

УДК 575.174.015.3:582.475.2

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЯДЕРНЫХ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ У ЛИСТВЕННИЦ ГМЕЛИНА (*LARIX GMELINII* (RUPR.) RUPR.) И КАМЧАТСКОЙ (*LARIX KAMTCHATICA* (RUPR.) CARR)

Н.В. Орешкова¹, М.М. Белоконов², С. Жамъянсуурен³

¹ Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН
660036 Красноярск, Академгородок, д. 50, стр. 28; e-mail: oreshkova@ksc.krasn.ru

² Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН
119991 Москва, ул. Губкина, 3

³ Институт ботаники АНМ, Улан-Батор, Монголия

Генетическая изменчивость ядерных микросателлитных маркеров изучалась в 2 популяциях лиственницы Гмелина и 4 популяций лиственницы камчатской. 180 особей двух видов генотипировали по 7 полиморфным микросателлитным локусам. Проведенный генетический анализ показал, уровень генетического разнообразия лиственницы Гмелина из Монголии более высокий, по сравнению с камчатскими выборками. Дифференциация изученных популяций по ядерным микросателлитным маркерам составляет 7 % ($F_{st}=0,07$), обнаружена слабая достоверная корреляция генетических дистанций с географическими расстояниями между популяциями двух видов ($r = 0,909$, $P = 0,04$).

Ключевые слова: лиственница Гмелина, лиственница камчатская, микросателлиты, генетическое разнообразие, внутри- и межвидовая дифференциация

We studied genetic variability of nuclear microsatellite loci in two Gmelin larch and four Kamchatka larch populations. 180 individuals from two species were genotyped using seven polymorphic microsatellites. Genetic diversity was higher in Gmelin larch populations from Mongolia than in Kamchatka larch populations. Differentiation among populations under study by nuclear microsatellites was 7% ($F_{st}=0,07$). Correlation between genetic and geographic distances among two species populations was significant ($r=0,909$, $P=0,04$) according to Mantel's test.

Key words: Gmelin larch, Kamchatka larch, microsatellites, genetic diversity, intra- and interpopulation differentiation

ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия популяционно-генетические исследования некоторых представителей семейства *Pinaceae* начали проводиться с помощью методов, основанных на полимеразной цепной реакции (ПЦР). Одним из таких наиболее перспективных методов является микросателлитный анализ. Под микросателлитным анализом понимается определение числа коротких tandemных повторов ДНК в определенных участках ДНК, называемых микросателлитными локусами (Сулимова, 2004). У микросателлитов повторяющийся мотив имеет длину 1-9 п.н. (чаще 2-4 п.н.). При анализе метод относительно недорог, для многих древесных растений показано, что можно адаптировать праймеры с других видов того же рода. Высокий уровень полиморфизма микросателлитов, относительно равномерное их распределение в геноме и широкая представленность, сделала их чрезвычайно популярными и широко используемыми в современных популяционно-генетических исследованиях хвойных.

Несмотря на определенные успехи и практические достижения в области изучения генетической изменчивости видов рода *Larix*, многие вопросы о структуре, генетическом разнообразии,

внутри- и межвидовой дифференциации популяций остаются открытыми (Шурхал и др., 1989; Шигапов и др., 1998; Семериков, Матвеев, 1995; Semerikov et al., 1999; Ларионова и др., 2003, 2004; Орешкова, Ларионова, 2006, 2007; Орешкова, 2008, 2009, 2010; Орешкова, Барченков, 2009, 2010; Абаимов и др., 2010 и т.п.). В первую очередь это связано с крайне малым количеством работ, основанных на изучении полиморфизма непосредственного носителя генетической информации – ДНК, а также огромными ареалами распространения представителей этого рода.

Целью нашей работы явилось получение информации для оценки генетической изменчивости популяций лиственниц Гмелина и камчатской на основе ядерного микросателлитного анализа. Подобных исследований по этим видам ранее не проводилось.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве объектов исследования взяты выборки двух популяций лиственницы Гмелина из Монголии и четырех популяций лиственницы камчатской из Камчатского края. Видовую принадлежность выборок определяли по работам Е.Г. Боброва (1972, 1978), А.П. Абаимова и И.Ю. Коропачинского (1984), не вдаваясь в таксономические дискуссии. Названия популяций и их местоположение представлены в таблице 1.

Работа проводилась в рамках проектов РФФИ (№ 11-04-00478-а; №11-04-92112-ЯФ_а)

Материалом для выделения ДНК послужила хвоя, собранная с 180 деревьев. Выделения проводили по стандартному протоколу, составленному

для растительных тканей с применением цетилтриметиламмонийбромидом (СТАВ-метод) согласно (Devey et al., 1996).

Таблица 1 - Географическое расположение исследованных популяций лиственницы

	Популяции	Обозначение	Район расположения	Географические координаты	Высота н.у.м., м
			<i>Монголия</i>		
<i>L. gmelinii</i>	Баян-Уул 1	БУ-1	Близ северо-восточной границы Монголии, 30 км. в северо-восточном направлении от п. Баян-Уул.	49°25'с.ш. 112°44'в.д.	1231
	Баян-Уул-2	БУ-2	Близ северо-восточной границы Монголии, 7 км. на юго-запад от п. Баян-Уул.	49°02'с.ш. 112°38'в.д.	1044
			<i>Камчатский край</i>		
<i>L. kamtschatica</i>	Таежная	ТЖ	Мильковский район Камчатского края, окр. п. Таежный.	55°16'с.ш. 159°08'в.д.	198
	Горный ключ	ГК	Быстринский район Камчатского края, окр. п. Горный ключ 21-ый км. дороги в с. Эссо.	55°57'с.ш. 159°12'в.д.	480
	Уксичан	УК	Быстринский район Камчатского края, окр. с. Эссо.	55°56'с.ш. 158°38'в.д.	523
	Крапивная	КР	Быстринский район Камчатского края, окр. р. Крапивная, молодняк на пепловых песках.	55°54'с.ш. 159°34'в.д.	220

Выделенную ДНК использовали для проведения ПЦР с семью парами праймеров, разработанных ранее для лиственниц японской – группа bcLK (Isoda, Watanabe, 2006), альпийской и западной группы - UAKLY (Khasa et al., 2000; Khasa et al., 2006) и UBCLX (Chen et al., 2009). Для проведения ПЦР использовали готовые реакционные смеси GenePak® PCR Core производства ООО «Лаборатория Изоген». Характеристики 7 микросателлитных локусов, отобранных в результате тестирования 25 праймеров и условия ПЦР-амплификации приведены в таблице 2.

Таблица 2 - Характеристика микросателлитных локусов, отобранных для анализа генетической изменчивости лиственницы

Локус	Мотив	t°C отжига	Источник литературы
<i>bcLK056</i>	(AG) ₂₀	63-53	Isoda, Watanabe, 2006
<i>bcLK066</i>	(TG) ₁₂		
<i>bcLK224</i>	(AG) ₁₇		
<i>bcLK260</i>	(TG) ₁₄ (AG) ₉		
<i>bcLK235</i>	(TC) ₉ (AC) ₂ AG(AC) ₁₄	58	Chen et al., 2009
<i>UBCLXtet-1-22</i>	(TATC) ₉ (TA) ₁₂		
<i>UAKLY6</i>	(GT) ₁₇		

Электрофоретическое разделение полученных в результате амплификации фрагментов проводили в 6 % полиакриламидном геле с использованием Трис-EDTA-боратного электродного буфера в стандартных камерах VE-20, производства ООО «Хеликон». В качестве маркера стандартных длин использовалась ДНК плазмиды pBR322, обработанная рестриктазой *Hpa II*. Гели окрашивали в растворе бромистого этидия. Визуализацию и документирование продуктов разделения проводили в ультрафиолетовом свете с помощью трансил-

люминатора и системы гель-документирования. Молекулярный вес фрагментов определяли путем сопоставления со стандартными маркерами в программе Photo-Capt. Обработку полученных данных производили в программе GenAEx 6.2 (Peakall, Smouse, 2006). Тест Мантела, выполненный в программе GenAEx 6.2, применяли для выявления связи генетических расстояний D на основе микросателлитного анализа с географическими расстояниями между популяциями лиственниц Гмелина и камчатской (Mantel, 1967).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе анализа 7 ядерных микросателлитных локусов в шести природных популяциях лиственниц Гмелина и камчатской из различных районов их естественного распространения в Монголии и Камчатском крае выявлено 76 аллельных вариантов (табл. 3). Все проанализированные локусы оказались полиморфными. При этом наиболее высокополиморфными были локусы *bcLK056*, *bcLK235*, *bcLK260* и *UAKLY6*, у которых наблюдалось от 11 до 17 аллелей. У остальных локусов (*bcLK066*, *bcLK224*, *UBCLXtet_1-22*) выявленный полиморфизм был сравнительно ниже. У них обнаружено от 4 до 8 аллельных вариантов. По перечисленным выше локусам нуль-аллели выявлены не были. Частоты встречаемости всех выявленных аллелей по всем проанализированным микросателлитным локусам в каждой из включенных в исследование популяций лиственниц приведены в таблице 3.

У популяций обоих видов идентифицированные ядерные микросателлитные локусы были общими, однако их аллельный состав существенно отличался (табл. 3). Наибольшее аллельное разно-

образе наблюдалось у выборок лиственницы Гмелина (68 аллелей), а наименьшее – у лиственницы камчатской (43 аллеля). 35 аллелей (46 %) явились общими у обоих видов. У каждого вида были выявлены видоспецифичные аллели, которые не встречаются у другого вида.

Например, у исследованных выборок лиственницы Гмелина таких аллелей было выявлено 33, и касались они главным образом высокополиморфных локусов *bcLK056*, *bcLK260* и *bcLK235*. У выборок лиственницы камчатской обнаружено лишь 6 таких аллелей.

Таблица 3 - Частоты аллелей семи изученных ядерных микросателлитных локусов в популяциях лиственниц Гмелина и камчатской

Локусы	Аллели	<i>L. gmelinii</i>			<i>L. kamtschatica</i>		
		БУ-1	БУ-2	ТЖ	ГК	УК	КР
1	2	3	4	5	6	7	8
<i>bcLK056</i>	148	0,033	0,067	-	-	-	-
	150	-	0,033	-	-	-	-
	152	0,033	0,033	-	-	-	-
	154	0,183	0,200	-	-	-	-
	162	0,033	-	-	-	-	-
	166	0,033	-	-	-	-	-
	168	0,050	0,050	0,017	-	0,033	-
	170	0,133	0,033	0,050	0,067	-	0,033
	172	0,117	0,267	0,700	0,633	0,700	0,633
	174	0,033	0,183	0,033	0,167	0,150	0,150
	178	0,150	0,050	-	-	-	0,017
	180	0,017	0,017	0,200	0,133	0,117	0,167
	182	0,050	-	-	-	-	-
	186	0,017	-	-	-	-	-
<i>bcLK224</i>	188	0,050	0,033	-	-	-	-
	194	-	0,033	-	-	-	-
	198	0,067	-	-	-	-	-
	128	0,200	0,367	0,150	0,233	0,167	0,467
	130	0,117	0,050	0,033	0,233	0,050	0,083
	132	0,583	0,550	0,700	0,317	0,717	0,350
	134	0,050	0,033	0,117	0,217	0,067	0,100
	138	0,050	-	-	-	-	-
	143	-	-	0,017	-	-	-
	145	-	-	0,017	-	-	-
<i>bcLK066</i>	147	0,117	0,017	-	0,017	-	-
	149	-	-	0,083	-	0,033	0,033
	151	0,133	0,117	0,100	0,033	0,100	0,150
	153	0,633	0,767	0,667	0,700	0,817	0,667
	155	0,067	0,033	0,083	0,200	0,033	0,150
	157	0,050	0,067	0,033	0,050	0,017	-
<i>bcLK260</i>	98	-	-	0,100	-	-	0,033
	102	-	-	0,117	0,133	-	0,283
	104	0,033	-	-	0,083	0,067	0,017
	106	0,017	0,083	0,183	0,133	0,167	0,117
	108	0,167	0,300	0,600	0,650	0,767	0,550
	110	0,150	0,167	-	-	-	-
	112	0,017	0,133	-	-	-	-
	116	0,133	0,133	-	-	-	-
	120	0,200	0,033	-	-	-	-
	124	0,167	0,083	-	-	-	-
	130	0,050	0,017	-	-	-	-
	132	-	0,033	-	-	-	-
	134	0,067	-	-	-	-	-
	136	-	0,017	-	-	-	-
<i>bcLK235</i>	180	0,017	-	-	-	-	-
	184	0,083	-	-	-	-	-
	188	0,050	0,050	-	-	-	-
	190	-	0,067	-	-	-	-
	192	0,050	0,017	-	-	-	-
	194	0,083	0,100	-	-	-	-
	196	-	0,017	-	-	-	0,650
	198	0,333	0,200	0,733	0,600	0,517	0,050
	200	0,083	0,200	-	0,083	-	-
	202	0,167	0,083	-	-	-	-
	204	0,033	0,100	-	-	-	0,283
	206	0,050	0,067	0,133	0,217	0,383	-
	208	0,017	0,067	-	-	-	0,017

Продолжение табл. 3							
1	2	3	4	5	6	7	8
<i>UBCLXtet-1-22</i>	210	-	0,017	-	0,083	0,050	-
	212	0,033	-	0,117	0,017	0,050	-
	214	-	0,017	-	-	-	-
	216	-	-	0,017	-	-	-
	178	0,083	0,100	0,050	0,100	0,100	0,067
	180	0,017	0,050	0,250	0,117	0,050	0,083
	182	0,683	0,617	0,367	0,500	0,650	0,567
	184	0,217	0,233	0,333	0,283	0,200	0,283
	230	0,050	-	-	-	-	-
	232	-	0,033	0,017	-	-	0,117
	236	0,083	0,017	-	-	-	0,033
	238	0,383	0,400	0,183	0,333	0,283	0,200
	240	0,067	0,033	0,033	-	0,067	0,050
<i>UAKLlyб</i>	242	0,150	0,133	0,150	0,200	0,100	0,100
	244	-	-	0,133	-	0,050	-
	246	0,033	-	0,017	0,050	-	0,017
	248	0,100	0,033	0,050	0,017	-	0,183
	250	-	-	-	0,050	-	-
	252	0,133	0,350	0,417	0,350	0,500	0,300

Сравнительный анализ изученных популяций показал, что, несмотря на сходство их генетических структур, обусловленное большим числом общих аллелей, практически каждая из исследованных популяций лиственниц Гмелина и камчатской

характеризуется той или иной степенью своеобразия по числу, составу и частотам встречаемости аллелей. Так, общее число выявленных в отдельных популяциях аллелей варьирует от 29 до 59, редких – от 4 до 19, уникальных – от 0 до 10.

Наибольшее аллельное разнообразие наблюдается в обеих популяциях лиственницы Гмелина из Монголии. Из данных, представленных в таблице 3, более высокое по сравнению с другими популяциями аллельное разнообразие в этих популяциях обеспечивается в основном за счет редких аллелей. Кроме того, в этих популяциях обнаружено самое большое число уникальных аллелей. В популяциях Камчатского края наблюдается существенное снижение аллельного разнообразия. Наиболее низкое число аллелей выявлено в популяции лиственницы камчатской – «Уксичан».

Таблица 4 - Гетерогенность аллельных частот

Локусы	n	d. f.	χ^2	P*
<i>bcLK056</i>	17	136	1541,710	0,000***
<i>bcLK224</i>	5	10	205,303	0,000***
<i>bcLK066</i>	8	28	104,222	0,000***
<i>bcLK260</i>	14	91	809,669	0,000***
<i>bcLK235</i>	17	136	911,370	0,000***
<i>UBCLXtet-1-22</i>	4	6	77,086	0,000***
<i>UAKLlyб</i>	11	55	361,277	0,000***
В целом		462	4010,637	0,000***

Примечание: P - уровень значимости P<0,05; ** - P<0,01; *** - P<0,001; d. f. - число степеней свободы; n - число аллелей

Анализ изменчивости частот аллелей с помощью χ^2 -теста на гетерогенность показал, что наблюдаемая гетерогенность аллельных частот у изученных популяций лиственниц в исследован-

ных регионах является статистически достоверной, причем на очень высоком уровне значимости ($\chi^2 = 4010,637$, DF = 462, P < 0,001) (табл. 4).

Существенные различия между популяциями лиственниц Гмелина и камчатской наблюдаются также по составу и частотам генотипов. Всего в исследованных популяциях идентифицировано 166 генотипов, 119 из них являются видоспецифичными. Наибольшее число генотипов обнаружено у высокополиморфных локусов *bcLK056*, *bcLK260*, *bcLK235*, *UAKLlyб*. Число генотипов в них варьировало от 30 до 35. В остальных локусах (*bcLK224*, *bcLK066*, *UBCLXtet-1-22*) число генотипов было 8-16.

Во всех исследованных популяциях лиственницы у большинства локусов выявлены статистически достоверные отклонения от ожидаемого при случайном скрещивании распределения генотипов. В каждой популяции, кроме «Баян Уул-1» у отдельных локусов наблюдаемые частоты генотипов соответствовали ожидаемым в соответствии с законом Харди-Вайнберга, причем в разных популяциях соответствия между наблюдаемыми и ожидаемыми частотами генотипов обнаруживали разные локусы (табл. 5).

Для определения уровня генетического разнообразия в каждой из исследованных нами популяций были рассчитаны величины основных показателей генетической изменчивости. В таблице 6 приведены значения этих показателей, рассчитанных по 7 локусам, для каждой из 6 включенных в анализ популяций лиственниц.

Из представленных в таблице 6 данных заметно, что значения всех параметров, использованных нами для оценки генетического разнообразия, варьируют.

Кроме того, достаточно четко видно, что уровень генетического разнообразия лиственница Гмелина из Монголии оказался более высоким при анализе перечисленных выше показателей (табл. 6), по сравнению с камчатскими выборка-

ми. Это, по-видимому, вызвано изолированностью и специфическими природно-климатическими условиями произрастания последних. Сопоставление наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности показало, что во всех популяциях наблюдался дефицит гетерозиготных генотипов.

Наиболее высокие значения индекса фиксации Райта (F) (табл. 6), были выявлены у популяций из Монголии (F=0,459). Это объясняется малочисленностью популяций, значительной фрагментированностью, подверженностью пирогенным факторам и самоопылением, приводящим к высокой степени инбридинга.

Таблица 5 - Анализ соответствия наблюдаемых распределений генотипов ожидаемым при равновесии Харди-Вайнберга

Локусы	<i>L. gmelinii</i>			<i>L. kamschatica</i>		
	Баян Уул-1	Баян Уул-2	Таежная	Горный ключ	Уксичан	Крапивная
<i>bcLK056</i>	303,732***	182,297***	22,755*	38,478***	ns	50,864***
<i>bcLK224</i>	42,237***	14,656*	27,128***	ns	44,649***	58,071***
<i>bcLK066</i>	40,656***	ns	ns	25,136**	51,813***	45,041***
<i>bcLK260</i>	104,989***	114,879***	19,274**	54,061***	47,170***	55,036***
<i>bcLK235</i>	139,467***	167,717***	13,993*	39,054***	ns	ns
<i>UBCLXtet-1-22</i>	25,086***	25,577***	ns	36,287***	19,660**	22,812***
<i>UAKLlyб</i>	86,847***	71,820***	93,003***	28,435*	34,579***	107,615***

Примечание: n.s. – гетерогенность не существенна; * - P<0.05; ** - P<0.01; *** - P<0.001

Таблица 6 - Показатели генетической изменчивости лиственницы сибирской, рассчитанные по результатам ядерного микросателлитного анализа

Популяции	N	N _a	N _e	H _o	H _e	F
<i>Лиственница Гмелина</i>						
<i>Баян Уул-1</i>	30	8,429	4,813	0,371	0,715	0,467
<i>Баян Уул-2</i>	30	7,857	4,235	0,352	0,678	0,452
<i>В среднем для вида</i>		8,143	4,524	0,362	0,697	0,459
<i>Лиственница камчатская</i>						
<i>Таежная</i>	30	5,143	2,463	0,414	0,560	0,249
<i>Горный ключ</i>	30	4,571	2,704	0,400	0,606	0,361
<i>Уксичан</i>	30	4,143	2,025	0,352	0,483	0,320
<i>Крапивная</i>	30	4,857	2,742	0,271	0,599	0,530
<i>В среднем для вида</i>		4,679	2,484	0,360	0,562	0,365
<i>В среднем для всех изученных популяций</i>		5,833±0,446	3,164±0,289	0,360±0,024	0,607±0,023	0,396±0,038

N_a - среднее число аллелей на локус, N_e – эффективно число аллелей на локус, H_o – наблюдаемая гетерозиготность, H_e – ожидаемая гетерозиготность, F – индекс фиксации.

Выявленные значения основных показателей генетического полиморфизма свидетельствуют о достаточно высоком в среднем уровне генетического разнообразия лиственниц Гмелина и камчатской в исследованных регионах (табл. 6) и согласуются с результатами изучения других видов рода *Larix* (Khasa et al., 2006; Isoda, Watanabe, 2006; Chen et al., 2009). Сравнение показателей генетической изменчивости, полученных в выше упомянутых публикациях, с оценками в данной работе затруднительно, поскольку существенно отличаются объекты, методики проведения исследований и анализируемые наборы локусов. Кроме того, стоит отметить, что данные работы, по большей части носят лишь методический характер и не представляют результатов популяционно-генетического анализа.

Для определения степени подразделенности изученных популяций использовали коэффициенты F-статистики, предложенные С. Райтом

(Wright, 1965; Guries, Ledig, 1982). Значения коэффициентов инбридинга особи относительно популяции F_{is}, инбридинга особи относительно вида F_{it} и инбридинга популяции относительно вида F_{st}, рассчитанных для каждого из проанализированных локусов лиственниц Гмелина и камчатской, представлены в табл. 7.

Таблица 7 - Значения показателей F-статистик Райта

Локус	F _{is}	F _{it}	F _{st}
<i>bcLK056</i>	0,487	0,544	0,110
<i>bcLK224</i>	0,462	0,502	0,073
<i>bcLK066</i>	0,316	0,334	0,026
<i>bcLK260</i>	0,586	0,633	0,114
<i>bcLK235</i>	0,305	0,371	0,094
<i>UBCLXtet-1-22</i>	0,291	0,314	0,033
<i>UAKLlyб</i>	0,373	0,399	0,041
<i>В среднем</i>	0,403±0,042	0,442±0,045	0,070±0,014

Из данных, представленных в таблице 7, видно, что величина коэффициента F_{is} варьирует от 0,291 (*UBCLXtet-1-22*) до 0,586 (*bcLK260*), составляя в среднем 0,403. Положительное среднее значение F_{is} указывает на 40 %-ный недостаток гетерозиготных генотипов. Коэффициент F_{it} также имеет положительное значение и равняется в среднем 0,442, что указывает на 44 % дефицит гетерозигот у вида в исследованной части ареала в целом. Оценка показателя F_{st} , отражающего степень подразделенности популяций, показала, что 93 % выявленной в популяциях лиственниц Гмелина и камчатской генетической изменчивости реализуется внутри популяций и только 7 % ($F_{st}=0,07$) распределяется между популяциями. Полученное среднее значение F_{st} указывает на генетическую подразделенность изученных популяций лиственницы. Наибольший вклад в межпопуляционную составляющую изменчивости вно-

сят высокополиморфные локусы *bcLK056* ($F_{st}=0,110$), *bcLK260* ($F_{st}=0,114$), наименьший – локусы *bcLK066* ($F_{st}=0,026$) и *UBCLXtet-1-22* ($F_{st}=0,033$).

На основании частот аллелей выявленных ядерных микросателлитных локусов проведена количественная оценка степени генетических различий между исследованными выборками лиственниц Гмелина и камчатской. Генетическое расстояние D (Нея, 1972) между популяциями колеблется от 0,046 до 0,303, составляя в среднем 0,157 (табл. 8). Согласно тесту Мантела, генетические расстояния между исследованными популяциями, основанные на частотах ядерных микросателлитных фрагментов, слабо, но довольно четко коррелировали с географическими расстояниями между выборками ($r=0,909$, $P=0,04$). Анализ главных координат (РСА-анализ) также хорошо иллюстрирует этот вывод (рис. 1).

Таблица 8 - Генетические расстояния М. Нея между изученными популяциями лиственниц

Баян Уул-1	Баян Уул-2	Таежная	Горный ключ	Уксичан	
0,085	***				Баян Уул-2
0,303	0,233	***			Таежная
0,276	0,188	0,074	***		Горный ключ
0,244	0,151	0,058	0,062	***	Уксичан
0,276	0,192	0,083	0,046	0,083	Крапивная



Рисунок 1 - Проекция изученных выборок лиственницы на плоскости двух координат по данным РСА-анализа матрицы генетических расстояний М. Нея



Рисунок 2 - Тест AMOVA (компьютерная программа GenAlEx V.6)

Результаты теста распределения генетической изменчивости (AMOVA) с учетом иерархических уровней (популяции, группы популяций, виды *Larix*) показали, что на межвидовую генетическую изменчивость приходится 10 %, межпопуляционную 3 %, внутривидовую 87 % (рис. 2).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате изучения популяций лиственниц Гмелина и камчатской выявлено высокое генетическое разнообразие по ядерным микросателлитным локусам. Отмечены достоверные различия частот аллелей между выборками. В популяциях обоих видов наблюдается значительный недостаток гетерозигот, отражающий высокую степень инбридинга. Показатели генетического разнообразия камчатской лиственницы несколько ниже, чем лиственницы Гмелина, что, вероятно, связано с историей распространения видов и специфическими природно-климатическими условиями произрастания.

Генетические расстояния между популяциями отражают межвидовые и межпопуляционные различия и достоверно коррелируют с географическими дистанциями. Максимум генетической изменчивости приходится на внутривидовую. Межвидовая изменчивость составляет лишь 10 % от всей изменчивости.

Полученные при помощи ядерных микросателлитных маркеров данные выявляют значительный объем генетического разнообразия популяций лиственницы, ранее недоступный для исследова-

дования с помощью морфологических признаков и аллозимных маркеров.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Абаимов, А.П. Биоразнообразие лиственниц Азиатской России / А.П. Абаимов И.Ю. и др. – Новосибирск: Изд-во «ГЕО», 2010 г. – 160 с.
- Абаимов, А.П. Лиственницы Гмелина и Каяндера / А.П. Абаимов, И.Ю. Коропачинский. - Новосибирск: Наука, 1984. - 120 с.
- Бобров, Е.Г. История и систематика лиственниц / Е.Г. Бобров // Комаровские чтения. - Л.: Наука, 1972. - Т. 25. - С. 35.
- Бобров, Е.Г. Лесообразующие хвойные СССР / Е.Г. Бобров. – Л.: Наука, 1978. – 189 с.
- Ларионова, А.Я. Генетическая изменчивость лиственницы сибирской в Нижнем Приангарье / А.Я. Ларионова и др. // Лесоведение.- 2003.- № 4.- С. 17-22.
- Ларионова, А.Я. Генетическое разнообразие и дифференциация популяций лиственницы Гмелина в Эвенкии (Средняя Сибирь) / А.Я. Ларионова, Н.В. Яхнева, А.П. Абаимов// Генетика.- 2004.- Т. 40.- №10.- С. 1370-1377.
- Орешкова, Н.В. Аллозимный полиморфизм лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) / Н.В. Орешкова, А.Я. Ларионова //Лесные экосистемы Северо-восточной Азии и их динамика: Мат. м/н. конф. - Владивосток, 2006. - С. 220-223.
- Орешкова, Н.В. Генетическое разнообразие лиственницы сибирской в Ужурской лесостепи (Красноярский край) / Н.В. Орешкова, А.Я. Ларионова // Вестник СВНЦ ДВО РАН. - 2007. - № 3. - С. 50-55.
- Орешкова, Н.В. Аллозимный полиморфизм ферментов лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) и лиственницы Каяндера (*Larix cajanderi* Mayr) / Н.В. Орешкова //Хвойные бореал. зоны.-2008.- Т. XXV.-№ 1-2.- С. 160-167.
- Орешкова, Н.В. Популяционно-генетические параметры лиственницы Гмелина в Восточном Забайкалье /Н.В. Орешкова //Вестник ТГУ.- 2009.- № 328.- С. 193 -198.
- Орешкова, Н.В. Генетическая дифференциация лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) в Средней Сибири / Н.В. Орешкова //Хвойные бореальной зоны.- 2010.-XXVII.-№1-2.-С.147-153.
- Орешкова, Н.В. Популяционная изменчивость лиственницы Каяндера в республике Саха (Якутия) / Н.В. Орешкова, А.П. Барченков // Вестник Северо-Восточного НЦ ДВО РАН.- 2009.- №1.- С. 81-87.
- Орешкова, Н.В. Генетические особенности и морфологическая изменчивость лиственницы сибирской в Алтайско-Саянской горной области / Н.В. Орешкова, А.П. Барченков // Вестник КрасГАУ. – 2010. - №10. – С. 59-64.
- Семериков, В.Л. Изучение генетической изменчивости лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ldb.) по изоферментным локусам / В.Л. Семериков, А.В. Матвеев // Генетика. - 1995. - Т.31.- № 8. - С. 1107-1113.
- Сулимова, Г.Е. ДНК-маркеры в генетических исследованиях: типы маркеров, их свойства и области применения / Г.Е. Сулимова // Успехи современной биологии. – 2004. – Т.124.- №3. – С. 260-271.
- Шурхал, А.В. Аллозимный полиморфизм лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) / А.В. Шурхал и др. // Генетика.- 1989.- Т. 25.- № 10.- С. 1899-1901.
- Шигапов, З.Х. Генетическая структура уральских популяций лиственницы Сукачева / З.Х. Шигапов и др.// Генетика.- 1998.- Т. 34.- № 1.- С. 65-74.
- Chen, C. Development and characterization of microsatellite loci in western larch (*Larix occidentalis* Nutt.) / C. Chen et al.// Molecular Ecology Resources.- 2009.- V.9.- I3. – P. 843-845.
- Devey, M.E. A genetic linkage map for *Pinus radiata* based on RFLP, RAPD, and microsatellite markers / M.E. Devey, J.C. Bell, D.N. Smith, D.B. Neale, G.F. Moran // Theor. Appl. Genet.- 1996.- V. 92.- № 6.- P. 673-679.
- Guries, R.P. Gene diversity and population structure in pitch pine (*Pinus rigida* Mill.) / R.P. Guries, F.T. Ledig // Evolution. – 1982. - Vol. 36.- P. 387-402.
- Isoda, K. Isolation and characterization of microsatellite loci from *Larix kaempferi* / K. Isoda, A. Watanabe // Molecular Ecology. – 2006. - V.6.- I. 3.- P. 664-666.
- Khasa, D.P. Isolation, characterization, and inheritance of microsatellite loci in alpine larch and western larch / D.P. Khasa, C.H. Newton, M.H. Rahman, B. Jaquish, B.P. Dancik // Genome. – 2000. - №43 (3). – P. 439-448.
- Khasa, D.P. Contrasting microsatellite variation between subalpine and western larch, two closely related species with different distribution patterns / D.P. Khasa et al.// Molecular Ecology. – 2006. - V.15.- I.13. – P. 3907-3918.
- Mantel, N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach / N. Mantel // Cancer Research. - 1967. - № 27. - P. 209-220.
- Nei, M. Genetic distance between populations / M. Nei // Amer. Natur. - 1972. - Vol. 106. - P. 283-291.
- Peakall, R. GenALEx V6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research / R. Peakall, P.E. Smouse // Molecular Ecology Notes. - 2006. - V.6.- № 1. - P. 288-295.
- Semerikov, V.L. Intra- and interspecific allozyme variability in Eurasian *Larix* Mill. species / V.L. Semerikov et al. // Heredity. - 1999. - Vol. 82. - P. 193-204.
- Wright, S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating / S. Wright // Evolution. - 1965. - Vol. 19. - P. 355-420.

Поступила в редакцию 17 января 2012 г.
Принята к печати 01 марта 2012 г.