

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ СИБИРСКИХ ВИДОВ ЛИСТВЕННИЦ ПО ДАННЫМ ИЗОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

Н.В. Орешкова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН,
660036, Красноярск, Академгородок, д. 50/28, e-mail: institute_forest@ksc.krasn.ru; oreshkova@ksc.krasn.ru

С помощью изоферментных маркеров генов получены данные о генетическом разнообразии, структуре и степени дифференциации популяций лиственниц сибирской, Гмелина и Каяндера. Установлено, что исследованные виды отличаются по генетической структуре, а наиболее существенные различия наблюдаются между популяциями лиственницы сибирской и группой популяций лиственниц Гмелина и Каяндера.

Ключевые слова: лиственница, природные популяции, аллозимы, генетическое разнообразие, структура и дифференциация популяций.

GENETIC DIFFERENTIATION OF SIBERIAN LARCH SPECIES BASED ON ISOZYME ANALYSIS DATA

N.V. Oreshkova

V.N. Sukachev Institute of Forest, SB RAS,
660036, Krasnoyarsk, Akademgorodok, 50/28, e-mail: institute_forest@ksc.krasn.ru; oreshkova@ksc.krasn.ru

The data about a genetic variability, structure and degree of differentiation populations of Siberian larch, Gmelin larch and Cajanderi larch were obtained. It was established that studied species are differed in genetic structure, and the most significant differences are observed between populations of Siberian larch and group of populations of Gmelin larch and of Cajanderi larch.

Key words: larch, natural population, allozymes, genetic diversity, genetic structure and differentiation of populations.

ВВЕДЕНИЕ

Молекулярно-генетические исследования видов рода *Larix* Mill. с целью оценки генетического разнообразия, изучения популяционной структуры, внутри- и межвидовой дифференциации, гибридизационных процессов проводились с конца 1980-х годов как в России, так и за рубежом. Причем наиболее многочисленными оказались исследования на основе анализа белкового полиморфизма (изоферментный анализ).

За последние 30–35 лет с помощью изоферментных маркеров генов накоплен обширный материал о структуре, генетическом разнообразии, внутри- и межвидовой дифференциации популяций большого числа видов лиственниц (Тимерьянов и др., 1994, 1996; Потенко, Разумов, 1996; Гончаренко, Силин, 1997; Шигапов и др., 1998; Ларионова, Яхнева, 2003; Ларионова и др., 2003, 2004; Орешкова, 2010; Сурсо, 2009; Cheliak, Pitel, 1985; Fins, Seeb, 1986; Cheliak et al., 1988; Lewandowski, Mejnartowicz, 1990, 1991; Ying, Morgenstern, 1990, 1991; Liu, Knowles, 1991; Majer, 1992; Timerjanov, 1997; Semerikov, Lascoux, 1999; Oreshkova et al., 2006; и др.). Благодаря уникальной возможности быстрого получения количественной информации о частотах

аллелей и генотипов, гетерозиготности отдельных деревьев, степени генетических различий между популяциями и видами изоферментные маркеры генов стали одним из главных инструментов для изучения генетического разнообразия и генетической структуры популяций хвойных в целом.

Несмотря на определенные успехи и практические достижения в этой области, генетические ресурсы многих лесообразующих видов хвойных России, особенно на территории Сибири и Дальнего Востока, остаются слабоизученными. В первую очередь это относится к видам рода *Larix*. Исследованиями не охвачена большая часть районов ареала лиственницы, расположенных в азиатской части России, где она является основной лесообразующей породой.

В связи с этим целью работы было изучение с помощью изоферментных маркеров генов генетического разнообразия, структуры и степени дифференциации популяций трех видов лиственницы: сибирской (*L. sibirica* Ledeb.), Гмелина (*L. gmelinii* (Rupr.) Rupr.) и Каяндера (*L. cajanderi* Mayr) в неисследованных ранее районах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования взяты выборки из 10 популяций лиственницы сибирской, произрастающие в различных районах ее ареала на территории Красноярского края, Республик Тыва и Алтай, 3 популяций лиственницы Гмелина из Забайкальского края и 5 популяций лиственницы Каяндера, располо-

женных в Республике Саха (Якутия) и Магаданской области. Видовую принадлежность лиственницы из Магаданской области определяли по классификации Е.Г. Боброва (1978). Названия популяций, их сокращенное обозначение и местоположение представлены в табл. 1.

Таблица 1

**Название, сокращенное наименование и географическое расположение популяций
исследованных видов лиственницы**

Вид	Популяция	Аббре- виатура	Район расположения	Географи- ческие ко- ординаты	N
<i>L. sibirica</i>	Красноярский край				
	Ванавара	ВНВ	Эвенкийский муниципальный район, окр. пос. Ванавара	60°19' с.ш. 102°15' в.д.	30
	Ялань	ЯЛН	Енисейский район, окр. д. Ялань	58°15' с.ш. 91°54' в.д.	23
	Степановка	СТП	Ирбейский район, окр. д. Степановка	55°20' с.ш. 95°43' в.д.	30
	Ужур-1	УЖ-1	Ужурский район, в 20 км на восток от г. Ужура	55°15' с.ш. 90°10' в.д.	31
	Ужур-2	УЖ-2	Ужурский район, на юго-восточном склоне Солгонского хребта	55°20' с.ш. 90°15' в.д.	29
	Республика Тыва				
	Балгазын	БЛГ	Тандинский район, окр. пос. Балгазын	51°03' с.ш. 95°06' в.д.	30
	Чадура	ЧДР	Улуг-Хемский район, окр. д. Чадура	51°22' с.ш. 92°53' в.д.	30
	Ак-Довурак	АК-ДВ	Борум-Хемчинский район, окр. г. Ак-Довурак	51°23' с.ш. 90°27' в.д.	30
	Республика Алтай				
	Перевал	ПРВ	Шебалинский район, окр. автодор. на Кукуйском перевале	51°27' с.ш. 85°15' в.д.	30
	Черга	ЧРГ	Шебалинский район, окр. с. Черга	51°29' с.ш. 85°32' в.д.	30
<i>L. gmelinii</i>	Забайкальский край				
	Куанда	КНД	Каларский район, окр. с. Куанда	56°19' с.ш. 116°05' в.д.	30
	Чара	ЧАР	Каларский район, окр. с. Чара	56°46' с.ш. 118°16' в.д.	30
Чита	ЧИТ	Читинский район, в 40 км юго-западнее г. Читы	51°51' с.ш. 113°10' в.д.	30	
<i>L. cajanderi</i>	Республика Саха (Якутия)				
	Среднеколымск	СРКЛ	Среднеколымский район, окр. с. Лобуя	67°20' с.ш. 153°55' в.д.	26
	Мегино-Кангалас	МГ-КНГ	Мегино-Кангаласский район, окр. с. Мата	62°25' с.ш. 130°40' в.д.	23
	Таттинск	ТАТ	Таттинский район, окрестности пос. Чичимах	62°50' с.ш. 134°00' в.д.	22
	Алдан	АЛД	Алданский район, долина р. Модут	59°20' с.ш. 126°50' в.д.	16
Магаданская область					
Магадан	МГД	Ольский район, в 250 км на северо-восток от г. Магадана, бассейн р. Яма	59°40' с.ш. 153°38' в.д.	30	

Примечание. N – число деревьев в выборке.

Ферменты и буферные системы, использованные для их электрофоретического разделения

Фермент	Аббре-виатура	КФ	Буфер-ная система
Малатдегидрогеназа	MDH	1.1.1.37	I
Шикиматдегидрогеназа	SKDH	1.1.1.25	I
6-фосфоглюконатдегидрогеназа	6-PGD	1.1.1.44	I
Изоцитратдегидрогеназа	IDH	1.1.1.42	I
Глутаматоксалоацетаттрансаминаза	GOT	2.6.1.1	II
Лейцинаминопептидаза	LAP	3.4.11.1	II
Фосфоглюкоизомераза	PGI	5.3.1.9	II
Формиатдегидрогеназа	FDH	1.2.1.2	II
Фосфоглюкомутаза	PGM	2.7.5.1	II
Глутаматдегидрогеназа	GDH	1.4.1.2	III
Фосфоенолпируваткарбоксилаза	PEPCK	4.1.1.31	III
Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа	G-6PD	1.1.1.49	III
Супероксиддисмутаза	SOD	1.15.1.1	III

Примечание. I – трис-цитратная pH 6.2 (Adams, Joly, 1980); II – трис-цитратная pH 8.5/гидроокись лития-боратная pH 8.1 (Ridgway et al., 1970); III – трис-ЭДТА-боратная pH 8.6 (Markert, Faulhaber, 1965).

лярной вариации AMOVA (Weir, Cockerham, 1984) использовали для изучения распределения суммарной генетической изменчивости по иерархическим уровням: внутривидовой изменчивости, межвидовой изменчивости и компоненте изменчивости, связанной с межгрупповыми различиями между таксонами. Анализ связи между географическими и генетическими расстояниями проводили согласно тесту Мантела (Mantel, 1967). Кластеризацию по методу невзвешенных парногрупповых средних (UPGMA) с оценкой бутстреп-поддержки узлов ветвления проводили в программах PHYLIP v 3.2 (Felsenstein, 1989) и STATISTICA (StatSoft, 1998).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования электрофоретической изменчивости 13 ферментных систем у лиственниц сибирской, Гмелина и Каяндера обнаружено 57 аллозимных вариантов, кодируемых аллелями 22 ген-ферментных локусов (табл. 3). Подробное описание, схематическое изображение и изучение характера наследования ферментных систем, включенных в анализ видов лиственниц, представлены в работах Н.В. Орешковой (2008) и А.П. Абаимова с соавторами (2010).

У всех трех видов идентифицированные локусы были одинаковыми, однако их аллельный состав существенно отличался. Наибольшее аллельное разнообразие наблюдалось у лиственниц сибирской (46 аллелей) и Каяндера (45 аллелей), наименьшее – у лиственницы Гмелина (40 аллелей). Около 53 % обнаруженных аллелей были у видов общими. Разли-

чия между видами наблюдались в основном по составу редких аллелей. У каждого вида обнаружены редкие аллели, не встречающиеся у других видов. У лиственницы сибирской таких аллелей 6 (*Mdh-1⁹³*, *Mdh-4²⁰⁰*, *Lap-2^{null}*, *Pgi-1⁹¹*, *Fdh⁷⁸*, *Sod⁶¹*), у лиственницы Гмелина – 2 (*Idh⁸⁵*, *Pgi-2¹⁰⁷*), у лиственницы Каяндера – 5 (*Mdh-2⁸⁸*, *Mdh-3¹³⁰*, *6-Pgd-1¹¹⁰*, *Idh⁷⁹*, *Pgi-2⁵⁶*).

Локусы *Lap-1*, *Gdh*, *Pepck*, *G-6pd* оказались полностью мономорфными, остальные же локусы обнаруживают изменчивость хотя бы в одной из изученных популяций. Локусы *Mdh-3*, *Lap-2*, *Pgi-2*, *Fdh*, у которых выявили от 6 до 4 аллелей, проявили себя как высокополиморфные. Остальные локусы менее полиморфны. Следует, однако, отметить, что в отдельных популяциях уровень полиморфизма локусов может меняться, вплоть до мономорфного.

Таблица 3

**Аллельный состав идентифицированных
у лиственниц сибирской, Гмелина и Каяндера
ген-ферментных локусов**

Локус	Аллель		
	<i>L. sibirica</i>	<i>L. gmelinii</i>	<i>L. cajanderi</i>
Mdh-1	Mdh-1 ⁹³ Mdh-1 ¹⁰⁰ –	– Mdh-1 ¹⁰⁰ Mdh-1 ¹¹⁴	– Mdh-1 ¹⁰⁰ Mdh-1 ¹¹⁴
Mdh-2	– Mdh-2 ¹⁰⁰ Mdh-2 ¹¹²	– Mdh-2 ¹⁰⁰ Mdh-2 ¹¹²	Mdh-2 ⁸⁸ Mdh-2 ¹⁰⁰ Mdh-2 ¹¹²
Mdh-3	Mdh-3 ²⁴ Mdh-3 ⁵² Mdh-3 ⁶⁸ Mdh-3 ¹⁰⁰ Mdh-3 ¹¹³ –	– – Mdh-3 ⁶⁸ Mdh-3 ¹⁰⁰ Mdh-3 ¹¹³ –	Mdh-3 ²⁴ Mdh-3 ⁵² Mdh-3 ⁶⁸ Mdh-3 ¹⁰⁰ Mdh-3 ¹¹³ Mdh-3 ¹³⁰
Mdh-4	Mdh-4 ¹⁰⁰ Mdh-4 ²⁰⁰	Mdh-4 ¹⁰⁰ –	Mdh-4 ¹⁰⁰ –
6-Pgd-1	6-Pgd-1 ¹⁰⁰ – –	6-Pgd-1 ¹⁰⁰ – 6-Pgd-1 ^{null}	6-Pgd-1 ¹⁰⁰ 6-Pgd-1 ¹¹⁰ 6-Pgd-1 ^{null}
6-Pgd-2	6-Pgd-2 ⁸⁵ 6-Pgd-2 ¹⁰⁰ 6-Pgd-2 ¹¹⁶	6-Pgd-2 ⁸⁵ 6-Pgd-2 ¹⁰⁰ –	– 6-Pgd-2 ¹⁰⁰ 6-Pgd-2 ¹¹⁶
Got-1	Got-1 ¹⁰⁰ Got-1 ¹⁰⁷	Got-1 ¹⁰⁰ Got-1 ¹⁰⁷	Got-1 ¹⁰⁰ –
Got-2	Got-2 ¹⁰⁰ Got-2 ¹¹¹	Got-2 ¹⁰⁰ Got-2 ¹¹¹	Got-2 ¹⁰⁰ Got-2 ¹¹¹
Got-3	– Got-3 ¹⁰⁰	Got-3 ⁴⁶ Got-3 ¹⁰⁰	Got-3 ⁴⁶ Got-3 ¹⁰⁰
Lap-1	Lap-1 ¹⁰⁰	Lap-1 ¹⁰⁰	Lap-1 ¹⁰⁰
Lap-2	Lap-2 ⁹⁶ Lap-2 ¹⁰⁰ Lap-2 ¹⁰⁵ Lap-2 ^{null}	– Lap-2 ¹⁰⁰ Lap-2 ¹⁰⁵ –	Lap-2 ⁹⁶ Lap-2 ¹⁰⁰ Lap-2 ¹⁰⁵ –
Idh	– – Idh ¹⁰⁰	– Idh ⁸⁵ Idh ¹⁰⁰	Idh ⁷⁹ – Idh ¹⁰⁰
Pgi-1	Pgi-1 ⁹¹ Pgi-1 ¹⁰⁰	– Pgi-1 ¹⁰⁰	– Pgi-1 ¹⁰⁰
Pgi-2	– Pgi-2 ⁹² Pgi-2 ¹⁰⁰ –	– – Pgi-2 ¹⁰⁰ Pgi-2 ¹⁰⁷	Pgi-2 ⁵⁶ Pgi-2 ⁹² Pgi-2 ¹⁰⁰ –
Pgm-1	Pgm-1 ⁹⁰ Pgm-1 ¹⁰⁰ Pgm-1 ¹⁰⁷	Pgm-1 ⁹⁰ Pgm-1 ¹⁰⁰ Pgm-1 ¹⁰⁷	Pgm-1 ⁹⁰ Pgm-1 ¹⁰⁰ Pgm-1 ¹⁰⁷
Pgm-2	Pgm-2 ¹⁰⁰ –	Pgm-2 ¹⁰⁰ Pgm-2 ¹²⁰	Pgm-2 ¹⁰⁰ Pgm-2 ¹²⁰
Fdh	Fdh ⁷⁸ Fdh ⁸⁶ Fdh ¹⁰⁰ Fdh ¹²⁵	– – Fdh ¹⁰⁰ Fdh ¹²⁵	– Fdh ⁸⁶ Fdh ¹⁰⁰ –
Gdh	Gdh ¹⁰⁰	Gdh ¹⁰⁰	Gdh ¹⁰⁰
Skdh-2	Skdh-2 ⁷⁶ Skdh-2 ¹⁰⁰ Skdh-2 ¹¹⁷	Skdh-2 ⁷⁶ Skdh-2 ¹⁰⁰ Skdh-2 ¹¹⁷	Skdh-2 ⁷⁶ Skdh-2 ¹⁰⁰ –
Pepca	Pepca ¹⁰⁰	Pepca ¹⁰⁰	Pepca ¹⁰⁰
G-6pd	G-6pd ¹⁰⁰	G-6pd ¹⁰⁰	G-6pd ¹⁰⁰
Sod-1	Sod-1 ⁶¹ Sod-1 ¹⁰⁰	– Sod-1 ¹⁰⁰	– Sod-1 ¹⁰⁰

Оценка основных параметров генетической изменчивости (табл. 4) по совокупности проанализированных локусов показала, что из трех видов лиственниц значения полиморфизма (P) и среднего числа аллелей на локус (N_a) оказались самыми высокими у *L. cajanderi* ($P = 40.91$ и $N_a = 1.54$), главным образом за счет редких аллелей, которые в свою очередь не оказывают значительного влияния на средний уровень наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности. Наиболее высокие значения как теоретически ожидаемой, так и наблюдаемой гетерозиготности выявлены у *L. sibirica* ($H_o = 0.090$, $H_e = 0.092$). Низкие же значения всех основных показателей генетической изменчивости у *L. gmelinii* (см. табл. 4).

Наблюдавшиеся в данном исследовании низкие значения полиморфизма у *L. gmelinii* по сравнению с *L. sibirica* и *L. cajanderi* связаны главным образом с малым числом включенных в анализ популяций этого широко распространенного вида.

Значения показателей генетической изменчивости для всех исследованных в настоящей работе выборок лиственниц сибирской, Гмелина и Каяндера сопоставимы с данными по другим видам рода *Larix* (табл. 5). Детальный анализ литературных материалов показал, что популяции трех видов лиственниц имеют более низкие значения параметров внутривидовой генетической изменчивости по сравнению с ранее изученными популяциями этих видов. Такое несоответствие полученных результатов зависит главным образом от существенно отличающихся методик проведения исследований, анализируемых наборов локусов, пропорции мономорфных и полиморфных локусов, используемых в работе.

Низкие значения генетического полиморфизма, аналогичные нашим, были выявлены у других видов лиственницы – *L. olgensis*, *L. occidentalis*, *L. sukaczewii* (см. табл. 5). По мнению ряда исследователей (Тимерьянов и др., 1996; Козыренко и др., 2004; Fins, Seeb, 1986; и др.), невысокое генотипическое разнообразие у лиственниц объясняется несколькими факторами: вытеснением в результате конкуренции темнохвойными породами на участки выхода многолетней мерзлоты, при этом наблюдается инбридинг вследствие самоопыления; эффектом “бутылочного горлышка”, возникающим или после пожаров (семенное размножение от немногочисленных особей), или вследствие географической изолированности популяций (образование рефугиумов в период плейстоценового оледенения); активными эволюционными процессами формо- и видообразования рода *Larix* на территории Сибири и Дальнего Востока.

Анализ популяционной структуры видов с помощью индексов фиксации С. Райта (Wright, 1965; Guiries, Ledig, 1982) показал, что каждая особь лиственниц сибирской и Гмелина обнаруживает в среднем слабый дефицит гетерозигот относительно популяции ($F_{is} = 0.004$ и $F_{is} = 0.013$ соответственно) и вида

Таблица 4

Значения основных показателей генетической изменчивости исследованных видов лиственниц

Популяция		P	N_a	N_e	Гетерозиготность		F
					H_o	H_e	
<i>L. sibirica</i>	ВНВ	36.36	1.50	1.18	0.085 ± 0.030	0.108 ± 0.038	0.105
	ЯЛН	36.36	1.50	1.18	0.097 ± 0.039	0.093 ± 0.038	-0.050
	СТП	36.36	1.50	1.12	0.070 ± 0.030	0.073 ± 0.032	-0.001
	УЖ-1	45.45	1.68	1.18	0.100 ± 0.043	0.090 ± 0.038	-0.064
	УЖ-2	40.91	1.59	1.19	0.096 ± 0.040	0.098 ± 0.040	0.008
	БЛГ	36.36	1.59	1.14	0.079 ± 0.029	0.092 ± 0.032	0.133
	ЧДР	31.82	1.50	1.19	0.102 ± 0.045	0.093 ± 0.040	-0.059
	АК-ДВ	36.36	1.45	1.17	0.103 ± 0.039	0.096 ± 0.036	-0.065
	ПРВ	27.27	1.41	1.16	0.085 ± 0.037	0.088 ± 0.037	0.015
	ЧРГ	31.82	1.50	1.18	0.085 ± 0.033	0.094 ± 0.037	0.058
В среднем для вида		35.91 ± 1.58	1.52 ± 0.054	1.17 ± 0.026	0.090 ± 0.011	0.092 ± 0.011	0.006 ± 0.012
<i>L. gmelinii</i>	КНД	27.27	1.36	1.08	0.050 ± 0.026	0.054 ± 0.026	0.115
	ЧАР	45.45	1.54	1.07	0.045 ± 0.022	0.048 ± 0.022	0.076
	ЧИТ	40.91	1.50	1.07	0.053 ± 0.021	0.053 ± 0.022	-0.035
	В среднем для вида	37.88 ± 5.46	1.47 ± 0.081	1.07 ± 0.024	0.049 ± 0.013	0.051 ± 0.013	0.046 ± 0.031
<i>L. cajanderi</i>	СРКЛ	36.36	1.54	1.09	0.066 ± 0.026	0.068 ± 0.024	0.095
	МГ-КНГ	40.91	1.50	1.12	0.073 ± 0.023	0.079 ± 0.028	-0.024
	ТАГ	45.45	1.68	1.15	0.097 ± 0.035	0.090 ± 0.033	-0.073
	АЛД	40.91	1.54	1.09	0.063 ± 0.023	0.070 ± 0.024	0.101
	МГД	40.91	1.45	1.18	0.102 ± 0.034	0.109 ± 0.038	0.015
	В среднем для вида	40.91 ± 1.44	1.54 ± 0.073	1.13 ± 0.024	0.080 ± 0.013	0.083 ± 0.013	0.019 ± 0.025
В среднем для всех изученных видов		37.63 ± 1.32	1.52 ± 0.038	1.14 ± 0.016	0.080 ± 0.008	0.083 ± 0.008	0.017 ± 0.011

Примечание. P – полиморфность; N_a – среднее число аллелей на локус; N_e – эффективное число аллелей на локус; H_o – наблюдаемая гетерозиготность; H_e – ожидаемая гетерозиготность; F – индекс фиксации.

Таблица 5

Значения основных показателей генетической изменчивости видов рода *Larix*

Вид	Число популяций	Число локусов	$P_{99\%}$	N_a	H_o	H_e	Литературный источник
<i>L. laricina</i>	36	19	50.0	1.80	0.220	0.220	Cheliak et al., 1988
	8	24	47.0	1.70	0.146	0.151	Ying, Morgenstern, 1991
	44	18	31.9	1.51	0.096	0.104	Liu, Knowles, 1991
<i>L. occidentalis</i>	19	23	30.4	1.50	0.061	0.082	Fins, Seeb, 1986
<i>L. decidua</i>	1	18	67.0	2.00	0.212	0.193	Lewandowski et al., 1991
	2	15	53.3	2.20	0.157	0.164	Semerikov et al., 1999
<i>L. sukaczewii</i>	8	20	31.2	1.51	0.091	0.112	Шигапов и др., 1998
<i>L. sibirica</i>	1	21	57.0	1.71	0.128	0.129	Шурхал и др., 1989
	3	18	59.3	1.90	–	0.137	Семерилов, 1993
	9	–	51.8	1.76	0.121	0.131	Семерилов, Матвеев, 1995
<i>L. gmelinii</i>	2	21	61.9	2.36	0.139	0.129	Потенко, Разумов, 1996
	6	15	65.6	2.21	0.154	0.158	Semerikov et al., 1999
<i>L. cajanderi</i>	1	15	53.3	2.00	0.126	0.120	
<i>L. czekanowskii</i>	1	15	73.3	2.10	0.147	0.167	
<i>L. olgensis</i>	3	15	55.5	1.83	0.099	0.098	
<i>L. amurensis</i>	1	15	66.7	2.30	0.160	0.178	
<i>L. ochotensis</i>	1	15	66.7	2.10	0.155	0.181	
<i>L. kamtschatica</i>	1	15	73.3	1.80	0.160	0.160	
<i>L. kaempferi</i>	1	15	53.3	1.80	0.117	0.117	
	1	20	50.0	1.60	0.106	0.106	Гончаренко, Силин, 1997
<i>L. kurilensis</i>	1	20	50.0	1.70	0.157	0.157	

($F_{it} = 0.039$ и $F_{it} = 0.036$) (табл. 6). У лиственницы Каяндера напротив был выявлен незначительный эксцесс гетерозиготных генотипов относительно популяции ($F_{is} = -0.004$), но относительно вида дефицит гетерозигот оказался почти в 2.4 раза большим ($F_{it} = 0.093$), чем у лиственниц сибирской и Гмелина.

Согласно оценке показателя F_{st} изученные популяции лиственницы Каяндера более дифференцированы ($F_{st} = 0.105$) по сравнению с популяциями лиственниц сибирской ($F_{st} = 0.037$) и Гмелина ($F_{st} = 0.023$). Локусы 6-Pgd-2, Pgi-2, Skdh-2 у лиственницы сибирской, Got-3, Pgm-2 у лиственницы Гмелина и Mdh-2, Pgi-2, Skdh-2 у лиственницы Каяндера оказывают наибольший вклад в межпопуляционную составляющую изменчивости внутри каждого вида.

Следует отметить, что установленные нами значения F -статистики для *L. cajandera* отражают главным образом различия между группой якутских и магаданской популяциями. При включении в расчеты только популяций из Якутии показатели существенно снижаются. Так, например $F_{is} = -0.007$, $F_{it} = 0.028$, а значение F_{st} уменьшается более чем в 3 раза. Таким образом, на долю межпопуляционной изменчивости лиственницы Каяндера в Якутии приходится лишь 3.4 % от общей изменчивости.

Объединив популяции всех трех видов, были рассчитаны показатели F -статистик Райта в целом (табл. 7). В результате выяснилось, что в совокупной

выборке инбридинг особи относительно популяции составляет -0.002 , инбридинг особи относительно вида -0.091 , а оценка признака, отражающего степень подразделенности видов, показала, что чуть более 90 % выявленной изменчивости реализуется внутри популяций и только 9.6 % ($F_{st} = 0.096$) изменчивости распределяется между популяциями.

Наибольший вклад в межпопуляционную дифференциацию вносят локусы *Mdh-2* ($F_{st} = 0.208$), *Pgi-2* ($F_{st} = 0.299$), *Skdh-2* ($F_{st} = 0.211$). Представленные в табл. 7 данные χ^2 -тестов свидетельствуют о том, что статистически достоверная гетерогенность аллельных частот наблюдается у 14 из 18 полиморфных локусов. По совокупности полиморфных локусов межпопуляционные различия по частотам аллелей были высоко достоверными ($\chi^2 = 2857.198$, $df = 595$, $P < 0.001$).

У разных видов рода *Larix* величина показателя генетической подразделенности довольно сильно варьирует – от 2 % у *L. laricina* (Liu, Knowles, 1991; Ying, Morgenstern, 1991) и *L. gmelinii* (Semerikov, Lascoux, 1999; Semerikov et al., 1999) до 10 % у *L. occidentalis* (Fins, Seeb, 1986). Таким образом, исследованные нами популяции трех видов лиственниц характеризуются высокой степенью межпопуляционной генетической подразделенности.

Анализ распределения генетической изменчивости AMOVA с учетом иерархических уровней: популяции, группы популяций, видов рода *Larix*, пока-

Таблица 6

Значения показателей F -статистик Райта, рассчитанные отдельно по каждому из изученных видов лиственниц

Локус	<i>L. sibirica</i>			<i>L. gmelinii</i>			<i>L. cajandera</i>		
	F_{is}	F_{it}	F_{st}	F_{is}	F_{it}	F_{st}	F_{is}	F_{it}	F_{st}
<i>Mdh-1</i>	-0.018	-0.002	0.016	-0.034	-0.011	0.022	-0.070	-0.013	0.053
<i>Mdh-2</i>	-0.037	-0.006	0.030	-0.034	-0.023	0.011	-0.082	0.190	0.252
<i>Mdh-3</i>	-0.007	0.031	0.038	-0.090	-0.075	0.013	0.081	0.121	0.044
<i>Mdh-4</i>	-0.018	-0.002	0.016	-	-	-	-	-	-
<i>6-Pgd-1</i>	-	-	-	-0.053	-0.017	0.034	-0.068	-0.048	0.019
<i>6-Pgd-2</i>	0.100	0.140	0.044	-0.034	-0.011	0.022	-0.053	-0.010	0.040
<i>Got-1</i>	0.026	0.050	0.024	-0.034	-0.011	0.022	-	-	-
<i>Got-2</i>	-0.084	-0.060	0.022	0.476	0.477	0.001	-0.156	-0.128	0.024
<i>Got-3</i>	-	-	-	0.221	0.286	0.083	-0.049	0.034	0.079
<i>Lap-2</i>	-0.053	-0.010	0.041	-0.017	-0.011	0.006	-0.056	-0.017	0.038
<i>Idh</i>	-	-	-	-0.017	-0.006	0.011	-0.060	-0.020	0.037
<i>Pgi-1</i>	-0.016	-0.002	0.015	-	-	-	-	-	-
<i>Pgi-2</i>	-0.002	0.043	0.046	-0.017	-0.006	0.011	0.077	0.516	0.476
<i>Pgm-1</i>	-0.059	-0.018	0.039	0.006	0.011	0.004	0.151	0.227	0.090
<i>Pgm-2</i>	-	-	-	-0.071	-0.023	0.045	-0.101	-0.082	0.017
<i>Fdh</i>	-0.023	-0.003	0.019	-0.053	-0.017	0.034	-0.023	-0.005	0.018
<i>Skdh-2</i>	0.272	0.387	0.157	-0.049	-0.022	0.026	0.354	0.532	0.276
<i>Sod-1</i>	-0.020	-0.004	0.016	-	-	-	-	-	-
Среднее	0.004 ± 0.019	0.039 ± 0.023	0.037 ± 0.008	0.013 ± 0.031	0.036 ± 0.031	0.023 ± 0.004	-0.004 ± 0.028	0.093 ± 0.044	0.105 ± 0.029

Примечание. Коэффициент инбридинга особи: F_{is} – относительно популяций, F_{it} – относительно вида, F_{st} – относительно вида в целом.

Значения коэффициентов инбридинга F_{is} , F_{it} , F_{st} и результаты χ^2 – теста на гетерогенность аллельных частот

Локус	Число аллелей	F_{is}	F_{it}	F_{st}	χ^2
<i>Mdh-1</i>	3	-0.051	-0.006	0.044	63.950(34)***
<i>Mdh-2</i>	3	-0.067	0.155	0.208	256.233(34)***
<i>Mdh-3</i>	6	0.003	0.116	0.114	393.773(85)***
<i>Mdh-4</i>	2	-0.018	-0.001	0.016	16.258(17)
<i>6-Pgd-1</i>	3	-0.066	-0.015	0.048	80.429(34)***
<i>6-Pgd-2</i>	3	0.094	0.213	0.131	192.510(34)***
<i>Got-1</i>	2	0.025	0.200	0.179	170.534(17)***
<i>Got-2</i>	2	-0.059	-0.030	0.027	27.498(17)
<i>Got-3</i>	2	0.017	0.161	0.146	149.399(17)***
<i>Lap-2</i>	4	-0.050	-0.011	0.037	84.725(51)***
<i>Idh</i>	3	-0.054	-0.006	0.045	70.844(34)***
<i>Pgi-1</i>	2	-0.016	-0.001	0.015	15.144(17)
<i>Pgi-2</i>	4	0.026	0.318	0.299	666.347(51)***
<i>Pgm-1</i>	3	0.043	0.138	0.100	186.382(34)***
<i>Pgm-2</i>	2	-0.096	-0.025	0.064	65.898(17)***
<i>Fdh</i>	4	-0.035	-0.005	0.029	70.701(51)*
<i>Skdh-2</i>	3	0.278	0.431	0.211	329.337(34)***
<i>Sod-1</i>	2	-0.020	-0.002	0.017	17.237(17)
Среднее		-0.002 ± 0.018	0.091 ± 0.029	0.096 ± 0.018	2857.198(595)***

Примечание. В скобках указано число степеней свободы. Различия достоверны при уровне значимости: * – $P < 0.05$; ** – $P < 0.01$; *** – $P < 0.001$.

зал, что изменчивость, которая приходится на межвидовые различия, составляет 17 %, между популяциями внутри видов – 10 %, а внутри популяций – 73 %. Подобный характер структуры изменчивости у некоторых видов рода *Larix* Северной Евразии был выявлен и в работе В.Л. Семерикова (2007).

Количественная оценка степени генетической дифференциации популяций лиственниц сибирской, Гмелина и Каяндера с помощью генетического расстояния D_N (Nei, 1972) показала, что наиболее сильные различия по частотам 22 проанализированных ген-ферментных локусов наблюдаются между популяциями лиственниц сибирской и Каяндера ($F_{st} = 0.096$). Генетическое расстояние между сравниваемыми парами популяций этих видов варьирует от 0.010 до 0.058, составляя в среднем 0.024 (табл. 8). Чуть менее дифференцированы между собой выборки *L. sibirica* и *L. gmelinii* ($F_{st} = 0.057$, $D_N = 0.017$). Самые же слабые различия в генетической структуре были отмечены между *L. gmelinii* и *L. cajanderi* – $F_{st} = 0.037$ (без учета лиственницы из Магаданской области), $F_{st} = 0.099$ (с учетом лиственницы из Магаданской области), $D_N = 0.010$. Среди всех исследованных популяций лиственниц сибирской, Гмелина и Каяндера наблюдались существенные статистически достоверные различия по частотам аллелей (см. табл. 8).

Согласно тесту Мантела, генетические расстояния между популяциями лиственниц сибирской, Гмелина и Каяндера, основанные на частотах 22 ген-ферментных локусов, достоверно коррелировали с их географическими расстояниями ($r = 0.663$, $P = 0.010$).

Дифференциацию популяций и генетические связи между ними наглядно иллюстрирует построенная на основе матрицы генетических дистанций UPGMA-дендрограмма (см. рисунок). Популяции исследованных видов сгруппированы в два кластера с довольно высокой степенью надежности порядка ветвления (индексы бутстрепа обоих кластеров составили 92 %). В первую группу вошли все популяции лиственницы сибирской. Генетическое расстояние между ними составило в среднем 0.005.

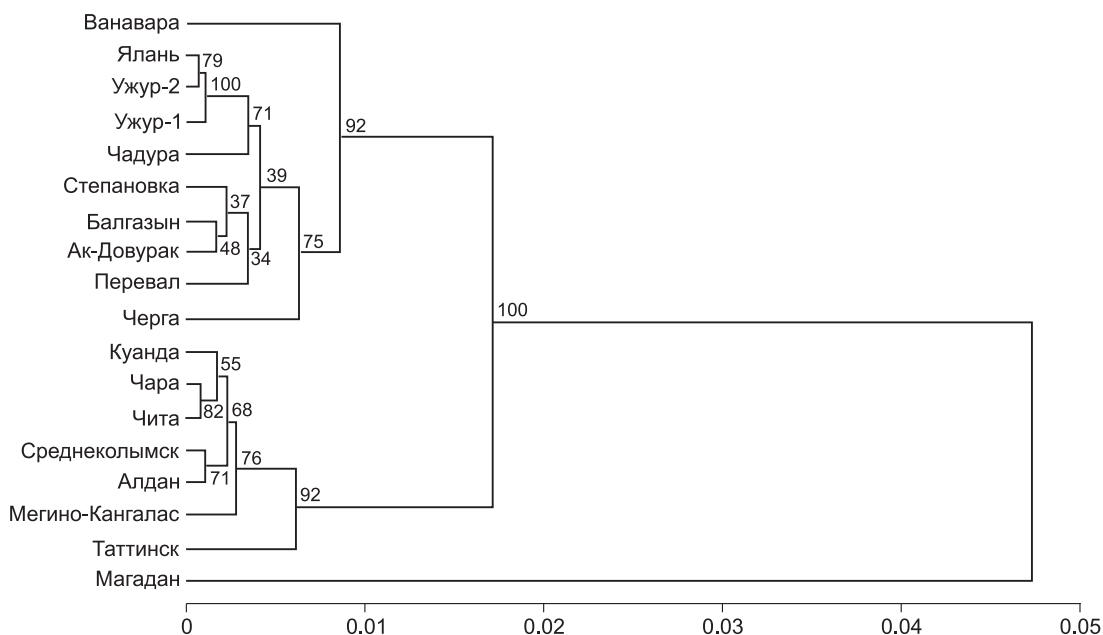
Вторую группу составили популяции лиственниц Гмелина и Каяндера (за исключением популяции из Магадана). Между этими видами хоть и отмечается слабая генетическая дифференциация, однако различия по составу и частотам аллелей изоферментных

Таблица 8

Генетические расстояния М. Неи между изученными видами лиственниц

Вид	Число исследованных популяций	<i>L. sibirica</i>	<i>L. gmelinii</i>	<i>L. cajanderi</i>
<i>L. sibirica</i>	10	0.005* (0.001–0.010)	–	–
<i>L. gmelinii</i>	3	0.017* (0.009–0.026)	0.002* (0.001–0.002)	–
<i>L. cajanderi</i>	5	0.024* (0.010–0.058)	0.010* (0.002–0.040)	0.019* (0.001–0.042)

* Генетические различия достоверны при $P < 0.001$.



UPGMA-дендрограмма генетических взаимоотношений между изученными популяциями лиственниц. Значения бутстрепа приведены при соответствующих узлах ветвления.

локусов (см. табл. 3) все же отчетливо наблюдаются, что позволило популяциям лиственницы Гмелина объединиться в одну группу внутри кластера с бутстреп-поддержкой в 55 %. Генетическое расстояние между этими двумя видами составило в среднем 0.010.

К вышеописанным кластерам примыкает популяция лиственницы Каяндера из Магаданской области со 100%-й бутстреп-поддержкой. Эта популяция оказалась наиболее дифференцированной от всех исследованных популяций лиственницы ($D_N = 0.038-0.058$). По классификации К.В. Крутовского (Крутовский и др., 1989), подобная степень генетической дифференциации у хвойных обычно выявляется у популяций, принадлежащих к разным расам одного вида или к близким видам. Аналогичные ре-

зультаты по дифференциации лиственницы из Магаданской области были получены и В.Л. Семериковым (2007). Он отнес лиственницу из данного региона к лиственнице охотской (*L. ochotensis*), которая ранее по морфологическим признакам была выделена Б.П. Колесниковым, но эта, на наш взгляд, пока генетически недостаточно обосновано. Нами и В.Л. Семериковым в исследования была включена только одна популяция из Магаданской области, чего явно недостаточно для характеристики таксона. Кроме того, в работах М.А. Полежаевой (2010; Polezhaeva et al., 2010) напротив показана сходная структура изменчивости хлоропластных и митохондриальных маркеров у выборок лиственницы из Магаданской области и Якутии. Автор эти выборки относит к одному виду – *L. cajanderi*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного электрофоретического исследования популяций лиственниц сибирской, Гмелина и Каяндера дана оценка генетической изменчивости и популяционной структуры по 22 генферментным локусам. Выявленные значения генетического разнообразия показали, что лиственница Гмелина из Забайкальского края генетически менее изменчива по сравнению с популяциями лиственниц сибирской и Каяндера. Анализ генетической структуры видов выявил, что невысокие значения индексов *F*-статистик Райта, рассчитанные для каждого вида в отдельности, свидетельствуют о том, что популяции этих видов находятся в состоянии, близком к равновесному. Согласно тесту AMOVA (анализ молекуляр-

ных вариантов), доля изменчивости, которая приходится на межвидовые различия, составляет 17 %, что говорит о значительной генетической дифференциации между видами. Однако эта дифференциация главным образом отражает подразделенность между лиственницей сибирской, с одной стороны, и лиственницами Гмелина и Каяндера – с другой. Несмотря на низкий уровень дифференциации между лиственницами Гмелина и Каяндера, отличия по генетической структуре хоть и слабые, но все же наблюдаются, что подтверждают и работы других исследователей (Потенко, Разумов, 1996; Semerikov et al., 1999; Semerikov, Lascoux, 1999). Выявленная слабая генетическая дифференциация между лиственницами

Гмелина и Каяндера, генетическая обособленность популяции из Магаданской области требуют проведения дальнейших популяционно-генетических ис-

следований с включением в анализ большего числа популяций и других, более современных молекулярно-генетических маркеров.

ЛИТЕРАТУРА

- Абаимов А.П., Адрианова И.Ю., Артюкова Е.В. и др.** Биоразнообразие лиственниц Азиатской России. Новосибирск, 2010. 160 с.
- Айала Ф.** Введение в популяционную и эволюционную генетику. М., 1984. 230 с.
- Бобров Е.Г.** Лесообразующие хвойные СССР. Л., 1978. 189 с.
- Гончаренко Г.Г., Падутов В.Е.** Руководство по исследованию древесных видов методом электрофоретического анализа изоферментов. Гомель, 1988. 66 с.
- Гончаренко Г.Г., Силин А.Е.** К вопросу о генетической изменчивости и дифференциации лиственницы курильской (*Larix kurilensis* Mayr.) и лиственницы японской (*Larix kaempferi* Sarg.) // Докл. РАН. 1997. Т. 354, № 6. С. 835–838.
- Козыренко М.М., Артюкова Е.В., Реунова Г.Д., Адрианова И.Ю., Журавлев Ю.Н.** Генетическая изменчивость и популяционная структура лиственниц Приморского края // Лесоведение. 2004. № 6. С. 34–41.
- Крутовский К.В., Политов Д.В., Алтухов Ю.П., Милотин Л.И., Кузнецова Г.В., Ирошников А.И., Воробьев В.Н., Воробьева Н.А.** Генетическая изменчивость сибирской кедровой сосны *P. sibirica*. Сообщ. IV. Генетическое разнообразие и степень генетической дифференциации между популяциями // Генетика. 1989. Т. 25, № 11. С. 2009–2032.
- Ларионова А.Я., Яхнева (Орешкова) Н.В.** Наследование аллозимных вариантов у лиственницы Гмелина // Хвойные бореальной зоны. 2003. Вып. 1. С. 60–66.
- Ларионова А.Я., Яхнева (Орешкова) Н.В., Кузьмина Н.А.** Генетическая изменчивость лиственницы сибирской в Нижнем Приангарье // Лесоведение. 2003. № 4. С. 17–22.
- Ларионова А.Я., Яхнева (Орешкова) Н.В., Абаимов А.П.** Генетическое разнообразие и дифференциация популяций лиственницы Гмелина в Эвенкии (Средняя Сибирь) // Генетика. 2004. Т. 40, № 9. С. 1370–1377.
- Орешкова Н.В.** Аллозимный полиморфизм ферментов лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) и лиственницы Каяндера (*Larix cajanderi* Mayr.) // Хвойные бореальной зоны. 2008. Т. XXV, № 1–2. С. 160–167.
- Орешкова Н.В.** Генетическая дифференциация лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) в Средней Сибири // Хвойные бореальной зоны. 2010. Т. XXVII, № 1–2. С. 147–153.
- Полежаева М.А.** Генетическая изменчивость цитоплазматических маркеров и биогеография лиственниц (*Larix* Mill., *Pinaceae*) Дальнего Востока России: Дис. ... канд. биол. наук. Екатеринбург, 2010. 137 с.
- Потенко В.В., Разумов П.Н.** Генетическая изменчивость и популяционная структура лиственницы даурской на территории Хабаровского края // Лесоведение. 1996. № 5. С. 11–18.
- Семериков В.Л.** Оценка генетической изменчивости лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ldb.) // Материалы совещ. “Вид и его продуктивность в ареале”. СПб., 1993. С. 332–334.
- Семериков В.Л.** Популяционная структура и молекулярная систематика видов *Larix* Mill.: Дис. ... д-ра биол. наук. Екатеринбург, 2007. 260 с.
- Семериков В.Л., Матвеев А.В.** Изучение генетической изменчивости лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ldb.) по изоферментным локусам // Генетика. 1995. Т. 31, № 8. С. 1107–1113.
- Сурсо М.В.** Генетический полиморфизм популяций хвойных Европейского Севера // Изв. Самар. науч. центра РАН. 2009. Т. 11, № 1. С. 389–393.
- Тимерьянов А.Ш., Шигапов З.Х., Янбаев Ю.А.** Генетическая изменчивость лиственницы Сукачева на Южном Урале. I: Механизм генного контроля изоферментных систем // Генетика. 1994. Т. 30, № 9. С. 1243–1247.
- Тимерьянов А.Ш., Старова Н.В., Бахтиярова Р.М.** Генетическая изменчивость лиственницы Сукачева (*Larix sukaczewii* Dyl.) на Южном Урале. II: Уровни изоферментной изменчивости в природных популяциях // Генетика. 1996. Т. 32, № 2. С. 267–271.
- Шигапов З.Х., Путенихин В.П., Шигапова А.Ш., Уразбахтина К.А.** Генетическая структура уральских популяций лиственницы Сукачева // Генетика. 1998. Т. 34, № 1. С. 65–74.
- Шурхал А.В., Подогас А.В., Семериков В.Л., Животовский Л.А.** Аллозимный полиморфизм лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) // Генетика. 1989. Т. 25, № 10. С. 1899–1901.
- Adams W.T., Joly R.I.** Genetics of allozyme variants in Loblolly Pine // Heredity. 1980. V. 71. P. 33–40.
- Brewer G.J.** Introduction to isozyme techniques. N.Y.; L., 1970. 186 p.
- Cheliak W.M., Pitel J.A.** Inheritance and linkage of allozymes in *Larix laricina* // Silvae Genet. 1985. V. 34. P. 142–148.
- Cheliak W.M., Wang J., Pitel J.A.** Population structure and genic diversity in tamarack, *Larix laricina* (Du Roi) K. Koch // Can. J. For. Res. 1988. V. 18. P. 1318–1324.
- Felsenstein J.** PHYLIP – Phylogeny Inference Package (Version 3.2) // Cladistics. 1989. V. 5. P. 164–166.
- Fins L., Seeb L.W.** Genetic variation in allozymes of western larch // Can. J. Forest. 1986. V. 16. P. 1013–1018.
- Guries R.P., Ledig F.T.** Gene diversity and population structure in pitch pine (*Pinus rigida* Mill.) // Evolution. 1982. V. 36. P. 387–402.
- Lewandowski A., Mejnartowicz L.** Inheritance of allozymes in *Larix decidua* Mill. // Silvae Genet. 1990. Bd. 39. S. 184–188.
- Lewandowski A., Mejnartowicz L.** Levels and patterns of allozyme variation in some European larch (*Larix decidua*) populations // Hereditas. 1991. V. 115, No. 3. P. 221–226.

- Lewandowski A., Berczyk J., Mejnartowicz L.** Genetic structure and the mating system in an old stand of polish larch // *Silvae Genet.* 1991. Bd. 40. S. 75–79.
- Liu Z., Knowles P.** Patterns of allozyme variation in tamarack (*Larix laricina*) from northern Ontario // *Can. J. Bot.* 1991. V. 69. P. 2468–2474.
- Majer J.** Genetic variability in European larch (*Larix decidua* Mill.) // *Ann. Sci. For.* 1992. V. 49. P. 39–47.
- Manchenko G.P.** Handbook of detection of enzymes on electrophoretic gels. CRC Press, Ins. 1994. 574 p.
- Mantel N.** The detection of disease clustering and a generalized regression approach // *Cancer Research.* 1967. No. 27. P. 209–220.
- Markert C.L., Faulhaber I.** Lactate dehydrogenase isozyme patterns in fish // *J. Exp. Zool.* 1965. V. 159, No. 2. P. 319–332.
- Nei M.** Genetic distance between populations // *Amer. Natur.* 1972. V. 106. P. 283–291.
- Oreshkova N.V., Larionova A.Ya., Milyutin L.I., Abaimov A.P.** Genetic diversity, structure and differentiation of Gmelin larch (*Larix gmelinii* (Rupr.) Rupr.) populations from Central Evenkia and Eastern Zabaikalje // *Eurasian J. Forest Res.* 2006. V. 9-1. P. 1–8.
- Peakall R., Smouse P.E.** GenAlEx V6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // *Molecular Ecology Notes.* 2006. V. 6, No. 1. P. 288–295.
- Polezhaeva M.A., Lascoux M., Semerikov V.L.** Cytoplasmic DNA variation and biogeography of *Larix* Mill. in Northeast Asia // *Molecular Ecology.* 2010. V. 19. P. 1239–1252.
- Ridgway G.J., Sherburne S.W., Lewis R.D.** Polymorphism in the Esterases of Atlantic Herring // *Trans. Amer. Fish. Soc.* 1970. V. 99. P. 147–151.
- Semerikov V.L., Lascoux M.** Genetic relationships among Eurasian and American *Larix* species based on allozymes // *Heredity.* 1999. V. 83. P. 62–70.
- Semerikov V.L., Semerikov L.F., Lascoux M.** Intra- and interspecific allozyme variability in Eurasian *Larix* Mill. species // *Heredity.* 1999. V. 82. P. 193–204.
- StatSoft I. STATISTICA for Windows [Computer program manual]. Tulsa, OK: StatSoft, Inc., 1998.
- Timerjanov A.S.** Lack of allozyme variation in *Larix sukaczewii* Dyl. from the Southern Urals // *Silvae Genet.* 1997. Bd. 46, H. 2/3. S. 61–64.
- Weir B.C., Cockerham C.C.** Estimating F-statistics for the analysis of population structure // *Evolution.* 1984. V. 38. P. 1358–1370.
- Wright S.** The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating // *Evolution.* 1965. V. 19. P. 355–420.
- Ying L., Morgenstern E.K.** Inheritance and linkage relationships of some isozymes of *Larix laricina* in New Brunswick, Canada // *Silvae Genet.* 1990. Bb. 39, H. 5–6. S. 245–250.
- Ying L., Morgenstern E.K.** The population structure of *Larix laricina* in New Brunswick, Canada // *Silvae Genet.* 1991. Bd. 40, H. 5. S. 180–184.