

© Ю. В. Михайлова<sup>1,3</sup>,  
Г. Л. Гусарова<sup>2,3</sup>, К. Брехман<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Ботанический институт  
им. В. Л. Комарова РАН,  
Санкт-Петербург

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный университет,  
Санкт-Петербург

<sup>3</sup> Национальный центр биосистематики, Университет г. Осло

✿ С помощью мультилокусных маркеров AFLP была изучена молекулярная изменчивость в 49 популяциях *Silene acaulis*. Получены данные в пользу послеледниковой колонизации севера из рефугиумов, расположенных в горных районах юга Европы. Большинство северо-европейских популяций характеризуются низким уровнем генетического разнообразия и слабо выраженной генетической структурой, по сравнению с южными монтанными популяциями. Колонизация *Silene acaulis* высокоарктического архипелага Шпицберген осуществлялась из разных источников, среди которых наиболее значимым была восточная Гренландия.

✿ **Ключевые слова:** филогеография; *Silene acaulis*; четвертичный период; AFLP; рефугиум; послеледниковая колонизация; аркто-альпийская флора.

## МОЛЕКУЛЯРНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ И ФИЛОГЕОГРАФИЯ СМОЛЕВКИ БЕССТЕБЕЛЬНОЙ *SILENE ACAULIS* (L.) JACQ. (CARYOPHYLLACEAE) НА СЕВЕРЕ ЕВРОПЫ И АРХИПЕЛАГЕ ШПИЦБЕРГЕН

### ВВЕДЕНИЕ

Климатические изменения плейстоцена оказали значительный эффект на формирование арктической флоры. Сухой и холодный климат во время покровных оледенений сменялся относительно благоприятным в периоды межледниковий. Ледник отступал и распространялся неоднократно, изменяя места обитания живых организмов, которые были вынуждены мигрировать или погибать. Виды, приспособленные к суровому холодному климату, имели более широкое распространение по сравнению с их современным ареалом (Birks, 2008). Местом их обитания была обширная тундростепь. Виды более умеренного климата находили убежища (рефугиумы) на юге, на непокрытых льдом территориях. Таким образом, бореальные виды переживали «эффект бутылочного горлышка» в ледниковый период, тогда как приспособленные к экстремальным арктическим условиям — в периоды межледниковья.

Значительный вклад в изучение вопросов истории послеледниковой расселения видов внесли филогеографические исследования последнего времени. Зная генетическое разнообразие и структуру видов, можно предположить, как формировались их современные ареалы. Области, которые были рефугиумами, должны иметь высокий уровень генетического разнообразия, тогда как территории, заселенные после отступления ледника, — более низкий из-за эффекта основателя и дрейфа генов. Исключением могут быть контактные зоны или зоны «швов» — участки, где мигранты из двух различных рефугиумов встретились во время послеледниковой реколонизации (Hewitt, 1996).

Для наиболее полной характеристики генетической изменчивости вида необходимо изучение достаточного числа локусов. С этой точки зрения наиболее интересны многолокусные маркеры, в частности, полиморфизм длины амплифицированных фрагментов (AFLP) (Vos et al., 1995). Статистические подходы анализа многолокусных данных, включая методы Байесовской классификации, позволяют тестировать сложные филогеографические гипотезы, например, о географическом местонахождении ледниковых убежищ и происхождении современных популяций. Так, для голубики, ключевого компонента северных экосистем, с использованием хпДНК, ITS и AFLP показана очень сложная генетическая структура, которая объясняется быстрым распространением из ряда рефугиумов с формированием нескольких контактных зон (Eidessen et al., 2007-a).

Смолевка бесстебельная — аркто-альпийский вид, довольно обычный в тундровых и высокогорных сообществах (Кожанчиков и др., 1971). Вид представлен многолетними, подушковидными, насекомоопыляемыми и гинодудомными растениями, причем в северных регионах доля гермафродитных особей меньше (Sastad, 1991). Изучение аллозимной изменчивости смолевки бесстебельной в популяциях с территории Шпицбергена, Норвегии, Исландии и Шотландии показало, что популяции из высокой Арктики (Шпицберген) имеют высокий уровень изменчивости, сходный с таковым, выявленным у более южных популяций (Abbott et al., 1995). Анализ полиморфизма длины рестрикционных фрагментов хпДНК, проведенный в этой же работе, выявил,

Поступила в редакцию 23.04.2010.  
Принята к публикации 15.07.2010.

что все изученные популяции имели общий гаплотип. По этим результатам было сделано заключение о возможном послеледниковом заселении смолевкой бесстебельной северных территорий из южных рефугиумов. Выводы, полученные в работе Abbott et al. (1995), основаны на изучении аллозимной изменчивости лишь семи генных локусов.

Настоящая работа ставит своей целью изучить уровень и структуру генетического разнообразия *Silene acaulis* на европейском Севере с использованием мультилокусных маркеров AFLP, а также выявить географические территории, послужившие возможными источниками заселения этим видом архипелага Шпицберген. Кроме того, сравнение северо- и южноевропейских популяций послужит материалом для оценки гипотезы Abbott et al. (1995) о происхождении северо-европейских популяций смолевки бесстебельной.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Материалы

В работе было использовано 250 растений вида *Silene acaulis* из 49 популяций, из основных мест распространения вида в Северной Европе (табл. 1). Для получения более точной информации об истории вида в анализ включено несколько популяций из ряда мест с юга Европы и востока Канады. Число растений на популяцию варьировало от 2 до 11. Для генетического анализа использовались образцы, высушенные в силикагеле. Весь материал в силикагеле и гербарий ваучеров ДНК хранятся в Ботаническом музее Университета Осло, Норвегия (О).

### Выделение ДНК и AFLP фингерпринтинг

Тотальная ДНК выделялась из измельченной растительной ткани с помощью наборов DNeasy Plant 96 Kit и DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany) согласно инструкциям производителя. Образцы ДНК хранятся в банке ДНК Национального центра биосистематики Университета Осло.

AFLP фингерпринтинг проводился с использованием рестриктаз *EcoRI* и *MseI* согласно Gaudeul et al. (2000) с модификациями Alsos et al. (2007), за исключением того, что для этапа рестрикции-лигирования использовалось 5 µl выделенной ДНК. Для выбора подходящих комбинаций праймеров были протестированы 24 пары праймеров. Для дальнейшего анализа были выбраны следующие комбинации: *EcoRI*-AGA/*MseI*-CTG, *EcoRI*-AGG/*MseI*-CAG и *EcoRI*-AGC/*MseI*-CTC. 2–3 µl флуоресцентно меченого продукта каждой из трех селективных ПЦР соединялись и растворялись в 14 µl очищенной воды перед смешиванием со стандартом GeneScan ROX 500 (Applied Biosystems) и формамидом, после чего анализировались на ABI3130x1 ДНК-секвенаторе (Applied Biosystems). Полученные хроматограммы были обра-

ботаны с использованием внутреннего стандарта в программе GENEMAPPER 4.0 (Applied Biosystems) для установления длин полученных фрагментов. После этого фрагменты, различающиеся по длине менее, чем одна пара нуклеотидов (п. н.) были объединены вручную. В анализ были включены фрагменты размером от 50 до 500 п. н. Наличие или отсутствие фрагмента кодировалось как «1» или «0», соответственно.

Для контроля воспроизводимости маркеров были выполнены повторы на разных этапах анализа. Фрагменты с низкой повторяемостью были исключены из анализа. Повторные образцы были использованы для оценки ошибки по Bonin et al. (2004).

### Анализ данных

Внутрипопуляционная изменчивость была рассчитана как генетическое разнообразие по Nei (Nei, 1987) с помощью утилиты AFLPdat (Ehrich, 2006) в программной среде R (R Development Core Team, 2004). Индекс редкости маркеров AFLP (DW) оценен с помощью понижающего взвешивания по частоте маркеров (Schönswetter, Tribsch, 2005), также с помощью AFLPdat. Для этого частота встречаемости конкретного маркера в популяции была разделена на сумму встречаемости этого же маркера во всем массиве данных. Индекс редкости маркеров и внутрипопуляционная изменчивость были рассчитаны для всех популяций с пятью индивидуумами в выборке.

Матрица с результатами AFLP была конвертирована в формат для программ ARLEQUIN, STRUCTURE и BAPS с помощью R-скрипта AFLPdat. Анализ молекулярной дисперсии (AMOVA: analysis of molecular variance) был проведен в программе ARLEQUIN 3.11 (Excoffier et al., 2005), на основе попарного и иерархического сравнения образцов с использованием 1000 пермутаций.

Генетическая структура была проанализирована с помощью модель-ориентированных алгоритмов в компьютерных программах STRUCTURE 2.2 (Pritchard et al., 2000; Falush et al., 2007), BAPS 5 (Corander & Marttinen, 2006) и анализа главных координат в NTSYS-PC 2.02h (Rohlf, 1998). В программе STRUCTURE 2.2 оптимальное число групп популяций (K) определяется с помощью логарифма вероятности разделения индивидуумов по K числу групп, которое рассчитывается с использованием Байесовской кластеризации, основанной на модели Харди-Вайнберга. Анализ выполнялся на Биопортале Университета г. Осло (<http://www.bioportal.uio.no/>). Использовались две модели: “admixture” и “no admixture”. Для модели “admixture” возможно смешанное происхождение популяций, тогда как для модели “no admixture” предки представителей одной популяции могут принадлежать только к одному кластеру. Анализ для K от 1 до 10 проводился с 1000000 итерациями, при выжигании (burn-in) в 200000 итераций, для каждого K анализ повторялся 10 раз. Графическое представление и анализ результатов осуществлялись с помощью утилиты Structure-sum 2009

Таблица 1

Популяции *Silene acaulis*, вошедшие в исследование

Код популяции	Число растений	Место сбора	Коллектор, год сбора	У Координата (долготы)	Х Координата (широты)
93-100	3	Шпицберген, Земля Уэдела Ярсберга (Wedel Jarlsberg Land)	CB, 1993	77	15,55
93-103	5	Шпицберген, Земля Уэдела Ярсберга (Wedel Jarlsberg Land)	CB, 1993	77,04	15,16
93-108	5	Шпицберген, Земля Норденшельда (Nordenskiöld Land)	CB, 1993	77,51	14,5
93-148	5	Шпицберген, Земля Диксона (Dickson Land)	CB, 1993	78,4	14,38
93-151	5	Шпицберген, Земля Оскара II (Oscar II Land)	CB, 1993	78,4	14,38
93-156	4	Шпицберген, Земля Диксона (Dickson Land)	CB, 1993	78,52	15,95
93-169	5	Шпицберген, Земля Бунсов (Bunsow Land)	CB, 1993	78,58	16,44
93-191	3	Шпицберген, Земля Андре (Andree Land)	CB, 1993	79,67	14,27
93-196	5	Шпицберген, Земля Оскара II (Oscar II Land)	CB, 1993	78,22	13,84
93-215	5	Шпицберген, Земля Норденшельда (Nordenskiöld Land)	АН, 1993	78,17	15,98
93-224	5	Шпицберген, Земля Норденшельда (Nordenskiöld Land)	АН, 1993	78,23	15,43
93-240	3	Шпицберген, Земля Норденшельда (Nordenskiöld Land)	CB, 1993	78,16	15,83
93-244	5	Шпицберген, Земля Сабин (Sabine Land)	АН, 1993	78,35	17
93-522	5	Шпицберген, Земля Норденшельда (Nordenskiöld Land)	АН, 1993	77,87	15,32
93-272	5	Шпицберген, Земля Норденшельда (Nordenskiöld Land)	АН, 1993	78,18	16,33
93-273	5	Шпицберген, Земля Норденшельда (Nordenskiöld Land)	АН, 1993	78,19	15,52
93-285	5	Шпицберген, Земля Оскара II (Oscar II Land)	АН, 1993	78,84	12,17
93-293	5	Шпицберген, Земля Оскара II (Oscar II Land)	АН, 1993	78,92	11,95
93-307	5	Шпицберген, Земля Хокона VII (Haakon VII Land)	АН, 1993	78,83	12
93-316	5	Шпицберген, Медвежий остров (Bjørnøya)	VB, 1993	74,46	18,9
94-392	2	Норвегия, Сер-Треннелэг (Sør-Trøndelag)	CB, 1994	62,6	9,7
94-450	5	Норвегия, Бускеруд (Buskerud)	CB, ММТ, TMG, 1994	60,63	8,56
94-454	5	Норвегия, Бускеруд (Buskerud)	CB, ММТ, TMG, 1994	60,86	8,55
94-456	5	Норвегия, Оппланн (Oppland)	CB, 1994	61,13	8,57
94-522	5	Норвегия, Хураланн (Hordaland)	TMG, ММТ, 1994	60,57	6,92
94-534	5	Норвегия, Оппланн (Oppland)	CB, ММТ, TMG, 1994	61,84	8,57
AK-1345	11	Норвегия, Финмарк (Finnmark)	ØS, KH, 2004	70,07	30,11
AK-3131	6	Испания, Уэска (Huesca)	TG, JV, LV, 2004	42,14	-0,41
AK-3132	2	Испания, Уэска (Huesca)	TG, JV, LV, 2004	42,66	-0,59
CB-96-004	6	Испания, Каталония (Catalonia)	CB, 1996	42,18	2,49
CB-99-002	5	Гренландия, Земля Джеймса (Jameson Land)	CB, JN, PB, SK, 1999	70,75	-22,71
CB-99-037	5	Гренландия, Ливерпульская земля (Liverpool Land)	CB, JN, PB, SK, 1999	70,49	-21,95
HØG-95	9	Исландия, Странсисла (Strandsysla)	AKB, 1995	65,73	-22,1
SUP-04-006	6	Норвегия, Оппланн (Oppland)	HC, 2004	61,62	8,04
SUP-3011	5	Канада, Ньюфаундленд (Newfoundland)	IGA, AKB, 2004	51,36	-55,67
SUP-3013	5	Россия, республика Коми	IGA, AT, 2004	65,3	60,67
SUP-3019	6	Канада, Квебек (Quebec)	IGA, AKB, 2004	48,93	-66,18
SUP-3078	5	Шпицберген, Земля Серкап (Sørkapp Land)	MHJ, IS, 2004	76,94	15,88
SUP-3085	6	Шпицберген, Земля Уэдела Ярсберга (Wedel Jarlsberg Land)	MHJ, IS, 2004	77,07	15,18
SUP-3114	6	Польша, Краков, Татры (Krakow, Tatra Mts.)	PS, MR, 2004	49,24	19,91
SUP-3126	5	Шпицберген, Земля Уэдела Ярсберга (Wedel Jarlsberg Land)	MHJ, IS, 2004	77,01	15,57
SUP-3133	5	Шпицберген, Земля Уэдела Ярсберга (Wedel Jarlsberg Land)	MHJ, IS, 2004	77,01	15,57
SUP-4212	5	Польша, Краков, Татры (Krakow, Tatra Mts.)	PS, MR, 2004	49,17	20,14
SUP-4485	5	Россия, Ямало-Ненецкий АО, Полярный Урал	MK	65,45	66,84
SWS-97-310	10	Гренландия, Местерсвик (Mestersvik)	EH, 1997	72,25	-23,97
TMG-44	6	Соединенное Королевство, Шотландия, Аргайл, (Scotland, Argyll county)	TMG, SWS, KTH, MT, KWa, 1997	56,64	-5,03
TMG-52	2	Соединенное Королевство, Шотландия, Инвернесс, (Scotland, Inverness)	TMG, SWS, KTH, MT, KWa, 1997	56,8	-5
TMG-58	4	Соединенное Королевство, Шотландия, Пертшир, (Scotland, Perthshire)	TMG, SWS, KTH, MT, KWa, 1997	56,54	-4,22
ZSNG	5	Гренландия, Исследовательская станция Закенберг (Zackenber Station)	KWe, KB, TD	74,47	-20,57

Инициалами обозначены коллекторы растительного материала: АН — A. Håpenes, АKB — A. K. Brysting, АТ — A. Tribsch, CB — C. Brochmann, EH — E. Hartz, HC — H. Carlsen, IGA — I. G. Alsos, IS — I. Skrede, JN — J. Nylehn, JV — J. Vallès, KB — K. Bakke, KH — K. Hansen, KT — M. Tebbitt, KTH — K. T. Hansen, KWa — K. Watson, KWe — K. Westergaard, LV — L. Villar, MHJ — M. H. Jørgensen, MK — M. Kapralov, ММТ — M. M. Tollefsrud, MR — M. Ronikier, ØS — Ø. Stensrud, PB — P. Bronken, PS — P. Schönswetter, SK — S. Kjølnær, SWS — S. W. Steen, TD — T. Dahl, TG — T. Garnatje, TMG — T. M. Gabrielsen, VB — V. Bakken.

(Ehrlich, 2006; Ehrlich et al., 2007; www.nhm.uio.no/ncb) в среде R. В BAPS 5 используются байесовский подход и алгоритм стохастической оптимизации для оценки логарифма правдоподобия партиции, которая разделяет все индивидуумы на определенное число кластеров (K). Данные были проанализированы с помощью программы BAPS 5 троекратно при максимальных значениях K равных 30. Кроме того, анализ генетической структуры проводился с помощью метода главных координат на основе коэффициента сходства Дайса в NTSYS-PC 2.02h.

Определение вероятных предковых популяций, заселявших архипелаг Шпицберген (assignment test) проводилось с помощью программы AFLPOP (Duchesne, Bernatchez, 2002). Набор данных был разделен на группы, согласно их географической принадлежности. Каждая из групп тестировалась как возможная предковая популяция для растений Шпицбергена. Правдоподобие определялось на основе сравнения частот маркеров AFLP. Идентификация предковых популяций считалась достоверной при различии значений логарифмов правдоподобия больше, чем три.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

С помощью трех комбинаций праймеров было успешно проанализировано 212 растений из 49-ти популяций по 279 полиморфным локусам. Ошибка была рассчитана из 66 повторно выполненных образцов, ее значение не превосходило 2,4 %. Фрагменты, полиморфные в числе образцов, составляющих менее 2,4 % от общего количества, исключались из анализа, кроме тех случаев, когда они были характерны для группы популяций из одного региона и, таким образом, несли смысловую нагрузку. В анализе были использованы следующие наборы данных: Европа вместе с востоком Канады (279 полиморфных локусов), только Европа (272 полиморфных локуса), северная Европа (240 полиморфных локусов), южная Европа вместе с Уралом (204 полиморфных локуса) и отдельно высокоарктический архипелаг Шпицберген (197 полиморфных локусов).

### Генетическое разнообразие

Внутрипопуляционное генетическое разнообразие, посчитанное по Nei, варьировало от 0,06 до 0,19 (рис. 1А). Максимальные значения наблюдались в популяции из Пиренеев (0,19), относительно велики значения были в популяциях из Карпат (0,17) и разных частей Норвегии (0,14–0,16), а также в двух популяциях с архипелага Шпицберген, одна из которых обитает на острове Медвежий (0,14). Крайне низкий уровень генетического разнообразия наблюдался в популяции из Квебека (0,06), невысокие значения были характерны для нескольких популяций из Шпицбергена и одной из Гренландии (0,08–0,10).

Значение индекса частоты редких аллелей (DW) варьировало от 4,8 до 23,0 (рис. 1Б). Высокая частота редких аллелей наблюдалась в популяциях из Пиренеев

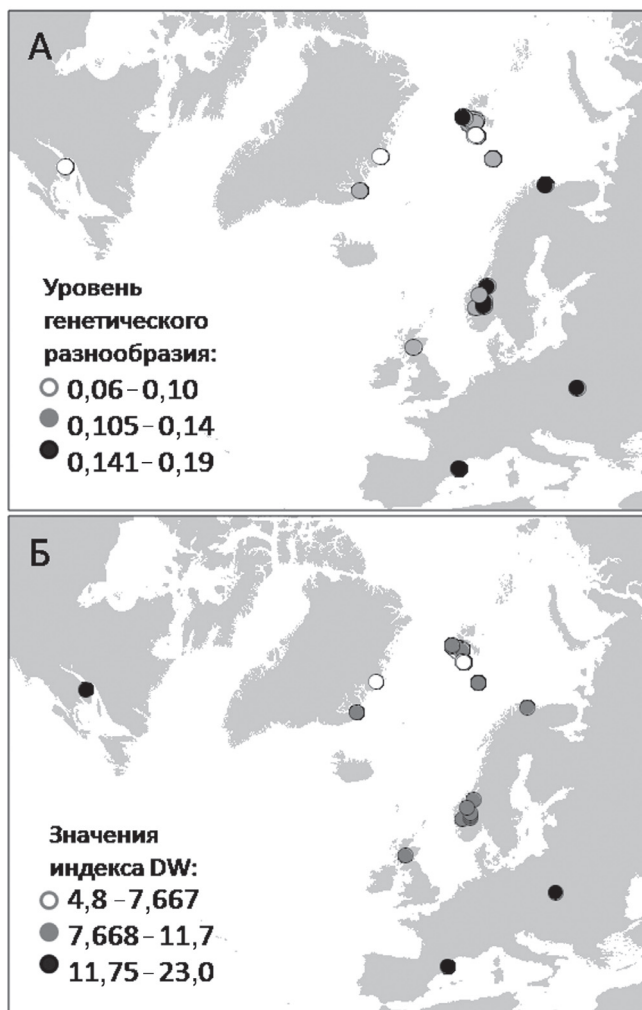


Рис. 1. Внутрипопуляционное разнообразие (А) и индекс частоты редких аллелей (Б) в популяциях *Silene acaulis*

(23,0), Карпат (19,9), а также Квебека (15,9). Среди североευропейских популяций большие значения индекса наблюдались у растений из разных частей Норвегии (9,2–11,7), Шотландии (11,2), одной популяции из Гренландии (11,4), ряда популяций со Шпицбергена (10,2–8,6), среди них из острова Медвежий (8,6). Очень низким значение DW было у ряда популяций с острова Западный Шпицбергена (4,8–5,0).

### Генетическая структура

Анализ всего амфиатлантического набора данных с помощью метода главных координат (PCo) показывает значительное отделение представителей *Silene acaulis* с востока Канады от европейских (рис. 2Г). При обработке наборов данных, включавших как популяции с обоих берегов Атлантики (рис. 2Г), так и только из Европы (рис. 2А) было выявлено, что европейские популяции разделяются на северные и южные по первому фактору (около 15 % общей изменчивости). По второму фактору (3,5 %) не было выявлено значительных различий. По третьему фактору



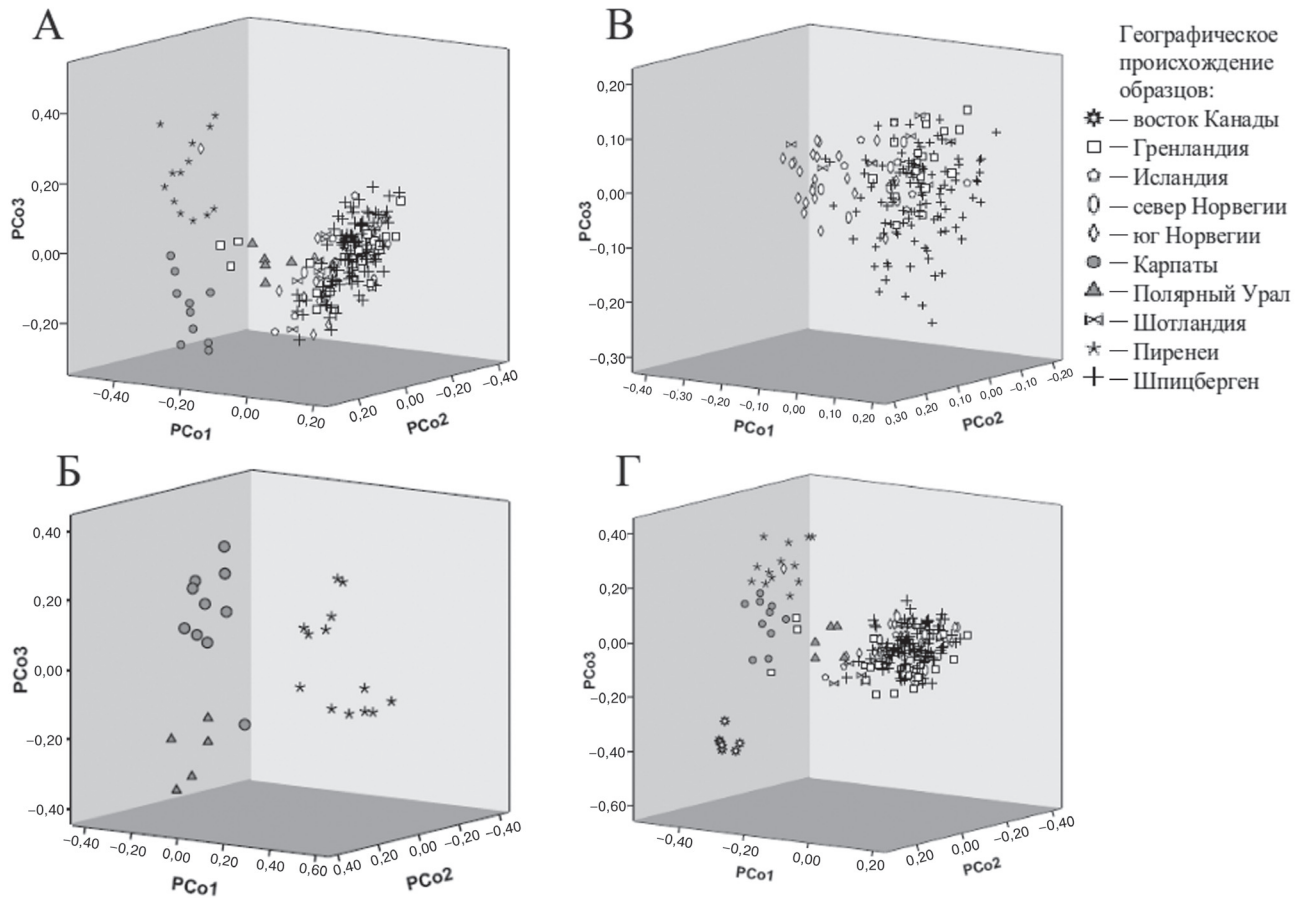


Рис. 2. Генетическая структура популяций *Silene acaulis* (метод выделения главных координат): европейские растения (А), южноевропейские и уральские растения (Б), североευропейские растения (В), растения Европы и востока Канады (Г). PCo — главная координата

(3,5 %) расходятся популяции с юга и центра Европы: Пиренеев и Карпат. Южноевропейские популяции формируют две небольшие близкие группы на графике, тогда как северные показывают значительный разброс. Отдельный анализ популяций из Полярного Урала, Пиренеев и Карпат выявил группы, соответствующие географическому происхождению образцов (рис. 2Б). Отдельный анализ севера Европы показал некоторую обособленность популяций юга Норвегии и Шотландии (рис. 2В). Сравнение популяций архипелага Шпицберген с помощью PCo не выявило какой-либо генетической структуры.

В анализе STRUCTURE число групп отличалось при использовании различных моделей. В более простой модели «по admixture» было выявлено пять кластеров: канадский, пиренейский и уралокарпатский и два североευропейских (рис. 3А). Североευропейские растения разделились на две перекрывающиеся группы, причем растения из одной популяции принадлежали, в некоторых случаях, к разным генетическим группам. Несколько растений из двух популяций с севера Европы попадали в южноевропейскую группу. С использованием модели «admixture», которая учитывает возможность происхождения популя-

ций от разных кластеров, было идентифицировано четыре генетические группы: канадская, южноевропейская и две североευропейских (рис. 3Б). Пиренейские, карпатские и уральские растения оказались в одной южноевропейской, или монтанной, группе. 21 образец из Гренландии, Норвегии и Западного Шпицбергена трудно было однозначно отнести к одной из двух групп.

Программой BAPS было идентифицировано четыре кластера, по составу сходных с генетическими группами, выявленных STRUCTURE при модели «admixture» (рис. 3В).

#### AMOVA — анализ молекулярной дисперсии

По результатам AMOVA (табл. 2) большая доля изменчивости (79,62 %) приходится на общую внутривидовую изменчивость. При иерархических анализах значительные доли молекулярной дисперсии были между канадскими и европейскими растениями (31,33 %), меньше при разделении европейских популяций на северные и южные (14,39 %), а также между четырьмя группами (север Европы, Пиренеи, Карпаты, Урал — 11,83 %). Анализ североευропейских и шпицбергенских

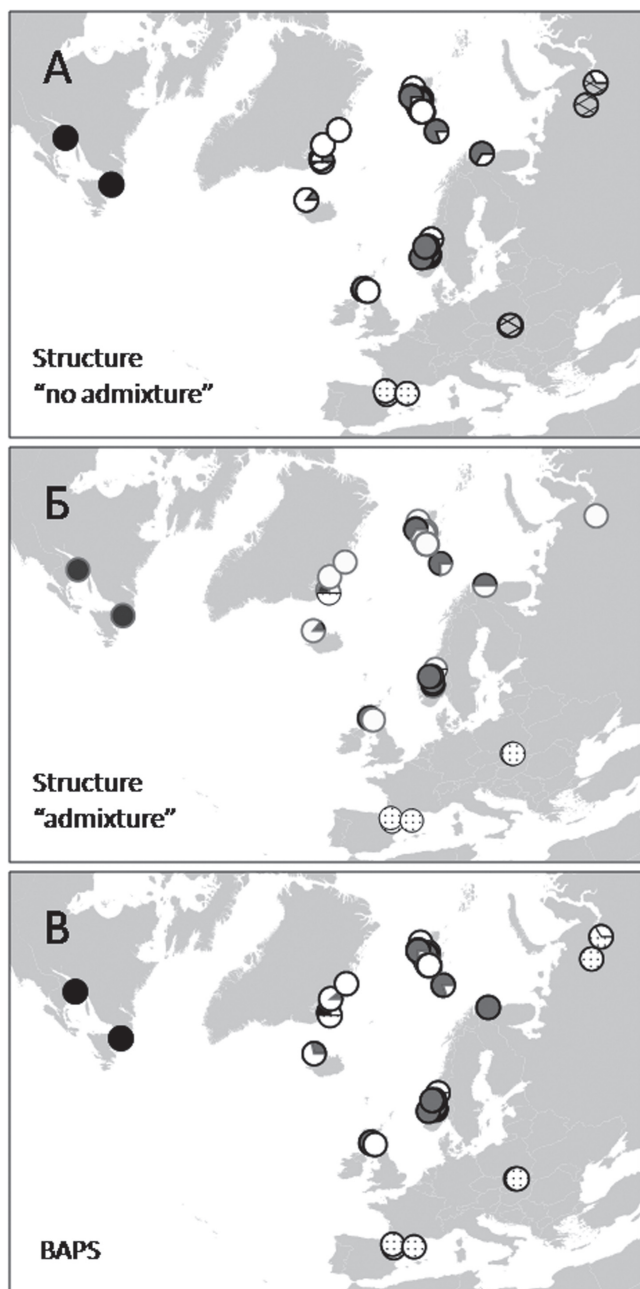


Рис. 3. Генетическая структура популяций *Silene acaulis* согласно кластеризации в программе STRUCTURE, модель «no admixture» (А), в программе STRUCTURE, модель «admixture» (Б) и в программе BAPS (В). Раскрашенные и исчерченные кружочки отражают принадлежность к генетическим группам. Двухцветные кружочки показывают генетически гетерогенные популяции

популяций показал, что доля внутрипопуляционной изменчивости значительно превосходит межгрупповую.

**Тест определения вероятных предковых популяций**

В качестве вероятных предковых популяций для архипелага Шпицберген были выбраны популяции юж-



Рис. 4. Тест локализации возможных родительских популяций *Silene acaulis* на Шпицбергене. По оси ординат — число растений

ной и северной Норвегии, Урала, западной Гренландии, Шотландии, Исландии, Пиренеев и Карпат. Из 112 проанализированных шпицбергенских образцов *Silene acaulis* 46 были отнесены к гренландской популяции. Несколько растений были отнесены к родительским популяциям из Исландии (9) и южной Норвегии (8). 49 растений не распределились ни в одну из предложенных популяций (рис. 4).

**ОБСУЖДЕНИЕ**

Уровень внутрипопуляционного генетического разнообразия у *Silene acaulis* (0,06–0,19) сходен и даже превышает таковой у ряда арктических растений, таких как *Draba fladnizensis* 0,02–0,11, *D. nivalis* 0,01–0,11 (Skrede et al., 2009), *Arabis alpina* 0–0,108 (Ehrich et al., 2007) и *Cassiope tetragona* 0,068–0,126 (Eidessen et al., 2007-b). Оценки генетического разнообразия *Silene acaulis* в Европе, полученные по аллозимным маркерам, выявили полиморфизм по 90 % локусов по сравнению с 50 % типичными для растений в среднем (Abbot et al., 1995). Такой высокий уровень генетического разнообразия, скорее всего, связан с высокой степенью аутбридинга в популяциях смолевки бесстебельной. Это подтверждают и результаты AMOVA: значительная часть молекулярной дисперсии, выявленной с помощью AFLP, объясняется внутрипопуляционной изменчивостью (табл. 2). Высокая внутрипопуляционная изменчивость наряду с низким уровнем дифференциации между популяциям ожидаемы именно для перекрестно-опыляемых видов. Это согласуется с предположениями о значительном межпопуляционном потоке генов, присутствовавшим как в прошлом при заселении смолевкой Европы, так и в настоящем, в результате синхронизации времени созревания семян и сезонных миграций птиц с севера на юг (Skye 1989; Crawford & Abbott 1994; Abbot et al., 1995).

Таблица 2

## Результаты AMOVA

Источник дисперсии		d.f.	Сумма квадратов	Процент дисперсии
Одна группа: популяции амфиатлантики	между популяциями	48	1940,44	23,15
	внутри популяций	170	2933,83	76,85
Две группы: Европа и восток Канады	между группами	1	176,29	31,33
	между популяциями	47	1764,15	14,37
	внутри популяций	170	2933,83	54,30
Одна группа: популяции Европы	между популяциями	46	1759,60	20,38
	внутри популяций	165	2933,92	79,62
Две европейские группы: северная и монтанная	между группами	1	142,22	14,39
	между популяциями	45	1617,38	14,75
	внутри популяций	165	2933,92	70,86
Три европейские группы: монтанная и две северные (по BAPS и Structure «admixture»)	между группами	2	295,61	8,72
	между популяциями	44	1463,99	14,88
	внутри популяций	165	2933,92	76,4
Четыре европейские группы: Пиренеи, Карпаты с Уралом и две северные (по Structure «no admixture»)	между группами	3	416,06	11,83
	между популяциями	43	1343,54	12,79
	внутри популяций	65	2933,92	75,39

Генетическая дифференциация наиболее выражена между канадскими и европейскими популяциями. Различиями между этими группами объясняются 31,33 % молекулярной дисперсии всех исследованных индивидов. Вероятно, поток генов между Канадой и Европой обусловлен только событиями прошлого, например, заселением американского континента смолевкой бесстебельной в период распространения вида по северному полушарию. Канадские и европейские популяции могли происходить из разных рефугиумов. В пользу отдельного рефугиума и собственной истории канадской *Silene acaulis* говорит и высокий индекс редкости аллелей в популяции из Квебека. Рефугиум для восточноканадских растений мог располагаться на юго-востоке Лаврентийского ледникового щита, как для *Cassiope tetragona* (Eidesen et al., 2007-b).

Европейские популяции хорошо дифференцируются на северную и южную группы, которые также можно назвать арктической и монтанной (рис. 2, 3). Такой паттерн наблюдается и у ряда других аркто-альпийских видов: *Dryas octopetala* (Skrede et al., 2006), *Vaccinium uliginosum* (Eidesen et al., 2007-a), *Draba fladnizensis* (Skrede et al., 2009). Монтанная группа оказывается неоднородна, и, в свою очередь, ее можно разделить. Результаты анализов STRUCTURE с использованием модели «no admixture» и AMOVA говорят в пользу дивергенции группы на восточную (Урал и Карпаты) и западную (Пиренеи). Южноевропейские популяции могли дифференцироваться и накопить генетические отличия в плейстоцене в условиях изоляции. Скорее всего, во время оледенения, когда тундровые растения типа дриады (Skrede et al., 2006) были широко распространены в тундростепях, окаймляющих ледники, *Silene acaulis* сохранялась в южных рефугиумах. Высокий уровень ге-

нетического разнообразия вместе с большими значениями индекса редкости локусов AFLP в популяциях юга Европы свидетельствует в пользу альпигенного происхождения северных популяций смолевки бесстебельной. Наличие плейстоценовых рефугиумов в регионах юга Европы показано как для растительных видов, так и для животных, например, короткокрылого конька, бурого медведя, ряда землероек, полевок и тритонов (Taberlet et al., 1998; Kotlik et al., 2006).

Генетическая структура североευропейских растений (северная группа) выражена гораздо слабее. Межпопуляционный поток генов в этом случае достаточно высок, для того, чтобы предотвратить дивергенцию популяций в результате случайного дрейфа генов. Растения с архипелага Шпицберген попадают в те же две слабо дифференцированные группы, что и остальные североевропейские индивидуумы, это подчеркивает тесную историческую связь островных и материковых растений. Наиболее вероятными источниками во время послеледниковой колонизации архипелага являются популяции Гренландии, в гораздо меньшей степени Исландии и южной Норвегии. Для других видов, обитающих на Шпицбергене, показано, что они могли расселяться из Урала (*Rubus chamaemorus*, *Betula nana*, *Dryas octopetala*), северной Норвегии (*Salix herbaceae*, в меньшей степени *Betula nana* и *Dryas octopetala*) и Гренландии (*Cassiope tetragona*, *Empetrum nigrum*) (Alsos et al., 2007). Значительное число (44 %) протестированных растений архипелага оказалось невозможным отнести к какой-либо из предложенных в качестве предковых популяций. Это можно объяснить неполным представлением вероятных родительских популяций, включенных в анализ. Например, в исследование не попали растения из северонорвежского региона Трумс и западной Гренландии. С дру-

гой стороны, низкий уровень внутривидового разнообразия мог повлиять на результаты, которые в этом случае не получили достаточной статистической значимости. Можно лишь сказать с уверенностью, что заселение архипелага Шпицберген происходило разными путями, и одним из основных источников послужила восточная Гренландия.

Филогеографический паттерн *Silene acaulis* в Европе, выявленный с помощью AFLP, свидетельствует в пользу гипотезы, выдвинутой Abbot et al. (1995) о происхождении северных Европейских популяций от мигрантов с юга Европы в конце последнего ледникового периода. Однако, относительно высокие значения индекса редких аллелей у некоторых северных популяций, позволяет предположить возможное существование местного северного рефугиума. Южный ледниковый рефугиум мог располагаться в районе Восточных Альп. Например, показано, что аркто-альпийский вид *Ranunculus glacialis* расселился после отступления ледника на север Европы именно из Восточных Альп (Schönswetter et al., 2003). Северный гипотетический рефугиум мог быть на территории Скандинавии. Несмотря на то, что Скандинавский полуостров был покрыт ледниковым щитом, относительно большой уровень эндемизма позволил предположить существование на его территории локальных рефугиумов на возвышающихся над ледником горах (нунатаках) и на шельфе северного моря, который был сушей во время оледенений (Dahl, 1987). На возможность существования таких рефугиумов указывается, в частности, для норвежских леммингов (Fedorov, Stenseth, 2001). Использование смолевкой нунатаков в качестве убежища маловероятно из-за суровых условий последних, однако, вероятность существования популяций на шельфе нельзя полностью исключить.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при поддержке стипендии Исследовательского совета (International Stipend of Research council of Norway) правительства Норвегии и Национального центра биосистематики Норвегии Университета Осло, а также программы Президиума РАН «Биоразнообразие». Особую благодарность авторы выражают коллекторам материала, а также рецензентам за ценные критические замечания.

## Литература

1. Кожанчиков В. И., Маценко А. Е., Петровский В. В. и др., 1971. Арктическая флора СССР VI *Caryophyllaceae* — *Ranunculaceae* / под. ред. А. И. Толмачёва. Л.: Наука. 248 с.
2. Abbott R. J., Chapman H. M., Crawford R. M., Forbes D. G., 1995. Molecular diversity and derivations of populations of *Silene acaulis* and *Saxifraga oppositifolia* from the high Arctic and more southerly latitudes // *Mol. Ecol.* Vol. 4. P. 199–207.
3. Alsos I. G., Eidesen P. B., Ehrlich D. et al., 2007. Frequent long-distance plant colonization in the changing Arctic // *Science*. Vol. 316. P. 1606–1609.
4. Alsos I. G., Engelskøn T., Gielly L. et al., 2005. Impact of ice ages on circumpolar molecular diversity: insights from an ecological key species // *Mol. Ecol.* Vol. 14. P. 2739–2753.
5. Birks H. H., 2008. The Late-Quaternary history of arctic and alpine plants // *Plant Ecology & Diversity* Vol. 1 P. 135–146.
6. Bonin A., Bellemain E., Eidesen P. B. et al., 2004. How to track and assess genotyping errors in population genetics studies // *Mol. Ecol.* Vol. 13. P. 3261–3273.
7. Corander J., Marttinen P., 2006. Bayesian identification of admixture events using multilocus molecular markers // *Mol. Ecol.* Vol. 15. P. 2833–2843.
8. Crawford R. M., Abbott R. J., 1994 Pre-adaptation of Arctic plants to climatic change // *Botanica Acta*. Vol. 107. P. 271–278.
9. Dahl E., 1987. The nunatak theory reconsidered // *Ecological Bulletins*. Vol. 38. P. 77–94.
10. Duchensne P., Bernatchez L., 2002. AFLPOP: a computer program for simulated data and real population allocation, based on AFLP data // *Mol. Ecol. Notes*. Vol. 2. P. 380–383.
11. Ehrlich D., 2006. AFLPdat: a collection of R functions for convenient handling of AFLP data // *Mol. Ecol. Notes*. Vol. 6. P. 603–604.
12. Ehrlich D., Gaudeul M., Assefa A. et al., 2007. Genetic consequences of Pleistocene range shifts: Contrast between the Arctic, the Alps and the East African mountains // *Mol. Ecol.* Vol. 16. P. 2542–2559.
13. Eidesen P. B., Alsos I. G., Popp M. et al., 2007-a. Nuclear vs. plastid data: complex Pleistocene history of a circumpolar key species // *Mol. Ecol.* Vol. 16. P. 3902–3925.
14. Eidesen P. B., Carlsen T., Molau U., Brochmann C., 2007-b. Repeatedly out of Beringia: *Cassiope tetragona* embraces the Arctic // *J. Biogeogr.* Vol. 34. P. 1559–1574.
15. Excoffier L., Laval G., Schneider S., 2005. ARLEQUIN, Version 3. 0: an Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis // *Evolutionary Bioinformatics Online*. Vol. 1. P. 47–50.
16. Falush D., Stephens M., Pritchard J., 2007. Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles // *Mol. Ecol. Notes*. Vol. 7. P. 574–578.
17. Fedorov V. B., Stenseth N. C., 2001. Glacial survival of the Norwegian lemming (*Lemmus lemmus*) in Scandinavia: inference from mitochondrial DNA variation. // *Proc. Royal Soc. B*. Vol. 268. P. 809–814.
18. Gaudeul M., Taberlet P., Till-Bottraud I., 2000. Genetic diversity in an endangered alpine plant, *Eryngium alpinum* L. (*Apiaceae*), inferred from amplified fragment length polymorphism markers // *Mol. Ecol.* Vol. 9. P. 1625–1637.
19. Hewitt G. M., 1996. Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation // *Biol. J. Linn. Soc.* Vol. 58. P. 247–276.



20. *Kotlik P., Deffontaine V., Mascheretti S. et al.*, 2006. A northern glacial refugium for bank voles (*Clethrionomys glareolus*) // PNAS. Vol. 103 (40). P. 14860–14864.
21. *Nei M.*, 1987. Molecular Evolutionary Genetics. NY: Columbia University Press. 512 p.
22. *Pritchard J. K., Stephens M., Donnelly P.*, 2000. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data // Genetics. Vol. 155. P. 945–959.
23. R development Core Team. A language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing. 2004. URL: <http://r-development-core-team.software.informer.com>
24. *Rohlf F.*, 1998. NTSYS-PC. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2. 02. - NY: Exeter Software, Setauket.
25. *Sastad S. J.*, 1991. Gynodioiki en populasjon av fjellsmelle, *Silene acaulis*, ved Ny-Alesund, Svalbard // Blyttia. Vol. 4. P. 161–165.
26. *Schönswetter P., Paun O., Tribsch A., Niklfeld H.*, 2003. Out of the Alps: colonization of Northern Europe by East Alpine populations of the Glacier Buttercup *Ranunculus glacialis L.* (*Ranunculaceae*) // Mol. Ecol. Vol. 12. P. 3373–3381.
27. *Schönswetter P., Tribsch A.*, 2005. Vicariance and dispersal in the alpine perennial *Bupleurum stellatum L.* (*Apiaceae*) // Taxon. Vol. 54. № 3. P. 725–732.
28. *Skrede I., Borgen L., Brochmann C.*, 2009. Genetic structuring in three closely related circumpolar plant species: AFLP versus microsatellite markers and high-arctic versus arctic-alpine distributions // Heredity. Vol. 102. P. 293–302.
29. *Skrede I., Eidessen P. B., Portela R. P., Brochmann C.*, 2006. Refugia, differentiation and postglacial migration in arctic-alpine Eurasia, exemplified by the mountain avens (*Dryas octopetala*) // Mol. Ecol. Vol. 15. P. 1827–1840.
30. *Skye E.*, 1989. Changes to climate and flora of Hopen Island during the last 110 years // Arctic. Vol. 42. P. 323–332.
31. *Taberlet P., Fumagalli L., Wust-Saucy A. G., Cosson J. F.*, 1998. Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe // Mol. Ecol. Vol. 7. P. 453–464.
32. *Vos P., Hoges R., Bleeker M. et al.*, 1995. A new technique for DNA fingerprinting // Nucl. Acids Res. Vol. 23. P. 4407–4414.

**MOLECULAR VARIATION AND PHYLOGEOGRAPHY OF THE MOSS CAMPION *SILENE ACAULIS* (L.) JACQ. (*CARYOPHYLLACEAE*) IN THE NORTH OF EUROPE AND THE SVALBARD ARCHIPELAGO**

*Mikhaylova Y. V.<sup>1,3</sup>, Gussarova G. L.<sup>2,3</sup>, Brochmann C.<sup>3</sup>*

✿ **SUMMARY:** Molecular variation in 49 populations of *Silene acaulis* was studied using AFLP multilocus markers. Data obtained support postglacial colonization of the North the from southern European mountain refugia. Most of the northern European populations are characterized by lower genetic diversity and poor genetic structure, as compared to the southern mountain populations. High Arctic archipelago Shpitsbergen have been colonized by *Silene acaulis* from several sources, of which the most significant is eastern Greenland.

✿ **KEY WORDS:** phylogeography; *Silene acaulis*; Quaternary; refugium; postglacial colonization; arctic-alpine flora.

✿ Информация об авторах

**Михайлова Юлия Владимировна** — аспирант.  
Лаборатория растительности Крайнего Севера, Ботанический институт имени В. Л. Комарова Российской Академии Наук, 193022 Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 2.  
E-mail: mjulka@gmail.com.

**Гусарова Галина Леонидовна** — к. б. н., научн. сотр.  
Кафедра ботаники, Биолого-почвенный факультет, Санкт-Петербургский государственный университет.  
199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9.  
E-mail: galina.gusarova@nhm.uio.no.

**Брохман Кристиан** — профессор, руководитель Национального Центра биосистематики.  
Университет Осло, Норвегия,  
NO-0318, Oslo, P.O. Box 1172 Blindern.  
E-mail: christian.brochmann@nhm.uio.no.

**Mikhaylova Yulia Vladimirovna** — PhD student.  
Laboratory of the Farth North vegetation, Komarov Botanical Institute Russian Academy of Science.  
Professora Popova st. 2, Saint Petersburg, Russia, 193022.  
E-mail: mjulka@gmail.com.

**Gusarova Galina Leonidovna** — PhD, scientist.  
Saint-Petersburg State University, Department of Botany, Faculty of Biology and Soil Science,  
Universitetskaya 7/9, Saint Petersburg, Russia, 199034  
E-mail: galina.gusarova@nhm.uio.no.

**Brochmann Christian** — professor, leader of the National Centre for Biosystematics.  
University of Oslo, Norway.  
NO-0318, Oslo, P.O. Box 1172 Blindern  
E-mail: christian.brochmann@nhm.uio.no.