,016	0	0	0	0	0,002
1,00	0,996	1,000	0,984	1,000	1,000	0,984	1,000	1,000	1,000	1,000	0,996
<i>Dia-2</i>											
0	0	0	0	0	0	0	0	0,007	0	0	0,001
0,70	0	0	0	0	0	0	0	0,007	0	0	0,001
1,00	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,987	1,000	1,000	0,998
<i>Dia-4</i>											
1,00	0,530	0,515	0,484	0,481	0,750	0,468	0,534	0,546	0,375	0,393	0,517
1,10	0,470	0,485	0,516	0,519	0,200	0,532	0,466	0,454	0,625	0,607	0,480
1,15	0	0	0	0	0,050	0	0	0	0	0	0,002
<i>Hk</i>											
0,90	0,059	0	0,048	0,042	0	0	0,026	0,032	0,042	0	0,036
1,00	0,937	1,000	0,952	0,938	1,000	1,000	0,974	0,968	0,958	0,971	0,960
1,10	0,004	0	0	0,021	0	0	0	0	0	0,029	0,004

Окончание табл. 1
 Ending table 1

Аллель	Популяции										В целом по Беларуси
	БП	Бр	Пр	Гм	Бл	Мг	Бг	Гл	Пл	Гр	
<i>Pgm-1</i>											
0,90	0,004	0,015	0	0	0	0	0	0,013	0	0,036	0,007
1,00	0,996	0,985	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,987	1,000	0,964	0,993
<i>Pgm-2</i>											
0,85	0,004	0	0,032	0	0,052	0,016	0,017	0,013	0,042	0	0,013
1,00	0,928	1,000	0,903	0,886	0,897	0,984	0,948	0,968	0,958	0,929	0,942
1,15	0,067	0	0,065	0,114	0,052	0	0,034	0,019	0	0,071	0,045
<i>Gpi</i>											
0,80	0,106	0,167	0,129	0,038	0,190	0,129	0,052	0,084	0,208	0,125	0,112
1,00	0,818	0,773	0,677	0,808	0,759	0,774	0,914	0,818	0,708	0,857	0,802
1,15	0,063	0,045	0,194	0,154	0,017	0,032	0,017	0,078	0,083	0	0,068
1,25	0,013	0,015	0	0	0,034	0,065	0,017	0,019	0	0,018	0,018

П р и м е ч а н и е. БП – Национальный парк «Беловежская пуща»; Бр – Барановичский лесхоз; Пр – Национальный парк «Припятский»; Гм – Гомельский лесхоз; Бл – Белыничский лесхоз; Мг – Могилёвский лесхоз; Бг – Бегомльский лесхоз; Гл – Глубокский лесхоз; Пл – Полоцкий лесхоз; Гр – Городокский лесхоз.

Обращает на себя внимание большое количество аллелей, выявленных у ели европейской практически в каждом локусе (см. табл. 1). При этом основная их часть была представлена в подавляющем числе популяций. Наряду с часто встречающимися аллелями в ельниках обнаружены 22 редких (их частота для вида на территории республики составляет менее 1 %). Интересно отметить, что 10 из 22 редких аллелей присутствовали только в какой-либо одной популяции, т. е. оказались уникальными. Это является отражением микроэволюционных процессов, протекающих в настоящий момент в популяциях ели европейской.

Для большинства генов не выявлено каких-либо тенденций в распределении частот встречаемости аллелей. Исключение составляют гены *Gdh*, *6-Pgd-2* и *Dia-4*, у которых частота встречаемости альтернативных аллелей (0,75; 0,65 и 1,10 соответственно) увеличивается в направлении с юго-запада на северо-восток, а частота доминантных аллелей (1,00) снижается. Следует отметить, что указанные гены входят в группу из 6 генов (*Gdh*, *Dia-4*, *6-Pgd-2*, *6-Pgd-3*, *Gpi*, *Lap-1*), которые, как было показано ранее, проявляют клинальную изменчивость на территории от Карпат до Сибири [7]. Отсутствие каких-либо региональных особенностей в Беларуси по генам *6-Pgd-3*, *Gpi* и *Lap-1*, по-видимому, связано с тем, что площадь нашей страны на этой территории составляет небольшую долю и случайные отклонения (на локальном уровне) в популяционной структуре затушевывают целостную картину.

Интересно, что при анализе природных популяций елей комплекса *P. abies* – *P. obovata* (разделены на 5 групп – карпатские, белорусско-балтийские, предуральские, зауральские, центральносибирские) для 4 генов (*Gpi*, *Dia-4*, *6-Pgd-2* и *6-Pgd-3*) отмечалось постепенное увеличение или уменьшение частоты встречаемости ряда аллельных вариантов от Карпат до Алтая [7]. Полученные результаты по этим генам хорошо согласуются с предположениями о том, что в голоцене произошло воссоединение ареалов ели европейской и ели сибирской, ранее (до оледенений) представлявших собой единый макровид, с образованием клины с запада на восток (особенно хорошо это видно на примере семенных чешуй шишек) [1].

Однако по генам *Gdh* (аллель 0,75) и *Lap-1* (аллель 1,10) наблюдается более сложная ситуация, поскольку максимальную концентрацию указанные аллельные варианты имели не в Карпатах или на Алтае, а на территории около Урала, в то время как на запад и на восток их частота плавно снижалась. Эти данные подтверждают высказанную еще в 1940–50-х гг. гипотезу о том, что во время последнего оледенения ель сохранялась в центральных районах европейской части России, в так называемом Костромском рефугиуме [23; 24]. В этом смысле особого внимания заслуживает предположение о том, что основу Костромского рефугиума составила ель, образовавшаяся в результате контакта чистой *P. abies* и чистой *P. obovata* еще около 100 тыс. лет назад в микулинское межледниковые [24]. В голоцене ель европейская и ель сибирская вошли в соприкосновение не друг с другом, а с елью из Костромского рефугиума, которая начала быстро расширять свой ареал после отступления ледника, и в результате

возникли вторичные зоны гибридизации, одной из которых, по-видимому, является территория Беларуси. При этом ель в Костромском рефугиуме могла по одним аллельным вариантам сохранить частоты встречаемости, образовавшиеся в первичной зоне гибридизации в последнее межледниковые, а по другим – накопить различия, что проявляется в виде клин от Предуралья на запад и восток.

Проведенные ранее исследования показали наличие клинальной изменчивости также по встречаемости острочешуйчатых форм шишек (характерный признак для особей *subsp. acuminata*) и тупочешуйчатых форм шишек (отличительная особенность представителей *subsp. abies*), которые являются фенами, т. е. генотипически обусловленными вариантами определенных признаков, чье проявление зависит от генетического материала обеих родительских форм на уровне ядерной ДНК. В направлении с юга на север и с запада на восток долевое участие представителей *subsp. acuminata* в еловой формации Беларуси постепенно уменьшается, а особей *subsp. abies* – увеличивается [4]. На юге республики (подзона широколиственно-сосновых лесов) распространение *subsp. acuminata* достигает 85 %, в то время как в центральной (подзона грабово-дубово-темнохвойных лесов) и северной (подзона дубово-темнохвойных лесов) частях Беларуси составляет 17–24 и 5–7 % соответственно [4; 25]. Но и на территории Полесья данные таксоны произрастают неравномерно, хотя ввиду существующей в ареале дизъюнкции центром вторичного расселения *subsp. acuminata* на Европейской равнине, как отмечает в своей диссертации В. И. Парфенов², является Полесье. Участие *subsp. acuminata* в лесах восточной половины Брестской области (Столинский, Житковичский, Лельчицкий лесхозы) в составе фитоценозов в отдельных экотопах достигает 84 %, в то время как в Национальном парке «Беловежская пуща», Брестском и Кобринском лесхозах составляет 30 % [26].

В отличие от маркеров ядерной ДНК (изоферменты) несколько иная ситуация по распространению представителей *subsp. acuminata* и *subsp. abies* выявлена при анализе митохондриальной ДНК (наследование происходит по материнской линии с помощью семян). На основании результатов изучения локуса mt15-D02 (табл. 2) установлено, что в северной (Витебская область), центральной (Минская область) и восточной (Могилёвская и Гомельская области) частях Беларуси в древостоях *P. abies* встречается только митотип mt15-D02⁷⁵³, в юго-западной (Брестская и частично Гродненская области) – митотипы mt15-D02⁷⁵³ и mt15-D02¹²⁴⁹. Частота встречаемости последнего варианта снижается в северном направлении от 100 % в островных ельниках Брестской области до 40 % в Слонимском лесхозе и 20 % в Волковысском лесхозе Гродненской области.

Таблица 2

Аллельные частоты по митохондриальному локусу mt15-D02 у *P. abies* в Беларуси

Table 2

Allelic frequencies of mitochondrial locus mt15-D02 of *P. abies* in Belarus

Лесхоз, лесничество	Возраст, лет	Состав насаждения	Частота встречаемости митотипов mt15-D02, %	
			1249	753
Брестская область				
Брестский, Меднянское	110	4Е3С2Олч1Д	100	0
Брестский, Каменецкое	80	6Е4С	80	20
Дрогичинский, Антопольское	75	8Е1Б1Олч+Д	100	0
Малоритский, Великоритское	115	9С1Е+Б	100	0
Малоритский, Малоритское	75	7Е2Ос1Олч	100	0
Малоритский, Пожежинское	90	6Е3Ос1Б	90	10
Пинский, Бродницкое	75	6Е2С1Б1Ос	60	40
Пружанский, Березовское	–	–	100	0
Пружанский, Ружанское	100	9Е1С+Б,Д,Е	60	40
Столинский, Столинское	30	8Е2Б+Д,С	100	0
Гродненская область				
Волковысский, Волковысское	95	9Е1С+Б,Д,Е	20	80
Дятловский, Гезгаловское	80	8Е2С	0	100

²Парфенов В. И. Исследование еловых лесов и внутривидовой изменчивости ели обыкновенной на юге ареала (в Полесье): дис. ... канд. биол. наук. Минск : Ин-т эксперим. ботаники и микробиологии, 1964.

Продолжение табл. 2
 Continuation table 2

Лесхоз, лесничество	Возраст, лет	Состав насаждения	Частота встречаемости митотипов mt15-D02, %	
			1249	753
Лидский, Лидское	90	5E4C1Oc	0	100
Сморгонский, Сморгонское	75	8E1Oc1B	0	100
Щучинский, Дембровское	90	8E2Oc	0	100
Слонимский, Альбертинское	100	7E2C1D+Oc,B	60	40
Гродненский, Индурское	80	5E2C2Oc1B	0	100
Ивьевский, Ивьевское	80	6E2C1B1Oc	0	100
Гомельская область				
НП «Припятский», Симоничское	80	6E3C1B	0	100
Лельчицкий, Замошское	65	7E1B2Oc	0	100
Житковичский, Милевичское	70	5E2C2Oc1B	0	100
Петриковский, Луцицкое	65	5E5C	0	100
Октябрьский, Шкавское	—	—	0	100
Калинковичский, Клинское	85	6E1C2Oлч1B	0	100
Речицкий, Бело-Болотское	95	6E2C2D+Oc	0	100
Рогачевский, Сверженское	60	8E2C	0	100
Минская область				
Борисовский, Пригородное	90	9E1C	0	100
Воложинский, Ивенецкое	79	10E+B,Oлч,C	0	100
Клецкий, Несвижское	80	7E1D1Г1C	0	100
Копыльский, Копыльское	55	10E+C,B	0	100
Крупский, Крупское	90	6E3C1B	0	100
Логойский, Каменское	90	8E2C	0	100
Молодечненский, Молодечненское	70	8E1C1B	0	100
Пуховичский, Светлоборское	100	9E1C	0	100
Слуцкий, Жилин-Бродское	60	7E1C2B+Oc	0	100
Старобинский, Краснослободское	85	6E2C2Г+Д,B,Oлч,Oc	0	100
Стародорожский, Фаличское	50	4E1C3B2Oc	0	100
Столбцовский, Окинчицкое	110	5E3C2B+Д,E	0	100
Узденский, Валерьяновское	65	6E2B2Oc+Oлч,Kл	0	100
Могилёвская область				
Белыничский, Кругловичское	65	7E1C1B1Oc+Д	0	100
Быховский, Ворониновское	100	6E4C+B,Oc	0	100
Горецкий, Темнолесское	55	8E2D+C,Oc	0	100
Жорновская ЭЛБ, Лапичское	70	5E3B2Oc+Г,D	0	100
Кличевский, Кличевское	60	6E2C2B+Oc,D	0	100
Костюковичский, Костюковичское	—	—	0	100
Витебская область				
Верхнедвинский, Верхнедвинское	100	8E2C	0	100
Витебский, Лосвидское	120	7E1C2E+Б	0	100
Городокский, Езерищенское	60	7E1B2Oc+Oлч	0	100

Окончание табл. 2
Ending table 2

Лесхоз, лесничество	Возраст, лет	Состав насаждения	Частота встречаемости митотипов mt15-D02, %	
			1249	753
Двинская ЭЛБ, Прошковское	110	8Е2С	0	100
Дисненский, Миорское	60	7Е2С1Б	0	100
Лиозненский, Ясеневское	70	10Е	0	100
Полоцкий, Полоцкое	70	4Е3С3Б+Ос	0	100
Полоцкий, Туровлянское	75	9Е1Олч+С,Б	0	100
Россонский, Россонское	80	7Е2С1Б	0	100
Ушачский, Плинское	55	9Е1Б+Е,Ос,С	0	100
Шумилинский, Обольское	72	6Е3С1Б+Ос	0	100

Примечание. НП – национальный парк; ЭЛБ – экспериментальная лесная база Института леса НАН Беларусь.

Выявляемая по локусу mt15-D02 амплифицируемая зона размером 1249 нуклеотидных оснований (н. о.), как показано в работах зарубежных исследователей, характерна для южного постледникового миграционного потока *P. abies*, происходящего из Карпатского рефугиума, а зона размером 753 н. о. соответствует северному (boreальному) миграционному потоку, который распространялся с территории Русской равнины (северо-центральная область европейской части России) [9; 11; 12]. Таким образом, обнаруженный нами полиморфизм митохондриальной ДНК *P. abies* подтверждает, что на территории Беларуси произрастают особи, имеющие различное историческое происхождение, а именно карпатское и boreальное. В связи с вышеуказанным возникает вопрос о встречаемости представителей двух миграционных потоков в еловой формации Беларуси. Проведенные исследования показали, что деревья, происходящие по материнской линии от древостоев Карпатского региона, локализуются в юго-западной части Беларуси, при этом они не были выявлены в северных, центральных и восточных регионах страны. Полученные данные не в полной мере согласуются с результатами исследований по изоферментам и фенам.

В ходе анализа 3 микросателлитных локусов хлоропластной ДНК *P. abies* (наследование по отцовской линии за счет распространения пыльцы) были выявлены 19 аллелей: локус Pt63718 – 7 (90; 91; 93; 94; 95 (доминирующий); 96; 97 н. о.); локус Pt26081 – 7 (105; 106; 107; 108; 109 (доминирующий); 110; 111 н. о.); локус Pt71936 – 5 (138; 139; 140 и 141 (доминирующие); 142 н. о.). Частоты встречаемости выявленных аллелей каждого локуса по областям представлены в табл. 3.

Таблица 3
Аллельные частоты по хлоропластным локусам у *P. abies* в Беларуси

Table 3

Allelic frequencies of chloroplast loci of *P. abies* in Belarus

Аллель	Область						Среднее по Беларуси
	Брестская	Витебская	Гомельская	Гродненская	Минская	Могилёвская	
Pt63718							
90	0,021	–	–	–	–	–	0,003
91	0,143	0,138	0,272	0,194	0,156	0,087	0,165
93	–	0,006	0,016	–	–	–	0,004
94	0,044	0,126	0,153	0,064	0,094	0,100	0,097
95	0,680	0,654	0,434	0,632	0,677	0,681	0,626
96	0,093	0,076	0,125	0,089	0,073	0,124	0,097
97	0,019	–	–	0,021	–	0,008	0,008
Pt26081							
105	–	–	–	–	–	0,008	0,001
106	–	–	–	–	–	0,011	0,002

Окончание табл. 3
 Ending table 3

Аллель	Область						Среднее по Беларуси
	Брестская	Витебская	Гомельская	Гродненская	Минская	Могилёвская	
107	—	—	—	—	0,010	—	0,002
108	0,067	0,031	0,016	0,059	0,094	0,024	0,049
109	0,662	0,747	0,823	0,749	0,629	0,678	0,715
110	0,271	0,218	0,130	0,179	0,246	0,279	0,220
111	—	0,004	0,031	0,013	0,021	—	0,011
Pt71936							
138	0,007	—	—	—	—	0,037	0,007
139	0,099	0,010	0,033	0,017	0,018	0,010	0,031
140	0,464	0,598	0,600	0,578	0,571	0,482	0,549
141	0,394	0,377	0,367	0,386	0,399	0,471	0,399
142	0,036	0,015	—	0,019	0,012	—	0,014

Практически все аллели отмечены в двух и более проанализированных ельниках. Однако некоторые варианты являлись уникальными и могли встречаться на территории лишь одного лесхоза (Pt26081¹⁰⁵ – Белыничский лесхоз, Pt26081¹⁰⁶ – Кличевский лесхоз Могилёвской области, Pt26081¹⁰⁷ – Крупский лесхоз Минской области). Аллель Pt63718⁹⁰ обнаружен только в древостоях *P. abies* Брестского и Ивацевичского лесхозов Брестской области. Наибольшее количество аллельных вариантов (по 14 ед.) выявлено в Брестской и Могилёвской областях, наименьшее – в Гомельской области (12 ед.). По локусу Pt71936 на территории различных лесхозов мог доминировать либо аллельный вариант Pt71936¹⁴⁰, либо Pt71936¹⁴¹.

В ходе анализа регионального распределения частот встречаемости аллелей микросателлитных локусов хлоропластной ДНК *P. abies* в разрезе областей наибольшие отличия от среднего по Беларуси выявлены для еловой формации Гомельской области по Pt63718 и Pt26081, а также для еловой формации Брестской области по Pt71936. Так, на территории Гомельской области частота встречаемости аллельных вариантов Pt63718⁹¹ и Pt63718⁹⁴ выше, чем в среднем по Беларуси, в 1,7 и 1,6 раза соответственно, а частота встречаемости Pt63718⁹⁵ и Pt26081¹¹⁰ ниже в 1,4 и 1,7 раза. В Брестской области выявлена концентрация аллеля Pt71936¹³⁹ (в 3,2 раза выше, чем в среднем по Беларуси), отмечено снижение частоты аллеля Pt71936¹⁴⁰. На территории региона также обнаружена самая низкая доля встречаемости аллельного варианта Pt63718⁹⁴ (4,4 %). По-видимому, такие особенности генетической структуры еловой формации в Гомельской и Брестской областях связаны с зональностью распространения древесного вида. Именно по данным территориям проходит южная граница распространения *P. abies*, а точнее по северной окраине Полесской низменности, южнее которой отмечаются лишь островные местонахождения изучаемого вида [5].

Анализ распределения аллельных вариантов *P. abies* по 3 изученным локусам хлоропластной ДНК не выявил существенных географических особенностей (по доминирующему аллелю), однако некоторые различия (по аллелям с меньшей частотой встречаемости) были установлены. Так, по локусу Pt63718 между западными и восточными областями Беларуси наблюдаются отличия, связанные с повышением частоты встречаемости варианта Pt63718⁹⁴ в восточной части Беларуси, наличием Pt63718⁹⁰ на юго-западе страны (Брестский и Ивацевичский лесхозы Брестской области), присутствием Pt63718⁹³ в Житковичском лесхозе Гомельской области и Лепельском лесхозе Витебской области. Что касается еще одного редкого аллеля (Pt63718⁹⁷), то он обнаружен в ельниках Лунинецкого лесхоза Брестской области и Сморгонского опытного лесхоза Гродненской области (частота встречаемости 0,167), а также в Чаусском лесхозе Могилёвской области (частота встречаемости 0,067).

По локусу Pt71936 в западной части Беларуси увеличивается частота встречаемости варианта Pt71936¹³⁹ при практически полном отсутствии в восточной части. Он отмечен в Брестской и Гродненской областях, в западных частях Минской и Витебской областей, а также в островных ельниках на юге Гомельской области (Комаринский и Лельчицкий лесхозы), т. е. за пределами сплошного произрастания изучаемого вида. Подобная ситуация наблюдается и для Pt71936¹⁴² (за исключением того, что этот вариант отсутствовал в Гомельской области). Аллель Pt71936¹³⁸ обнаружен на территории трех

лесхозов Могилёвской области (Кличевского – с частотой 0,092, Могилёвского – 0,133, Чаусского – 0,071) и одного лесхоза Брестской области (Малоритского – 0,067).

По локусу Pt26081 несколько выделяется центральная часть Беларуси. Аллель Pt26081¹⁰⁸, достаточно часто встречающийся в этой зоне, отсутствует на периферии страны – в западной части Брестской области, северо-западной части Витебской области, восточных частях Могилёвской и Гомельской областей. Сходная картина наблюдается и для Pt26081¹¹¹. Следует отметить, что, хотя варианты Pt26081¹⁰⁵, Pt26081¹⁰⁶ и Pt26081¹⁰⁷ обнаружены на территории только одного из лесхозов – Белыничского, Кличевского и Крупского соответственно, – эти лесхозы примыкают друг к другу, располагаясь на границе Минской и Могилёвской областей. Географическое распространение редких аллелей позволяет скорее предположить их местное происхождение, а не привнесение с миграционными потоками.

Выявленные особенности распространения ряда аллельных вариантов локусов Pt63718 и Pt71936 хлоропластной ДНК несколько отличаются от данных по митохондриальной ДНК и более хорошо согласуются с результатами исследований по маркерам ядерной ДНК, что указывает в этом случае на влияние однородных факторов при перемещении генетического материала. На основании совокупности имеющихся результатов исследований можно говорить о различном влиянии пула материнских генов и пула отцовских генов на процессы гибридизации между представителями двух таксонов. Таким образом, распространение принесенного южным и северным миграционными потоками генетического материала по территории республики идет разнородно как во времени, так и в пространстве, при этом ельники значительной части лесхозов Гродненской, Минской и Гомельской областей представляют собой обширную зону гибридизации. На то, что обмен генов между южным и северным миграционными потоками *P. abies* осуществляется преимущественно посредством пыльцы, указывает также исследование ядерной и цитоплазматической ДНК, проведенное Ё. Цудой (Y. Tsuda) с соавторами [15].

Заключение

Исследована геногеографическая структура популяций *P. abies* на территории Беларуси с использованием маркеров ядерной и цитоплазматической ДНК. Выявлены 82 аллельных варианта 25 изоферментных генов, 19 аллельных вариантов локусов Pt63718, Pt26081, Pt71936 хлоропластной ДНК и 2 аллельных варианта локуса mt15-D02 митохондриальной ДНК. Установлено географическое распространение аллелей и рассмотрены региональные особенности геногеографической дифференциации еловой формации. Для еловых древостоев юга Беларуси, где пролегает южная граница сплошной области распространения *P. abies* и представлены ее островные местонахождения, частота встречаемости отдельных аллельных вариантов SSR-локусов хлоропластной ДНК (Гомельская область – Pt63718⁹¹, Pt63718⁹⁴, Pt63718⁹⁵, Pt26081¹¹⁰; Брестская область – Pt71936¹³⁹, Pt71936¹⁴⁰, Pt63718⁹⁴) имеет наиболее выраженные отклонения от средних значений по стране. Анализ изоферментов и хлоропластной ДНК показал наличие определенных региональных особенностей геногеографической структуры еловой формации в направлении с юга на север и с запада на восток; анализ митохондриальной ДНК – концентрацию на юго-западе Беларуси деревьев *P. abies* южного (карпатского) происхождения (имеют аллель mt15-D02¹²⁴⁹), а на остальной части страны – северного (boreального) происхождения (характеризуются вариантом mt15-D02⁷⁵³). Сопоставлены особенности географического распределения аллельных вариантов проанализированных локусов цитоплазматической ДНК с территориальным размещением формового разнообразия *P. abies* (деревья с тупо- и острочешуйчатыми формами шишек). На основании совокупности имеющихся результатов исследований можно говорить о различном влиянии пула материнских генов и пула отцовских генов на процессы гибридизации между представителями двух миграционных потоков на территории Беларуси.

Библиографические ссылки

1. Правдин ЛФ. Ель европейская и ель сибирская в СССР. Москва: Наука; 1975. 178 с.
2. Юркевич ИД, Голод ДС, Парфенов ВИ. Типы и ассоциации еловых лесов (по исследованиям в БССР). Минск: Наука и техника; 1971. 351 с.
3. Парфенов ВИ. Новые для флоры Белоруссии биологические формы ели обыкновенной. Доклады Академии наук БССР. 1964;8(3):188–191.
4. Юркевич ИД, Голод ДС, Парфенов ВИ. Типология и формовой состав еловых лесов Белоруссии. В: Жуков АБ, редактор. Вопросы лесоведения. Том 1. Красноярск: [б. и.]; 1970. с. 180–185.
5. Парфенов ВИ. Обусловленность распространения и адаптация видов растений на границах ареалов. Минск: Наука и техника; 1980. 205 с.
6. Krutovskii KV, Bergmann F. Introgressive hybridization and phylogenetic relationships between Norway, *Picea abies* (L.) Karst., and Siberian, *P. obovata* Ledeb., spruce species studied by isozyme loci. *Heredity*. 1995;74(5):464–480. DOI: 10.1038/hdy.1995.67.

7. Гончаренко ГГ, Падутов ВЕ. *Популяционная и эволюционная генетика елей Палеарктики*. Гомель: Институт леса НАН Беларусь; 2001. 197 с.
8. Maghuly F, Nittinger F, Pinsker W, Praznik W, Fluch S. Differentiation among Austrian populations of Norway spruce [*Picea abies* (L.) Karst.] assayed by mitochondrial DNA markers. *Tree Genetics & Genomes*. 2007;3(3):199–206. DOI: 10.1007/s11295-006-0055-z.
9. Jin-Hua Ran, Xiao-Xin Wei, Xiao-Quan Wang. Molecular phylogeny and biogeography of *Picea* (Pinaceae): implications for phylogeographical studies using cytoplasmic haplotypes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2006;41(2):405–419. DOI: 10.1016/j.ymprev.2006.05.039.
10. Litkowiec M, Dering M, Lewandowski A. Utility of two mitochondrial markers for identification of *Picea abies* refugial origin. *Dendrology*. 2009;61:65–71.
11. Dering M, Misiorny A, Lewandowski A, Korczyk A. Genetic and historical studies on the origin of Norway spruce in Białowieża Primeval Forest in Poland. *European Journal of Forest Research*. 2012;131(2):381–387. DOI: 10.1007/s10342-011-0510-8.
12. Потокина ЕК, Орлова ЛВ, Вишневская МС, Алексеева ЕА, Потокин АФ, Егоров АА. Генетическая дифференциация популяций ели на северо-западе России по результатам маркирования микросателлитных локусов. *Экологическая генетика*. 2012;10(2):40–49.
13. Aizawa M, Yoshimaru H, Ogawa H, Goto S, Kaji M. Natural hybridization of Yezo and Sakhalin spruce in central Hokkaido, revealed by DNA markers with contrasting modes of inheritance. *Plant Species Biology*. 2016;31(3):188–195. DOI: 10.1111/1442-1984.12101.
14. Мудрик ЕА, Полякова ТА, Шатохина АВ, Бондаренко ГН, Политов ДВ. Пространственное распределение гаплотипов второго интрана гена *nad1* в популяциях комплекса европейской и сибирской ели (*Picea abies* – *P. obovata*). *Генетика*. 2015;51(10):1117–1125. DOI: 10.7868/S0016675815100124.
15. Tsuda Y, Chen J, Stocks M, Källman T, Sønstebo JH, Parducci L, et al. The extent and meaning of hybridization and introgression between Siberian spruce (*Picea obovata*) and Norway spruce (*Picea abies*): cryptic refugia as stepping stones to the west? *Molecular Ecology*. 2016;25(12):2773–2789. DOI: 10.1111/mec.13654.
16. Harris H, Hopkinson DA. *Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics (with supplements)*. Amsterdam: North-Holland Publishing Company; 1978. [360 p.].
17. Wendel JF, Stuber CW. Plant isozymes: enzymes studied and buffer systems for their electrophoretic resolution in starch gels. *Isozyme Bulletin*. 1984;17:4–11.
18. Cheliak WM, Pitel JA. *Techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from forest tree species*. Ottawa: Canadian Forestry Services; 1984. 49 p. Information report No.: PI-X-42.
19. Гончаренко ГГ, Падутов ВЕ, Потенко ВВ. *Руководство по исследованию хвойных видов методом электрофоретического анализа изоферментов*. 2-е издание. Гомель: Белорусский научно-исследовательский институт лесного хозяйства; 1989. 163 с.
20. Падутов ВЕ, Баранов ОЮ, Воропаев ЕВ. *Методы молекулярно-генетического анализа*. Минск: Юніпол; 2007. 176 с.
21. Bucci G, Vendramin GG. Delineation of genetic zones in the European Norway spruce natural range: preliminary evidence. *Molecular Ecology*. 2000;9(7):923–934. DOI: 10.1046/j.1365-294x.2000.00946.x.
22. Экарт АК, Семерикова СА, Семериков ВЛ, Кравченко АН, Дымшакова ОС, Ларионова АЯ. Применение различных типов генетических маркеров для оценки уровня внутривидовой дифференциации ели сибирской. *Сибирский лесной журнал*. 2014;4:84–91.
23. Нейштадт МИ. *История лесов и палеогеография СССР в голоцене*. Москва: Издательство Академии наук СССР; 1957. 403 с.
24. Голубец МА. Современная трактовка объема вида *Picea abies* (L.) Karst. и его внутривидовых таксонов. *Ботанический журнал*. 1968;53(8):1048–1062.
25. Юркевич ИД, Парфенов ВИ. К вопросу о систематике *Picea abies* (L.) Karst. *Бюллетень Главного ботанического сада*. 1967;64:41–48.
26. Парфенов ВИ. Флора Полесья как модель современной и прогнозной динамики флоры умеренной зоны. В: *Ботаника. Исследования. Выпуск 22*. Минск: Наука и техника; 1980. с. 48–56.

References

1. Pravdin LF. *El' evropeiskaya i el' sibirskaya v SSSR* [Norway spruce and Siberian spruce in the USSR]. Moscow: Nauka; 1975. 178 p. Russian.
2. Yurkevich ID, Golod DS, Parfenov VI. *Tipy i assotsiatsii elovykh lesov (po issledovaniyam v BSSR)* [Types and associations of spruce forests (according to research in the BSSR)]. Minsk: Nauka i tekhnika; 1971. 351 p. Russian.
3. Parfenov VI. [Biological forms of Norway spruce, new for the flora of Belarus]. *Doklady Akademii nauk BSSR*. 1964;8(3):188–191. Russian.
4. Yurkevich ID, Golod DS, Parfenov VI. [Typology and shape composition of spruce forests in Belarus]. In: Zhukov AB, editor. *Voprosy lesovedeniya. Tom 1* [Questions of forest science. Volume 1]. Krasnoyarsk: [s. n.]; 1970. p. 180–185. Russian.
5. Parfenov VI. *Obuslovленность распространения и адаптации видов растений на границах ареалов* [Conditionality of distribution and adaptation of plant species at the boundaries of areas]. Minsk: Nauka i tekhnika; 1980. 205 p. Russian.
6. Krutovskii KV, Bergmann F. Introgressive hybridization and phylogenetic relationships between Norway, *Picea abies* (L.) Karst., and Siberian, *P. obovata* Ledeb., spruce species studied by isozyme loci. *Heredity*. 1995;74(5):464–480. DOI: 10.1038/hdy.1995.67.
7. Goncharenko GG, Padutov VE. *Populyatsionnaya i evolyutsionnaya genetika elei Palearktiki* [Population and evolutionary genetics of Palearctic spruces]. Gomel: Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus; 2001. 197 p. Russian.
8. Maghuly F, Nittinger F, Pinsker W, Praznik W, Fluch S. Differentiation among Austrian populations of Norway spruce [*Picea abies* (L.) Karst.] assayed by mitochondrial DNA markers. *Tree Genetics & Genomes*. 2007;3(3):199–206. DOI: 10.1007/s11295-006-0055-z.
9. Jin-Hua Ran, Xiao-Xin Wei, Xiao-Quan Wang. Molecular phylogeny and biogeography of *Picea* (Pinaceae): implications for phylogeographical studies using cytoplasmic haplotypes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2006;41(2):405–419. DOI: 10.1016/j.ymprev.2006.05.039.

10. Litkowicz M, Dering M, Lewandowski A. Utility of two mitochondrial markers for identification of *Picea abies* refugial origin. *Dendrology*. 2009;61:65–71.
11. Dering M, Misiorny A, Lewandowski A, Korczyk A. Genetic and historical studies on the origin of Norway spruce in Białowieża Primeval Forest in Poland. *European Journal of Forest Research*. 2012;131(2):381–387. DOI: 10.1007/s10342-011-0510-8.
12. Potokina EK, Orlova LV, Vishnevskaya MS, Alekseeva EA, Potokin AF, Egorov AA. Genetic differentiation of spruce populations in northwest Russia revealed with microsatellite markers. *Ecological genetics*. 2012;10(2):40–49. Russian.
13. Aizawa M, Yoshimaru H, Ogawa H, Goto S, Kaji M. Natural hybridization of Yezo and Sakhalin spruce in central Hokkaido, revealed by DNA markers with contrasting modes of inheritance. *Plant Species Biology*. 2016;31(3):188–195. DOI: 10.1111/1442-1984.12101.
14. Mudrik EA, Polyakova TA, Shatokhina AV, Bondarenko GN, Politov DV. Spatial distribution of intron 2 of *nad1* gene haplotypes in populations of Norway and Siberian spruce (*Picea abies* – *P. obovata*) species complex. *Genetika*. 2015;51(10):1117–1125. Russian. DOI: 10.7868/S0016675815100124.
15. Tsuda Y, Chen J, Stocks M, Källman T, Sønstebo JH, Parducci L, et al. The extent and meaning of hybridization and introgression between Siberian spruce (*Picea obovata*) and Norway spruce (*Picea abies*): cryptic refugia as stepping stones to the west? *Molecular Ecology*. 2016;25(12):2773–2789. DOI: 10.1111/mec.13654.
16. Harris H, Hopkinson DA. *Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics (with supplements)*. Amsterdam: North-Holland Publishing Company; 1978. [360 p.].
17. Wendel JF, Stuber CW. Plant isozymes: enzymes studied and buffer systems for their electrophoretic resolution in starch gels. *Isozyme Bulletin*. 1984;17:4–11.
18. Cheliak WM, Pitel JA. *Techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from forest tree species*. Ottawa: Canadian Forestry Services; 1984. 49 p. Information report No.: PI-X-42.
19. Goncharenko GG, Padutov VE, Potenko VV. *Rukovodstvo po issledovaniyu khvoinykh vidov metodom elektroforeticheskogo analiza izofermentov* [Manual for the study of coniferous species by the method of electrophoretic analysis of isoenzymes]. 2nd edition. Gomel: Belorusskii nauchno-issledovatel'skii institut lesnogo khozyaistva; 1989. 163 p. Russian.
20. Padutov VE, Baranov OYu, Voropaev EV. *Metody molekul'arno-geneticheskogo analiza* [Methods of molecular genetic analysis]. Minsk: Yunipol; 2007. 176 p. Russian.
21. Bucci G, Vendramin GG. Delineation of genetic zones in the European Norway spruce natural range: preliminary evidence. *Molecular Ecology*. 2000;9(7):923–934. DOI: 10.1046/j.1365-294x.2000.00946.x.
22. Ekart AK, Semerikova SA, Semerikov VL, Kravchenko AN, Dymshakova OS, Larionova AY. The use of genetic markers of various types for evaluation of intraspecific differentiation level of the Siberian spruce]. *Sibirskii lesnoi zhurnal*. 2014;4:84–91. Russian.
23. Neishardt MI. *Istoriya lesov i paleogeografiya SSSR v golotsene* [History of forests and paleogeography of the USSR in the Holocene]. Moscow: Publishing House of the Academy of Sciences of the USSR; 1957. 403 p. Russian.
24. Golubets MA. [Modern interpretation of the volume of the species *Picea abies* (L.) Karst. and its intraspecific taxa]. *Botanicheskii zhurnal*. 1968;53(8):1048–1062. Russian.
25. Yurkevich ID, Parfenov VI. [On the taxonomy of *Picea abies* (L.) Karst.]. *Byulleten' Glavnogo botanicheskogo sada*. 1967; 64:41–48. Russian.
26. Parfenov VI. [Flora of Polesie as a model of modern and forecast dynamics of the flora of the temperate zone]. In: *Botanika. Issledovaniya. Vypusk 22* [Botany. Researches. Issue 22]. Minsk: Nauka i tekhnika; 1980. p. 48–56. Russian.

Статья поступила в редакцию 01.02.2021.
Received by editorial board 01.02.2021.