

УДК 575.174.015.3:582.661.15(571.5)

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ В ПОЛИПЛОИДНОМ КОМПЛЕКСЕ *Suaeda corniculata* (С.А. Мей.) Bunge В ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ

© 2017 г. М. Н. Ломоносова^{1,*}, Д. Е. Никонова¹, М. Г. Куцев²,
О. В. Дорогина¹, А. Ю. Королюк¹

¹Центральный сибирский ботанический сад Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск 630090

²Южно-Сибирский ботанический сад, Алтайский государственный университет, Барнаул 656049

*e-mail: mlonosova@mail.ru

Поступила в редакцию 12.07.2016 г.

Впервые приводятся данные о дифференциации полиплоидного комплекса *Suaeda corniculata* (С.А. Мей.) Bunge в Восточной Сибири на основе изучения изменчивости морфологических признаков, кариологического анализа и генетического полиморфизма по составу межмикросателлитных (ISSR) маркеров. Установлено, что исследованные образцы относятся к трем цитотипам: диплоидам ($2n = 2x = 18$), тетраплоидам ($2n = 4x = 36$) и гексаплоидам ($2n = 6x = 54$). Анализ изменчивости морфологических признаков методом главных координат показал разбиение образцов на три обособленные группы. На основе морфологического и молекулярно-генетического методов выявлена генетически обособленная диплоидная популяция на территории Якутии.

Ключевые слова: *Suaeda*, изменчивость, ISSR-PCR, генетический полиморфизм, полиплоидия.

DOI: 10.7868/S001667581705006X

Полиплоидия широко распространена среди эукариот и играет важную роль в эволюции и видообразовании растений [1–3]. Среди покрытосеменных доля полиплоидных таксонов по разным оценкам составляет от 30 до 70% [4, 5]. Многие группы родственных видов образуют полиплоидные комплексы, в состав которых входят таксоны с различным уровнем пloidности. Согласно современным исследованиям, полиплоидизация может быть наиболее распространенным способом симпатрического видообразования у растений [6].

Род *Suaeda* (Chenopodiaceae) насчитывает более ста видов, половина из которых относится к подроду *Brezia* Forssk. ex J.F. Gmelin и обитает на засоленных и содовых местообитаниях, которые широко распространены в семиаридных и аридных условиях на равнинах, в депрессиях, по краю соленых или солоноватых озер. В подроду *Brezia* выделяется обширный полиплоидный комплекс – *S. corniculata* agg., представленный на территории Евразии диплоидными ($2n = 18$), тетраплоидными ($2n = 36$), гексаплоидными ($2n = 54$), октоплоидными ($2n = 72$) и декаплоидными ($2n = 90$) цитотипами [7]. Растения данного комплекса, как и всего рода *Suaeda*, характеризуются малым числом морфологических признаков, пригодных для разграничения отдельных таксонов. Отличительной особенностью представителей полиплоидного комплекса *S. corniculata* agg. является наличие

рожковидных выростов на листочках околоцветника, в результате чего большинство из них относилось ранее к одному таксономическому виду *S. corniculata* (С.А. Мей.) Bunge (Сведа рожконосная). На основании комплексного филогенетического анализа подрода *Brezia* с использованием морфологических, кариологических и молекулярно-генетических данных (анализ ITS регионов ядерной рДНК и *atpH-atpI* регионов хлоропластной ДНК) выявлено значительное генетическое разнообразие в пределах полиплоидного комплекса. Была показана обособленность ряда полиплоидных цитотипов, распространенных в Евразии, которые были описаны в ранге самостоятельных видов, а именно, *S. tuvunica* Lomon. et Freitag ($2n = 54$), *S. sibirica* Lomon. et Freitag ($2n = 72$) и *S. kulundensis* Lomon. et Freitag ($2n = 72, 90$). Из-за несоответствия положения указанных видов на филогенетических деревьях, построенных на основе фрагментов последовательностей ядерной и хлоропластной ДНК, было установлено, что они являются гибридогенными аллополиплоидными таксонами [8, 9].

В то же время в результате проведенного молекулярно-филогенетического анализа [8] не выявлено различий между другими таксонами, образующими хорошо обособленную кладу, в состав которой входят *S. pannonica* (Beck) Graebn. ($2n = 72$) и *S. corniculata* subsp. *corniculata* ($2n = 54$). Среди них *S. pannonica* является эндемичным видом

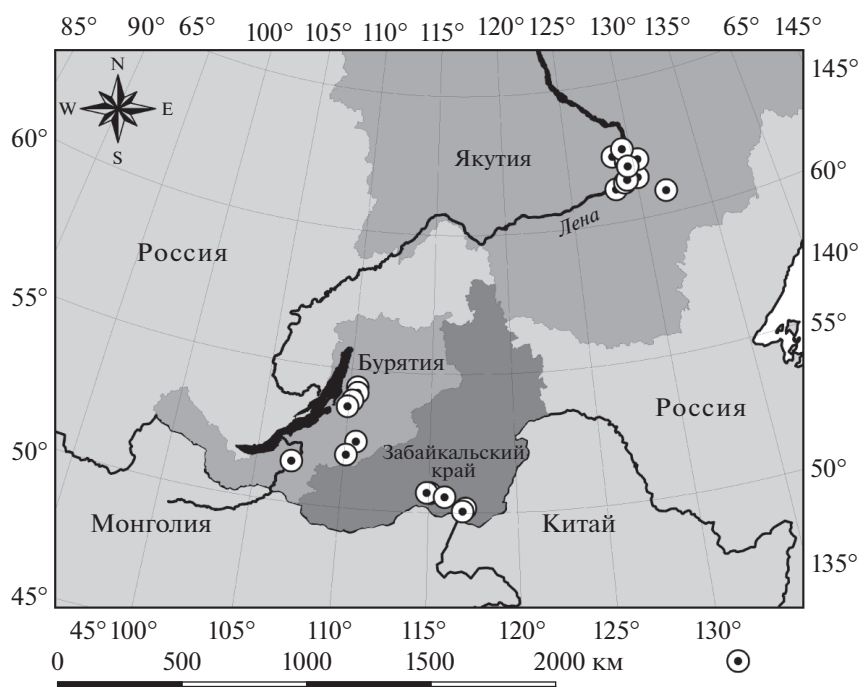


Рис. 1. Места сбора образцов.

Паннонских низменностей, обитающим на солончаках Австрии и Венгрии. Наиболее широко на территории Евразии распространен гексаплоидный цитотип *S. corniculata* subsp. *corniculata* (далее указывается как *S. corniculata* s. str.), доминирующий на засоленных местообитаниях в степной зоне Евразии от Волги до Якутии и Забайкалья. Тетраплоидный цитотип *S. corniculata* subsp. *mongolica* Lomon. et Freitag, генетическая структура которого не изучена, распространен в восточной части ареала полиплоидного комплекса, где встречается в Забайкалье, в Монголии и в северо-восточном Китае. По нашим наблюдениям *S. corniculata* subsp. *mongolica* произрастает в более ксерофитных условиях по сравнению с *S. corniculata* s. str. В редких случаях, когда оба подвида произрастают вместе, *S. corniculata* subsp. *mongolica* обычно располагается ближе к степным сообществам, а *S. corniculata* s. str. — к солончаковым сорах. Кроме того, на территории Якутии был обнаружен редкий диплоидный цитотип, обитающий симпатрически в сообществах *S. corniculata* s. str. Данный цитотип указывается далее под предварительным названием *S. "jacutica"*.

Таким образом, на территории Восточной Сибири распространены три цитотипа из рода *S. corniculata* s. l., таксономический статус которых до конца не выяснен. Для подтверждения таксономической обособленности отдельных цитотипов был проведен комплексный кариологический, морфологический и молекулярно-генетический анализ, в задачи которого входило:

1) определение уровня ploидности исследуемых образцов, 2) установление дифференциации отдельных цитотипов по комплексу морфологических признаков, 3) установление групп родства по данным ISSR анализа и 4) подтверждение на основе комплексного анализа таксономической обособленности отдельных цитотипов на территории Восточной Сибири.

Для исследования уровня генетического разнообразия и филогенетических взаимоотношений между близкими видами широко используются различные ДНК-маркеры, основанные на ПЦР. Среди них ISSR метод, который основан на амплификации коротких последовательностей, фланкированных микросателлитными повторами [10].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материал для исследования был собран в природных местообитаниях в степных котловинах в Забайкальском крае и в республиках Якутия и Бурятия на восточной границе ареала *S. corniculata* s. l. Материал отбирался случайным образом во время маршрутных исследований в районах наибольшего распространения засоленных экотопов (рис. 1).

Общий объем выборки составил 44 образца (табл. 1). Исходные гербарные образцы (ваучеры) хранятся в Гербарии ЦСБС СО РАН (NS).

Кариологический анализ. Уровень ploидности образцов определяли прямым подсчетом хромо-

Таблица 1. Список изученных образцов

Номер образца	Местонахождение	Плоидность (2n)
Забайкальский край		
1	Агинский р-н, 14 км ССЗ с. Кункур, 22.08.2012, АК ¹ , № 812	4x = 36
2	Агинский р-н, 14 км ССЗ с. Кункур, 22.08.2012, АК, № 807	4x = 36
3	Агинский р-н, оз. Кункур, 23.08.2012, АК, № 823	4x = 36
4	Забайкальский р-н, оз. Оробудук, 02.09.2012, АК, № 979	4x = 36
5	Забайкальский р-н, восточнее с. Семиозерье, 02.09.2012, АК, № 989	4x = 36
6	Оловянинский р-н, 20 км южнее с. Бырка, 04.09.2012, АК, № 1010	4x = 36
Республика Бурятия		
7	Еравнинский р-н, 7 км западнее с. Эгита, 14.08.2012, АК, № 688	4x = 36
8	Кижингинский р-н, с. Ульзыте, 16.08.2012, АК, № 731	4x = 36
9	Курумканский р-н, 20 км СВ с. Аргада, 10.09.2011, БН, б/н	4x = 36
10	Селенгинский р-н, 5 км ЮЗ с. Оронгой, 02.09.2011, АК, № 203	6x = 54
11	Баргузинский р-н, 12 км СЗ с. Баянгол, 11.09.2011, БН, б/н	4x = 36
47	Курумканский р-н, 15 км ЮЗ Аргада, 11.09.2011, АК, б/н	6x = 54
48	Баргузинский р-н, с. Суво, 8.09.2011, АК, № 264	6x = 54
Республика Саха (Якутия)		
12, 25, 26, 27, 28, 31	г. Якутск, 04.09.2012, МЛ, № 918; там же, 29.08.2012, МЛ, № 891	6x = 54
13	Намский тракт, пос. Жатай, 30.08.2012, МЛ, № 896	6x = 54
14	Намский тракт, между пос. Тулагино и Капитоновка, 30.08.2012, МЛ, № 897	6x = 54
15	Намский тракт, пос. Жатай, 20.08.2012, МЛ, № 782	6x = 54
16	Хангаласский р-н, Покровский тракт, 300 м от поворота на с. Техтюр, 23.08.2012, МЛ, № 834	6x = 54
17	Хангаласский р-н, пос. Булгунняхтах, 24.08.2012, МЛ, № 841	6x = 54
18	Амгинский р-н, пос. Амга, 07.09.2005, ЕН, б/н	6x = 54
19	Намский р-н, урочище Орголоох, 21.08.2012, МЛ, № 811	2x = 18
20	Хангаласский р-н, с. Ой, 23.08.2012, МЛ, № 836а	2x = 18
21	Мархинский стационар ИБПК, 30.08.2012, МЛ, № 914а	2x = 18
22	Намский тракт, с. Кильдямцы, 20.08.2012, МЛ, № 787а	2x = 18
23	Намский тракт, пос. Жатай, 20.08.2012, МЛ, № 781	2x = 18
29	г. Якутск, 02.09.2004, ВЗ, б/н	6x = 54
32	Хангаласский р-н, с. Ой, 23.08.2012, МЛ, № 836в	6x = 54
34, 38, 39, 43, 46	Мегино-Кангаласский р-н, 27 км Амгинского тракта от пос. Бестях на пос. Мая, 28.08.2012, МЛ, № 883, 889в	6x = 54
36, 37	Хангаласский р-н, 37 км Покровского тракта, 23.08.2012, МЛ, № 830в	6x = 54
40	Мархинский стационар ИБПК СО РАН, 30.08.2012, МЛ, № 914	6x = 54
41	Намский тракт, с. Кильдямцы, 20.08.2012, МЛ, № 787а	6x = 54
42	Мегино-Кангаласский р-н, пос. Тумул, 28.08.2012, МЛ, № 878	6x = 54
44	Покровский тракт, 12 км на юг от Якутска, 23.08.2012, МЛ, № 820	6x = 54
45	Якутский р-н, пос. Кангалассы, 30.08.2012, МЛ, № 912	6x = 54

Примечание. Коллекторы: АК – А. Королюк, БН – Б. Найданов, МЛ – М. Ломоносова, ЕН – Е. Николин, ВЗ – В. Захарова.

Таблица 2. Характеристики ISSR-праймеров, количество амплифицированных фрагментов, их полиморфизм

ISSR-праймер	Последовательность праймера	Общее число фрагментов ДНК	Уровень полиморфизма, %	Индекс Шеннона	Генетическая дистанция Неи
812	(GA) ₈ A	20	100	0.29881	0.186175
HB12	5'-(CAC) ₃ G-<C>-3'	17	100	0.2757	0.180365
HB14	5'-(CTC) ₃ G-<C>-3'	15	100	0.212113	0.12218
M10	5'-(CA) ₆ R-<G>-3'	19	100	0.323795	0.323795
UBC855	5'-(AC) ₈ CY-<T>-3'	13	100	0.301762	0.301762

сом в стадии метафазы на давленных препаратах из корневой меристемы. Семена проращивали на стерильном месте в чашках Петри. Для фиксации и последующего кариологического анализа часть проростков выдерживали 2 ч при комнатной температуре в 0.2%-ном растворе колхицина. Проростки фиксировали в уксусном спирте (3 : 1) и окрашивали ацетогематоксилином по Смирнову [11].

Анализ морфологических признаков. Каждое растение было оценено по 14 морфологическим признакам. При этом было проанализировано 8 количественных морфологических признаков, таких как высота растения (длина главного побега, см), диаметр главного побега у основания (мм), длина листа в средней части побега (мм), длина междоузлия в средней части (мм), диаметр околоцветника цветка первого порядка (мм), максимальное число цветков в клубочке, диаметр семени с твердой кожурой (мм), длина междоузлий в соцветии (1 – 5–10 мм, 2 – более 10 мм, 3 – 2–3 мм) и 6 качественных признаков, включающих форму роста побегов (1 – стелющиеся, прижатые к почве, 2 – восходящие), форму самого крупного выроста околоцветника при плодах (1 – узко-коническая, 2 – широко-коническая, 3 – коротко-коническая), ориентацию самого крупного выроста околоцветника по отношению к плоскости семени (1 – вверх, 2 – по диагонали), окраску живых растений (1 – растения серовато-зеленые, осенью розоватые, 2 – зеленые, осенью краснеющие), наличие дополнительных выростов у основания главной доли околоцветника (1 – нет, 2 – есть), положение прицветников по отношению к оси соцветия (1 – отклоненные, 2 – прижатые).

Для оценки количественных морфологических признаков, значимых для разделения видов, применялся метод множественного сравнения средних – тест Тьюки для неравных групп. Для совместного анализа количественных и качественных морфологических признаков мы применяли метод главных координат с использованием дистанции Говера, реализованный в программе PAST [12]. Эти же данные были изучены с помощью кла-

стерного анализа методом невзвешенного попарно-группового среднего (UPGMA).

Анализ молекулярных данных. ДНК выделяли из проростков или гербарных образцов (100 или 20 мг образца соответственно) с помощью набора Nucleo-Spin Plant II (Macherey-Nagel, Германия) согласно протоколу производителя. Концентрацию ДНК измеряли на спектрофотометре (BioPhotometer, Eppendorf) при 260 нм, чистоту полученной ДНК оценивали при соотношении A_{260}/A_{280} . После проведения предварительного скрининга нами было отобрано пять олигонуклеотидных праймеров (табл. 2).

Реакционная смесь объемом 25 мкл содержала 2.7 mM MgCl₂, 1.25 мкМ праймера, 0.4 mM dNTPs, 1× ПЦР-буфер, 1.5 ед. Taq-полимеразы (Медиген, Новосибирск), 50 нг ДНК и стерильную воду. Программа амплификации состояла из 1.30 мин при 94°C; 35 циклов амплификации: 0.40 мин при 94°C, 0.45 мин отжига при 42–64°C и 1.30 мин при 72°C; 5 мин при 72°C. ПЦР-реакцию проводили в амплификаторе C 1000 Thermal Cycler (BioRad Laboratories, USA).

Разделение продуктов ПЦР проводили с помощью электрофореза в 1.7%-ном агарозном геле (Amresco) в 0.5-кратном трис-боратном буфере. Окрашивание продуктов амплификации проводили предварительным добавлением 0.1% SYBR-Green в образцы перед проведением электрофореза. Гели фотографировали с помощью системы гель-документирования Gel-Doc XR+ (Bio-Rad Laboratories, USA).

На основе электрофореграммы строили бинарную матрицу присутствия/отсутствия фрагментов одинаковой длины, которая подвергалась дальнейшему анализу. Эта матрица была проанализирована с помощью кластерного анализа методом невзвешенного попарно-группового среднего (UPGMA) в программе PAST [12]. Для анализа полученных данных присутствия/отсутствия фрагментов одинаковой длины использовалась мера Кульчинского. В матрицах присутствия/отсутствия ISSR-маркеров ампликоны, отсутство-

Таблица 3. Морфологические особенности изученных таксонов

Признаки	<i>S. "jacutica"</i> (1)		<i>S. corniculata</i> s. str. (2)		<i>S. corniculata</i> subsp. <i>mongolica</i> (3)		Достоверность отличий средних (тест Тьюке для неравных выборок)		
	Ср ± СтО мин–макс	КВ	Ср ± СтО мин–макс	КВ	Ср ± СтО мин–макс	КВ	1 и 2	1 и 3	2 и 3
Высота растения (длина главного побега), см	17.2 ± 2.5 14–20	15.04	31.9 ± 11.7 10–55	36.75	16.5 ± 6.4 7–28	39.3	*	**	*
Диаметр главного побега у основания	1.7 ± 0.2 1.5–2	16.1	1.85 ± 0.5 1–3	30.64	1.22 ± 0.3 0.9–2	27.8	**	*	*
Длина листа в средней части побега, мм	7.8 ± 1.9 5–10	24.66	14.32 ± 4.3 7–24	30.64	14.6 ± 3.2 9–19	22.4	*	*	**
Длина междоузлия в средней части, мм	9.4 ± 0.8 8–10	9.5	18.7 ± 4.8 10–30	25.8	9.7 ± 3.2 5–16	33.6	*	**	*
Максимальное число цветков в клубочке	4.6 ± 0.8 3–5	19.44	7.8 ± 4.0 5–25	51.57	5 ± 0 5	0	**	----	-----
Диаметр околоцветника цветка первого порядка, мм	1.9 ± 0.07 1.8–2	3.72	2.8 ± 0.2 2.4–3.2	7.64	2.45 ± 0.2 2.2–2.8	9.07	*	*	*
Диаметр семени с твердой кожурой, мм	1.9 ± 0.08 0.8–1	9.11	1.9 ± 0.1 0.9–1.35	8.8	1.16 ± 0.07 0.95–1.2	7.01	*	*	*

Примечание. Ср – среднее значение, СтО – стандартное отклонение, мин – минимальное значение, макс – максимальное значение. КВ – коэффициент вариации. Достоверность отличий средних: * $p \leq 0.05$, ** $p > 0.05$.

вавшие хотя бы у одного образца в пределах выборки, считались полиморфными.

Для обработки данных в программе Popgene ver. 1.31 [13] использовали как полиморфные, так и мономорфные бэнды для подсчета индекса Шеннона [14], коэффициента Нэя и коэффициентов генетической идентичности и генетических дистанций [15].

Анализ генетической структуры всей выборки проводили также методом Байеса в программе Structure 2.2 [16, 17]. Программа оценивает вероятность разбиения выборки на К популяций на основании расчета частот аллелей в каждой из гипотетически обособленных групп путем байесовского анализа методом марковских цепей Монте-Карло. Анализ проводился с использованием модели генетического смешения (admixture) и с учетом скоррелированности частот аллелей в разных группах. Построение марковской цепи проводилось в течение 1 млн интераций для К от 1 до 5 в трех повторностях для каждого значения К.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Кариологический анализ

По данным кариологического анализа (табл. 1), исследованные образцы относятся к трем цитотипам с четным уровнем пloidности: пять из них являются диплоидами с $2n = 2x = 18$ и обозначены далее как *S. "jacutica"*, 10 образцов оказались тетраплоидами с $2n = 4x = 36$ и приводятся как *S. corniculata* subsp. *mongolica*, остальные 29 образцов, обозначенных как *S. corniculata* s. str., являются гексаплоидами с $2n = 6x = 54$.

Анализ морфологических признаков

Применение теста Тьюки для неравных групп показало (табл. 3), что *S. corniculata* s. str. и *S. corniculata* subsp. *mongolica* достоверно отличаются по пяти количественным морфологическим признакам, таким как высота растения, диаметр главного побега у основания, длина междоузлия в средней части, диаметр околоцветника цветка первого порядка, диаметр семени с твердой кожурой.

S. corniculata s. str. и *S. "jacutica"* также достоверно отличались между собой по 5 из 7 морфоло-

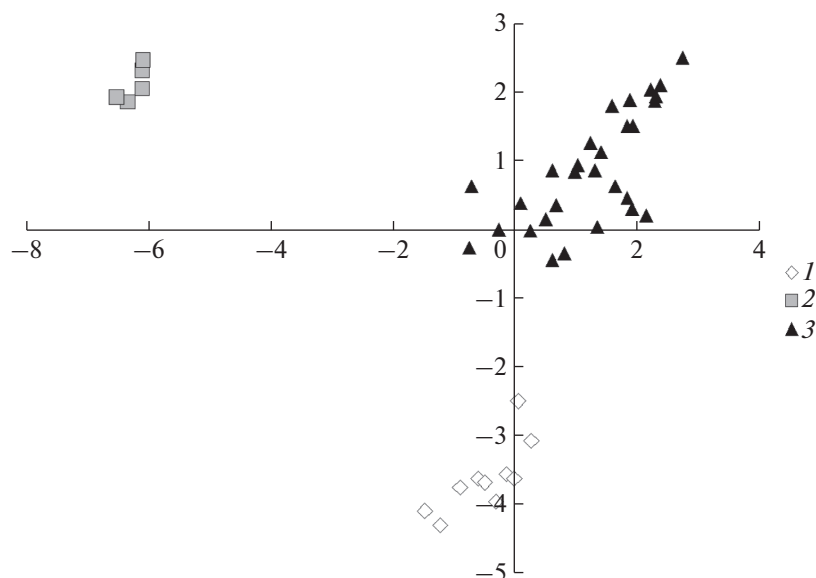


Рис. 2. Результаты анализа 14 морфологических признаков исследованных 44 образцов комплекса *S. corniculata* методом главных координат. 1 – образцы *S. corniculata* subsp. *mongolica*, 2 – образцы *S. “jacutica”*, 3 – *S. corniculata* s. str.

гическим признакам: длина главного побега, длина листа в средней части побега, длина междоузлия в средней части, диаметр околоцветника цветка первого порядка, диаметр семени с твердой кожурой.

Все три вида достоверно отличаются между собой по 2 количественным морфологическим признакам: диаметр околоцветника цветка первого порядка и диаметр семени с твердой кожурой.

Результаты морфологического анализа, проведенного методом главных координат по качественным и количественным признакам, представлены на рис. 2. Первые три координаты описывают 44.3, 31.7 и 3.2% расстояний. В результате проведенного анализа только по качественным признакам, с использованием дистанции Хамминга, выявлен также значительный вклад первых двух координат 78.3 и 20.4% расстояний. Анализ только количественных признаков не дал полного разделения образцов на группы.

На диаграмме разброса видно, что использование качественных и количественных признаков позволяет провести четкую дифференциацию исследованных образцов на три обособленные группы: *S. corniculata* s. str., *S. corniculata* subsp. *mongolica* и *S. “jacutica”*.

Кластеризация образцов методом UPGMA с использованием качественных и количественных морфологических признаков также показала четкое разделение образцов на 3 клады (рис. 3). При этом бутстреп-поддержка клады с образцами вида *S. “jacutica”* составила 100, клады с образцами видов *S. corniculata* s. str. и *S. corniculata* subsp. *mon-*

golica были поддержаны со значениями 79 и 86, соответственно.

Таким образом, в результате анализа морфологических признаков выявлено четкое разделение выборки на три группы, соответствующие отдельным цитотипам. Наиболее обособленными являются диплоидные образцы *S. “jacutica”*, которые хорошо отделялись при всех видах анализа, образуя отдельный кластер. Тетраплоидные и гексаплоидные образцы сгруппировались в самостоятельный кластер, разделяющийся, в свою очередь, на два подкластера, соответствующие *S. corniculata* s. str. и *S. corniculata* subsp. *mongolica*. Эти подкластеры различались главным образом по количественным признакам, что свидетельствует об их близком родстве и вероятном автополиплоидном происхождении гексаплоидного цитотипа *S. corniculata* s. str.

Анализ межмикросателлитных (ISSR) маркеров

В результате проведения ПЦР-реакций с пятью различными праймерами у 44 исследуемых образцов было получено 84 полиморфных фрагмента (табл. 2). В зависимости от праймера было получено от 13 до 20 ПЦР-фрагментов, что в среднем составило 16.8 фрагментов на праймер. Средние значения генетической дистанции Нея и индекса Шеннона для праймеров составили 0.1777 и 0.2848 соответственно.

Максимальный (51) процент полиморфных локусов был выявлен у *S. corniculata* s. str., минимальный (15.48) у *S. “jacutica”* (табл. 4). Среднее

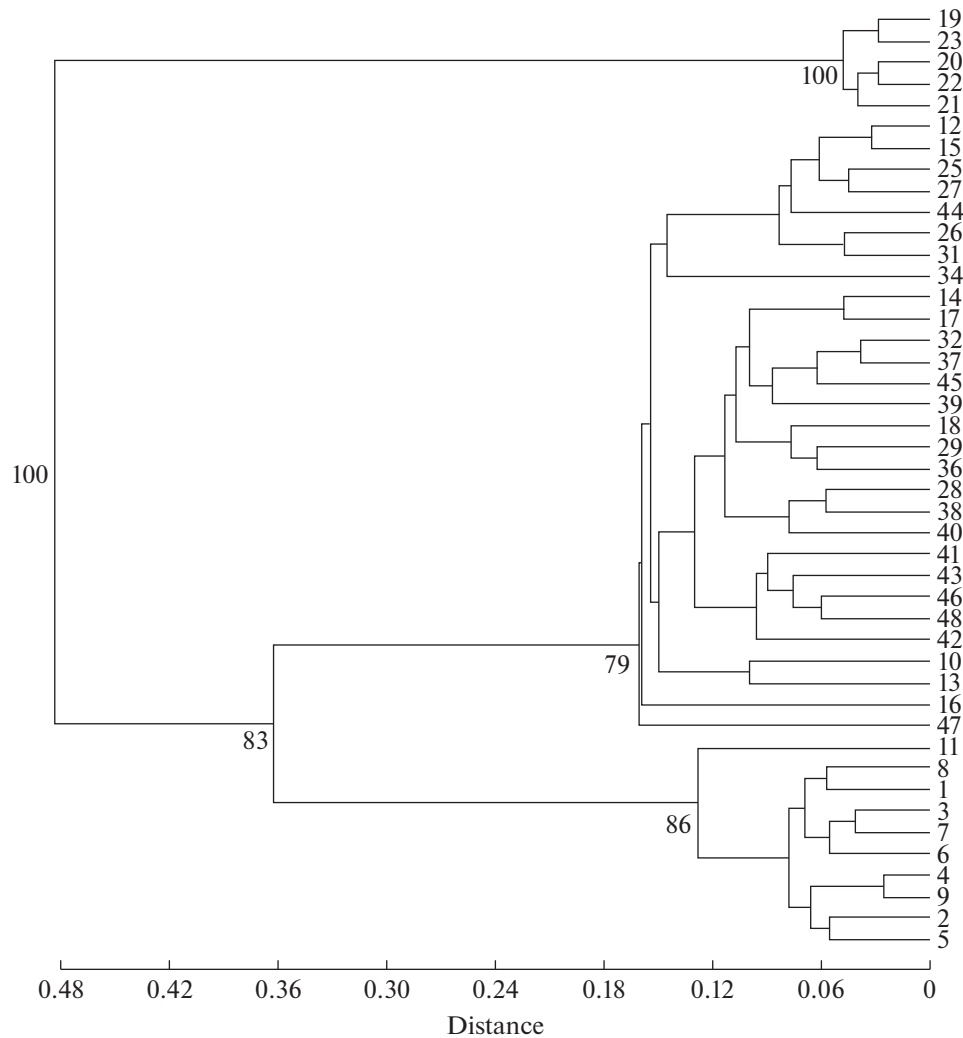


Рис. 3. Дендрограмма сходства 44 образцов по 14 морфологическим признакам, построенная методом UPGMA с использованием меры сходства Говера.

эффективное число аллелей на локус (N_e) составило от 1.15 (*S. "jacutica"*) до 1.61 (*S. corniculata* s. str.). Индекс генного разнообразия Нея (H) варьировал от 0.15 до 0.06, информационный индекс Шеннона (I) составил 0.23, 0.17 и 0.09 для *S. corniculata* s. str., *S. corniculata* subsp. *mongolica* и *S. "jacutica"* соответственно.

Среди изученных таксонов наибольшее значение генетической идентичности равное 0.9232 (табл. 5) было выявлено для *S. corniculata* s. str. и *S. corniculata* subsp. *mongolica*. Между парами видов *S. "jacutica"*–*S. corniculata* s. str. и *S. "jacutica"*–*S. corniculata* subsp. *mongolica* величина генетической идентичности составила 0.8580 и 0.8631 соответственно. Наименьшее значение генетической дистанции (0.0800) было между *S. corniculata* subsp. *mongolica* и *S. corniculata* s. str. Больше значение генетической дистанции наблюдалось

между *S. "jacutica"* и *S. corniculata* s. str. и было равным 0.1532.

Полученные данные подтверждают результаты кластерного анализа, проведенного методом UPGMA в программе PAST (рис. 4). На дендро-

Таблица 4. Генетическое разнообразие таксонов рода *Suaeda* по ISSR-маркерам

Вид	N_e	H	I	ППЛ
<i>S. corniculata</i> s. str.	1.6071	0.1500	0.2344	51
<i>S. "jacutica"</i>	1.1548	0.0595	0.0878	15.48
<i>S. corniculata</i> subsp. <i>mongolica</i>	1.4048	0.1067	0.1688	40.48

Примечание. N_e – эффективное число аллелей; H – индекс генного разнообразия Нея; I – информационный индекс Шеннона, ППЛ – процент полиморфных локусов.

Таблица 5. Коэффициенты генетической идентичности (выше диагонали) и генетических дистанций (ниже диагонали), рассчитанные для некоторых таксонов рода *Sueda*

Вид	<i>S. corniculata</i> subsp. <i>mongolica</i>	<i>S. "jacutica"</i>	<i>S. corniculata</i> s. str.
<i>S. corniculata</i> subsp. <i>mongolica</i>	—	0.8631	0.9232
<i>S. "jacutica"</i>	0.1472	—	0.8580
<i>S. corniculata</i> s. str.	0.0800	0.1532	—

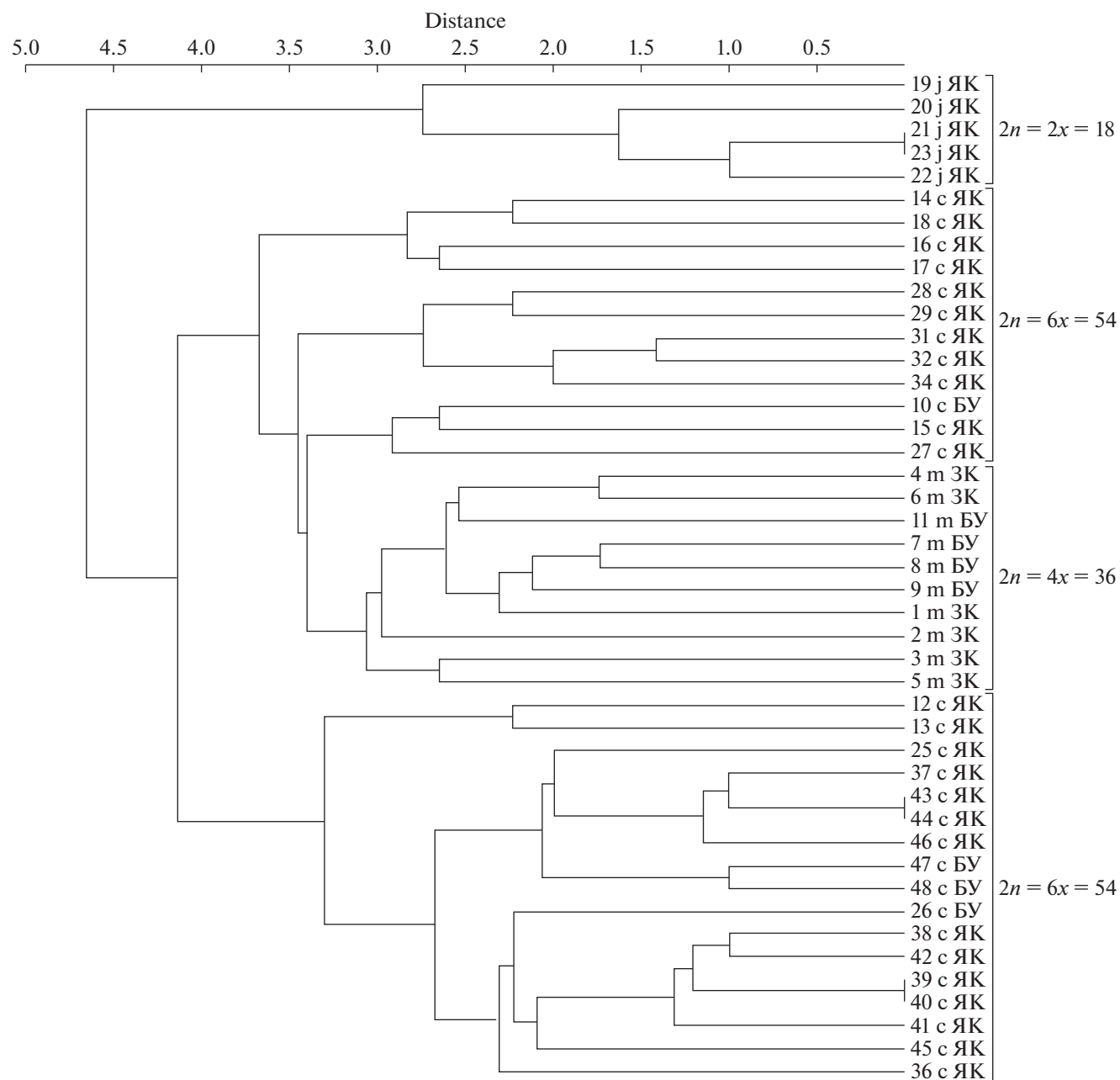


Рис. 4. Дендрограмма сходства 44 образцов по 84 ISSR-маркерам: кластерный анализ методом UPGMA, мера сходства Жаккара (номера образцов соответствуют табл. 1, справа указаны соматические числа хромосом для выделенных групп).

грамме видно две хорошо обособленные клады, одна из которых образована диплоидными образцами *S. "jacutica"*. Вторую крупную кладу составили тетраплоидные и гексаплоидные образцы, что свидетельствует об их тесном родстве. При этом все образцы *S. corniculata* subsp. *mongolica* кластеризовались отдельно внутри образцов *S. corniculata* s. str.

В результате проведенного анализа на основе ISSR данных в программе Structure 2.2 (рис. 5) обнаружено, что наиболее вероятным оказывается разделение изученных образцов на три группы при $K = 3$ ($\Delta K = 256.06$). На диаграмме показаны апостериорные вероятности отнесения конкретных образцов к одной из трех групп. Как видно из диаграммы, большинство образцов с высокой вероятностью могут быть отнесены к одной из трех групп. Так же как и при кластерном анализе, четко выделяются образцы *S. "jacutica"*. Другие две группы образованы образцами *S. corniculata* s. str. Образцы *S. corniculata* subsp. *mongolica* при $K = 3$ не образуют отдельную группу и находятся внутри одной из групп *S. corniculata* s. str.

При $K = 4$ ($\Delta K = 29.03$) на диаграмме обозначаются четыре группы. Основное отличие от группировки изученных образцов при $K = 3$ заключается в выделении *S. corniculata* subsp. *mongolica* в качестве самостоятельной группы. У 7 из 10 образцов *S. mongolica* выявлена достаточно высокая (>0.95) апостериорная вероятность отнесения данных образцов к отдельной группе. Образцы *S. corniculata* s. str. так же, как и методом кластерного анализа, делятся на две группы разной генетической природы. У некоторых изученных образцов обнаружена различная степень генетического смешения между видами, поскольку первоначально выбранная модель "admixture" предполагает смешанное происхождение образцов. Обращает на себя внимание образец 26 (см. табл. 1), так как, при $K = 3$ и при $K = 4$ он занимает промежуточное положение между двумя группами *S. corniculata*.

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, на территории Восточной Сибири обитают ди-, тетра- и гексаплоидный цитотипы полиплоидного комплекса *S. corniculata* s. l., которые являются самостоятельными таксонами разного уровня. Установлено, что все образцы, идентифицированные морфологически как *S. "jacutica"*, являются диплоидами, хорошо обособлены как генетически, так и морфологически и могут быть выделены в самостоятельный таксон в ранге вида. Гексаплоидный цитотип *S. corniculata* s. str. является, вероятно, автополиплоидом, предком кото-

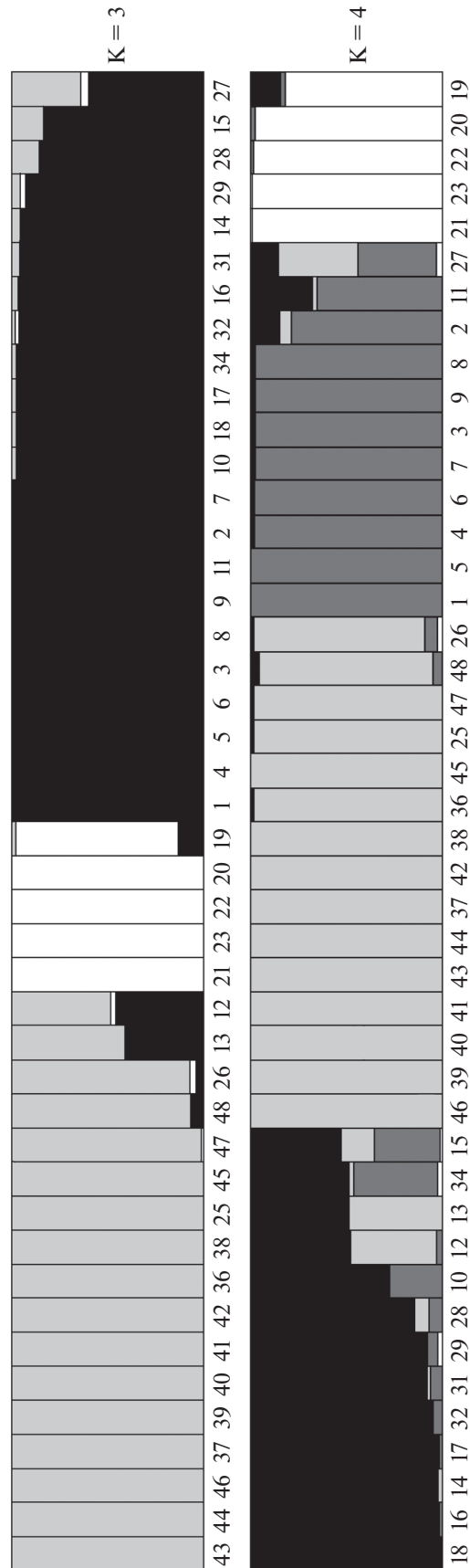


Рис. 5. Вероятность отнесения исследованных образцов видов рода *Suaeda* к одной из групп по составу ISSR-ампликонов при $K = 3$ и $K = 4$ по результатам анализа в программе Structure 2.2.

рого был тетраплоидный цитотип *S. corniculata* subsp. *mongolica*. Это подтверждается слабым генетическим обособлением этих подвидов и различиями только по количественным признакам, выявленным при морфологическом анализе. В связи с этим тетраплоидный и гексаплоидный цитотипы следует принимать в ранге подвидов *S. corniculata* s. l., что было предложено ранее на основе кариологических данных [9]. Обособление двух групп, в пределах *S. corniculata* s. str. по данным генетического анализа (рис. 4, 5), не различающихся морфологически, может свидетельствовать о неоднократном проникновении этого подвида на территорию Якутии.

Гексаплоидный цитотип успешно распространяется в Якутии и, по нашим наблюдениям, занимает все новые местообитания в нарушенных экосистемах, подавляя более уязвимый аборигенный диплоидный цитотип *S. "jacutica"*, который встречается в природных местообитаниях, на байджарахах. Такая стратегия *S. corniculata* s. str. подтверждает гипотезу о большей колонизационной способности полиплоидов по сравнению с диплоидами [1, 18]. Гексаплоидный цитотип активно заселяет антропогенные местообитания, такие как колеи и обочины дорог, особенно в населенных пунктах. Это характерно не только для территории Евразии, но и Америки, где распространен только гексаплоидный цитотип, родственные евроазиатскому виду *S. corniculata* s. l. и диверсифицированный в Новом Свете на целый ряд самостоятельных таксонов [19].

В целом полиплоидный комплекс *S. corniculata* agg. может являться модельной системой для дальнейшего изучения эволюции полиплоидизации в естественных местообитаниях.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проекты № 12-04-00746 и 15-29-02664) а также Российского научного фонда (проект № 14-14-00472).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Грант В. Видообразование у растений. М.: Мир, 1984. 528 с.
2. Ramsey J., Schemske D.W. Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants // *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 1998. V. 29. P. 467–501.
3. Soltis D.E., Buggs R.J.A., Doyle J.J., Soltis P.S. What we still don't know about polyploidy // *Taxon.* 2010. V. 59. № 5. P. 1387–1403.
4. Masterson J. Stomatal size in fossil plants: evidence for polyploidy in majority of angiosperms // *Science.* 1994. V. 264. P. 421–424.
5. Soltis D.E., Vigner C.J., Soltis P.S. The polyploidy revolution then ... and now: Stebbins revisited // *Amer. J. Bot.* 2014. V. 101. № 7. P. 1057–1078.
6. Otto S.P., Whitton J. Polyploid incidence and evolution // *Ann. Rev. Genet.* 2000. V. 34. P. 401–437.
7. Ломоносова М.Н. Хромосомные числа, таксономия и распространение подрода *Brezia* (*Suaeda*, Chenopodiaceae) // *Turczaninowia.* 2011. Т. 14. № 3. С. 45–52.
8. Schütze P., Freitag H., Weising K. An integrated molecular and morphological study of the subfamily Suaedoideae Ulbr. (Chenopodiaceae) // *Pl. Syst. Evol.* 2003. V. 239. P. 257–286.
9. Lomonosova M., Brandt R., Freitag H. *Suaeda corniculata* (Chenopodiaceae) and related new taxa from Eurasia // *Willdenowia.* 2008. V. 38. № 1. P. 81–109.
10. Zietkiewich E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification // *Genomics.* 1994. V. 20. P. 176–183.
11. Смирнов Ю.А. Ускоренный метод исследования соматических хромосом плодовых // *Цитология.* 1968. Т. 10. № 12. С. 1601–1602.
12. Hammer Ø., Harper D.A.T., Ryan P.D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis // *Palaeontologia Electronica.* 2001. V 4. № 1. 9 p. http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm.
13. Yeh F.C., Yang R.C., Boyle T.J. POPGENE, Version 1.31. Microsoft Windows-based freeware for population genetic analysis. Distributed by the author. 1999. (<http://www.ualberta.ca/~fyeh/fyeh/>).
14. Shannon C.E., Weaver W. *The Mathematical Theory of Communication.* Urbana: Univ. Illinois Press, 1949. 117 p.
15. Nei M. Genetic distance between populations // *Amer. Naturalist.* 1972. V. 106. № 949. P. 283–292.
16. Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data // *Genetics.* 2000. V. 155. № 2. P. 945–959.
17. Falush D., Stephens M., Pritchard J.K. Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles // *Mol. Ecol. Notes.* 2007. № 7. P. 574–578.
18. Stebbins G.L. Polyploidy, hybridization, and the invasion of new habitats // *Ann. Missouri Bot. Gard.* 1985. V. 72. P. 824–832.
19. Brandt R., Lomonosova M.N., Weising K. et al. Phylogeny and biogeography of *Suaeda* Forssk. et J.F. Gmelin subg. *Brezia* (Moq.) Freitag et Schütze (Chenopodiaceae/Amaranthaceae) in Americas // *Plant Syst. Evol.* 2015. V. 301. № 10. P. 2351–2375.

Genetic Differentiation in the Polyploid Complex of *Suaeda corniculata* (C.A. Mey.) Bunge in Eastern Siberia

M. N. Lomonosova^{a,*}, D. E. Nikonova^a, M. G. Kutsev^b, O. V. Dorogina^a, and A. Yu. Korolyuk^a

^a Central Siberian Botanical Garden of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630090 Russia

^b South Siberian Botanical Garden, Altai State University, Barnaul, 656090 Russia

*e-mail: mlomonosova@mail.ru

Data on differentiation of the polyploid complex of *Suaeda corniculata* (C.A. Mey.) Bunge in East Siberia based on variability of morphological characteristics, karyological analysis, and genetic polymorphism in inter simple sequence repeat (ISSR) markers were given for the first time. It was established that the samples studied belonged to three cytotypes: diploids ($2n = 2x = 18$), tetraploids ($2n = 4x = 36$) and hexaploids ($2n = 6x = 54$). The analysis of variability of morphological characteristics by the method of principal coordinates showed division of the samples into three separate groups. On the basis of morphological and molecular-genetic methods, a genetically differentiated diploid population was revealed in Yakutia. English translation of the paper published in Russian Journal of Genetics, 2017, Vol. 53, No. 5, is available ONLINE by subscription from: <http://www.springer.com/>, <http://link.springer.com/journal/11177>

Keywords: *Suaeda*, variability, ISSR-PCR, genetic polymorphism, polyploidy.