

К ВОПРОСУ О ПРОИСХОЖДЕНИИ *Larix × lubarskii* Sukaczев: АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА МАРКЕРОВ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА

© 2019 г. Е. А. Васюткина¹, *, И. Ю. Адрианова¹

¹Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии
Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, 690022 Россия

*e-mail: levina@biosoil.ru

Поступила в редакцию 27.03.2018 г.

После доработки 23.05.2018 г.

Принята к публикации 04.07.2018 г.

Впервые исследованы генетическое разнообразие *Larix × lubarskii* Sukaczев и ее генетические взаимоотношения с другими лиственницами юга Приморского края, дальневосточными и сибирскими видами *Larix* по данным анализа полиморфизма длины фрагмента *UBC460* митохондриального происхождения и нуклеотидных последовательностей 5'-фланкирующей области гена *atpA* и региона *nad4*(3с–4г) митохондриальной ДНК. В популяции *L. × lubarskii* выявлено два варианта длины фрагмента *UBC460*, с преобладанием короткого. Этот таксон характеризуется средним гаплотипическим (0.582) и низким нуклеотидным (0.0003) разнообразием. Сравнительный анализ нуклеотидного полиморфизма двух регионов мтДНК у лиственниц юга Приморского края выявил у *L. × lubarskii* три митотипа, из них только один был общим с *L. olgensis* A. Henry (*locus classicus*). Сеть генеалогических связей митотипов указывает на общность происхождения *L. × lubarskii* и *L. olgensis* и относительно недавнюю их дивергенцию, а также на более близкую связь с *L. sibirica* Ledeb., чем с *L. gmelinii* (Rupr.) Rupr.

Ключевые слова: *Larix*, Pinaceae, митохондриальная ДНК, *UBC460*, 5'-фланкирующая область митохондриального гена *atpA*, *nad4*(3с–4г), генетическое разнообразие.

DOI: 10.1134/S0016675819020176

В юго-западной части Приморского края произрастает *Larix × lubarskii* Sukaczев, имеющая диагностические морфологические признаки, характерные для нескольких видов, распространенных на Российском Дальнем Востоке (РДВ) и в Китае. Одни авторы [1, 2] отмечали ее морфологическое сходство с *L. principis-rupprechtii* Maug. и *L. gmelinii* (Rupr.) Rupr. и связывали это сходство с их общим происхождением и недавней географической изоляцией. Другие авторы считали ее *L. olgensis* A. Henry [3] либо *L. gmelinii* var. *olgensis* (A. Henry) Ostenf. & Syrach [4–6]. Кроме того, рассматривались версии о гибридном происхождении *L. × lubarskii*: по одной из них [7] она является результатом давней и длительной гибридизации *L. olgensis* и *L. principis-rupprechtii*, по другой [8] — это гибридное смешение *L. olgensis* с гибридами *L. kamtschatica* (Rupr.) Carr. и *L. gmelinii*. В.М. Урусов [9, 10], учитывая все известные работы и опираясь на собственные исследования, предположил, что *L. × lubarskii* является плюоцен-раннеплейстоценовым интрогрессивным гибридом *L. principis-rupprechtii*, *L. olgensis* и *L. kamtschatica*, преобразованным в позднем плейстоцене гибридизацией с *L. gmelinii*. Таким образом, *L. × lubarskii* представ-

ляет собой полиморфную группу растений, основная часть ареала которой расположена на северо-востоке Китая и севере п-ова Корея и незначительная часть на Борисовском плато и прилегающей к нему территории в юго-западной части Приморского края [1, 2, 7, 10–12]. Борисовское плато относится к системе Восточно-Маньчжурских гор, наибольшие высоты (600–700 м н. у. м.) находятся на западе плато. Поверхность плато глубоко расчленена долинами рек на отдельные столообразные хребты с крутыми, часто обрывистыми склонами. Лиственница здесь растет небольшими разреженными группировками в составе хвойно-широколиственных лесов [12].

Наблюдаемое разнообразие лиственницы на юге РДВ вызвано процессами интрогрессивной гибридизации вследствие отсутствия покровного оледенения в периоды похолодания в этом регионе и наличия ритмических флуктуаций климата в геологическом прошлом [13, 14]. На территории Приморского края *L. olgensis* является единственным видом, самостоятельность которого признана многими авторами [2, 3, 7, 8, 15–17], однако сведения о его распространении неоднозначны. Неизменным остается описание основной части

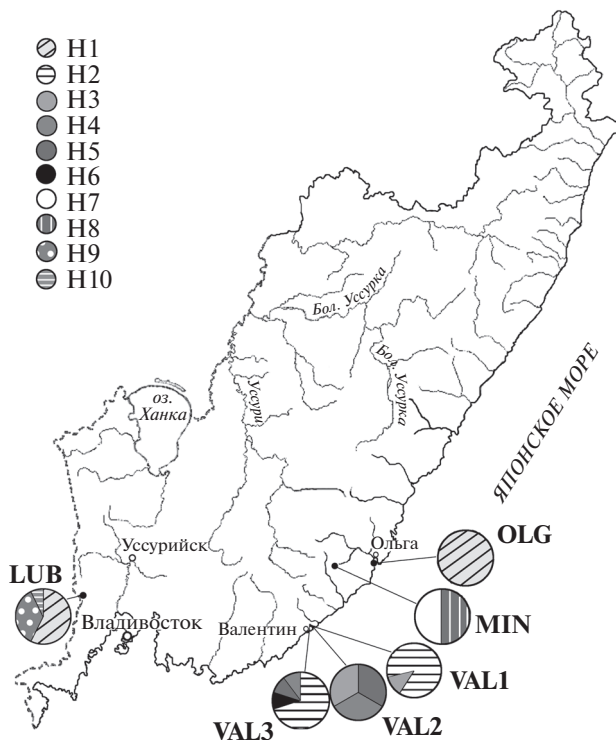


Рис. 1. Карта-схема географического положения исследованных популяций *Larix* на юге Приморского края и частоты митотипов по данным 5'-*atpA* и *nad4*(3с–4г) мтДНК.

ареала *L. olgensis*, которая находится в юго-восточной части Приморского края, располагаясь вдоль побережья Японского моря и восточных склонов Сихотэ-Алиня между бухтой Валентин на юге и заливом Владимира на севере.

Молекулярные маркеры митохондриального генома широко используются в таксономических, филогеографических и филогенетических исследованиях рода *Larix* Mill. (Pinaceae). Семерики с соавт. [18] показали, что фрагмент *UBC460* митохондриального происхождения способен дифференцировать популяции *L. olgensis* и восточную расу *L. sibirica* Ledeb. от западной расы *L. sibirica*, а также *L. gmelinii*, *L. kaempferi* Lamb., *L. decidua* Mill. благодаря присутствию/отсутствию нуклеотидной вставки размером 266 пн. Этот фрагмент наряду с другими маркерами митохондриальной ДНК (мтДНК) использовался при исследовании популяций *L. sibirica*, что позволило выявить расположение рефугиумов бореальной растительности последнего ледникового максимума, а также пути и характер последнеледниковой реколонизации лиственницы [19, 20]. Анализ полиморфизма *UBC460*, *nad5*(1–2г), *nad4*(3с–4г) и 5'-фланкирующей области гена *atpA* мтДНК у лиственниц северо-восточной Азии [21] выявил высокое разнообразие митотипов на юге РДВ, где

распространены гибриды *L. gmelinii*, *L. olgensis* и *L. kamtschatica*, и только два митотипа у *L. cajanderi* Mayr. и *L. gmelinii*. Кроме того, исследование этих авторов показало, что *L. kaempferi* генетически сходна с популяциями *L. kamtschatica*, произрастающими на Курильских островах и юге о. Сахалин; популяции северной части Сахалина оказались более близки к континентальным видам; распределение генетической изменчивости может указывать на наличие нескольких рефугиумов во время плейстоценовых ледниковых периодов. Популяционно-генетические исследования *L. olgensis* из разных частей основного ареала [22–24] подтвердили дифференциацию прибрежных популяций из окрестностей зал. Ольги (*locus classicus*) и пос. Валентин от всех остальных, которые имели общий митотип с гибридными видами *Larix*, что указывает на сокращение ареала *L. olgensis*. Исследование популяций лиственниц на севере Приморского края [25] показало, что митотип *L. olgensis* был обнаружен только в трех популяциях, в остальных присутствовали в разных соотношениях два “даурских” митотипа, свойственные *L. gmelinii* и *L. cajanderi*. Таким образом, достаточно подробно изучены лиственницы Сибири и РДВ, однако генетическое исследование *L. × lubarskii*, произрастающей на Борисовском плато в юго-западной части Приморского края, в литературе не освещено.

Цель настоящего исследования — изучение генетического разнообразия *L. × lubarskii* и ее генетических взаимоотношений с другими дальневосточными и восточносибирскими лиственницами на основе анализа изменчивости фрагмента *UBC460* и нуклеотидного полиморфизма регионов 5'-фланкирующей области гена *atpA* и *nad4*(3с–4г) мтДНК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служили 49 растений из природных популяций *Larix* юга Приморского края (табл. 1, рис. 1).

Индивидуальные препараты тотальной ДНК выделены из свежей хвои по методике [26] с небольшими модификациями. Для амплификации фрагмента *UBC460* использовали праймеры, реакционные условия и температурный режим, рекомендованные для этого участка [18]. Изменчивость длины продукта оценивали с помощью электрофореза в 1%-ном агарозном геле. Амплификацию фрагмента 5'-фланкирующей области митохондриального гена *atpA* (5'-*atpA*) проводили с разработанными для данного исследования праймерами 5'-GATAAAAGGTCTACGCCAGAA-3' и 5'-CATGACCCCTTAATACCTTTTC-3' при следующих условиях: 94°C — 4 мин; 35 циклов: 94°C — 30 с, 57°C — 45 с, 72°C — 2 мин и 72°C — 7 мин. Условия амплификации и секвенирования реги-

Таблица 1. Происхождение образцов *Larix*, код популяции, генетическое разнообразие по данным 5'-*atpA* и *nad4*(3с–4г) мтДНК, номера доступа нуклеотидных последовательностей митотипов в ENA/GenBank

Происхождение образца (число образцов)	Код	Разнообразие		Митотип	Номер доступа в GenBank	
		гаплотипическое (SD)	нуклеотидное (SD)		5'- <i>atpA</i>	<i>nad4</i> (3с–4г)
Приморский край, Уссурийский р-н, верховье р. Лиственничная, Борисовское базальтовое плато (14)	LUB	0.582 (0.092)	0.0003 (0.0003)	H1	LT992012	LT992022
				H9	LT992013	LT992023
				H10	LT992014	LT992024
Приморский край, Ольгинский р-н, зал. Ольга, каменистый склон, <i>locus classicus</i> <i>L. olgensis</i> (9)	OLG	0.000 (0.000)	0.0000 (0.0000)	H1	LT992012	LT992022
Приморский край, Лазовский р-н, побережье бух. Большая Тихая (8)	VAL1	0.250 (0.180)	0.0002 (0.0002)	H2	LT992015	LT992025
				H3	LT992016	LT992026
Приморский край, Лазовский р-н, 150 м от побережья бух. Большая Тихая (6)	VAL2	0.800 (0.122)	0.0010 (0.0007)	H3	LT992016	LT992026
				H4	LT992017	LT992027
				H5	LT992018	LT992028
Приморский край, Лазовский р-н, окр. пос. Валентин (10)	VAL3	0.533 (0.180)	0.0008 (0.0005)	H2	LT992015	LT992025
				H3	LT992016	LT992026
				H5	LT992018	LT992028
				H6	LT992019	LT992029
Приморский край, Ольгинский р-н, исток р. Минеральная (2)	MIN	1.000 (0.500)	0.0004 (0.0005)	H7	LT992020	LT992030
				H8	LT992021	LT992031
<i>L. sibirica</i> isolate Severobaikalsk34	SIB	—	—	H11	FJ572170*	FJ572134*
<i>L. gmelinii</i> isolate Hatanga8	GME	—	—	H12	FJ572171*	FJ572135*
<i>L. gmelinii</i> isolate Vanino48		—	—	H13	FJ572172*	FJ572136*
<i>L. gmelinii</i> isolate Kavaleroovo12		—	—	H14	FJ572173*	FJ572137*
<i>L. gmelinii</i> isolate Chuvansk1		—	—	H15	FJ572181*	FJ572138*
<i>L. gmelinii</i> isolate Ezzo4		—	—	H16	FJ572182*	FJ572139*
<i>L. gmelinii</i> isolate Oha1		—	—	H17	FJ572184*	FJ572140*
<i>L. kaempferi</i> isolate Japan13	KAE	—	—	H18	FJ572169*	FJ572133*

Примечание. SD – стандартное отклонение. Полу жирным шрифтом отмечены общие гаплотипы.

* Последовательности, взятые из GenBank.

она *nad4*(3с–4г) приведены в работе [24]. Циклическое секвенирование обеих цепей фрагментов ДНК осуществляли с использованием набора флуоресцентно меченых нуклеотидов Big Dye Terminator v. 3.1 (Applied Biosystems, USA). Нуклеотидные последовательности определяли на генетическом анализаторе ABI 3130 (Applied Biosystems, Foster City, USA) в Центре коллективного пользования ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН.

Для каждого образца нуклеотидные последовательности регионов 5'-*atpA* и *nad4*(3с–4г)

мтДНК выравнивали и объединяли в одну матрицу, используя пакет программ MEGA ver. 6 [27]. Число митотипов, нуклеотидное (π) и гаплотипическое (h) разнообразие, распределение генетической изменчивости внутри и между популяциями (анализ молекулярной дисперсии, AMOVA) рассчитывали с помощью программы Arlequin v. 3.5 [28]. Степень дивергенции между популяциями на основе нуклеотидных замен (K_s) определяли в программе DnaSP v. 5.0 [29]. Для уточнения генетических взаимоотношений с другими

Таблица 2. Частота встречаемости вариантов длины фрагмента *UBC460* в популяциях *Larix* юга Приморского края

Фрагмент	Частота встречаемости, %					
	LUB	OLG*	VAL1	VAL2	VAL3*	MIN
Длинный	42.9	100	87.5	33.3	80	0
Короткий	57.1	0	12.5	66.7	20	100

* Данные, полученные нами ранее [24].

видами лиственниц Сибири и Дальнего Востока в матрицу данных были добавлены последовательности этих же регионов мтДНК из базы данных GenBank (табл. 1). Генеалогические связи митотипов анализировали методом Reduced Median (RM) в программе Network 5.0 [30].

Нуклеотидные последовательности 5'-*atpA* и *nad4*(3с–4г) исследуемых лиственниц юга Приморского края депонированы в базу данных ENA/EMBL/GenBank под номерами доступа LT992012–LT992031.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Полиморфизм фрагмента *UBC460* связан с изменчивостью его длины. В популяциях лиственниц с Борисовского плато (LUB) и побережья бух. Большой Тихой (VAL1 и VAL2) обнаружены два варианта длины фрагмента – длинный и короткий, различающиеся присутствием и отсутствием вставки 266 пн соответственно. Частота встречаемости вариантов длины фрагмента *UBC460* в популяциях лиственницы Приморского края представлена в табл. 2.

Определены нуклеотидные последовательности фрагмента 5'-*atpA* у всех 49 растений исследуемых популяций и третьего интрона гена *nad4* у представителей популяций LUB и одного образца MIN. В матрицу данных были добавлены полученные нами ранее [24] последовательности *nad4*(3с–4г) образцов популяций OLG, VAL1, VAL2, VAL3 и MIN. Длина 5'-*atpA* и *nad4*(3с–4г) была одинаковой у всех образцов и составила 880 и 1762 пн соответственно. Из 2642 пн объединенной матрицы двух регионов 2635 были мономорфными, из семи выявленных нуклеотидных замен (трансверсий) шесть были информативны согласно методу максимальной экономии. Во фрагменте 5'-*atpA* в позиции 304 выявлена нуклеотидная замена С → А, которая маркирует все образцы популяций VAL1, VAL2 и VAL3, а в позиции 557 присутствует нуклеотидная замена Т → G, которая маркирует образцы MIN. У представителей *L. × lubarskii* в двух регионах мтДНК выявлено всего три нуклеотидные замены, не являющиеся маркерными.

Параметры генетической изменчивости исследованных популяций представлены в табл. 1.

Популяция LUB *L. × lubarskii* характеризуется средним уровнем генетического разнообразия ($h = 0.582$, $\pi = 0.0003$). В целом для лиственниц юга Приморского края свойственно высокое гаплотипическое (0.790) и низкое нуклеотидное (0.0007) разнообразие. Согласно результатам AMOVA, генетическая изменчивость распределена практически в равных долях на внутри- и межпопуляционную изменчивость ($\Phi_{ST} = 0.48109$, $P < 0.0001$). Выявлена довольно низкая нуклеотидная дивергенция между исследуемыми популяциями (табл. 3). Наименьшее значение K_S отмечено у пары популяций OLG–LUB, а наибольшие значения K_S имеет выборка MIN со всеми популяциями. Кроме того, только между MIN и всеми другими популяциями выявлены фиксированные нуклеотидные различия.

Анализ объединенной матрицы нуклеотидных последовательностей 5'-*atpA* и *nad4*(3с–4г) представителей популяций лиственниц юга Приморского края и других видов *Larix* Сибири и РДВ из базы GenBank выявил 18 митотипов. В популяции *L. × lubarskii* обнаружено три митотипа (H1, H9, H10), из них H1 с частотой встречаемости 50.7% оказался общим с популяцией OLG *L. olgensis* (*locus classicus*) (рис. 1). В VAL1 и MIN выявлено по два митотипа (H2, H3 и H7, H8 соответственно), три (H3, H4, H5) в VAL2 и четыре (H2, H3, H5, H6) в VAL3. На генеалогической сети все митотипы представителей приморских популяций (H1–H10) в основном находятся в одном мутационном шаге от соседнего и не подразделяются в соответствии с их популяционной принадлежностью (рис. 2). Образцы видов *Larix* из базы GenBank имеют индивидуальные митотипы (H11–H18). Общих митотипов у приморских популяций и других видов лиственниц не выявлено. Наличие альтернативных связей между митотипами могут указывать на высокий уровень рекомбинации или гомоплазии (повторных и обратных мутаций в мтДНК).

ОБСУЖДЕНИЕ

Настоящее исследование *L. × lubarskii* и популяций из ареала *L. olgensis* подтверждает и дополняет ранее полученные данные по распространению у видов *Larix* дифференцирующего фрагмен-

Таблица 3. Нуклеотидная дивергенция (K_S) между исследуемыми популяциями *Larix* по данным 5'-*atpA* и *nad4*(3с–4г) мтДНК

Код	LUB	OLG	VAL1	VAL2	VAL3	MIN
LUB	—	0.571(0)	1.554(0)	2.810(0)	2.043(0)	3.929(1)
OLG	0.00022	—	1.000(0)	3.000(0)	1.700(0)	4.500(4)
VAL1	0.00059	0.00038	—	3.250(0)	1.250(0)	5.250(3)
VAL2	0.00106	0.00114	0.00123	—	3.100(0)	2.833(1)
VAL3	0.00077	0.00064	0.00047	0.00117	—	4.800(1)
MIN	0.00149	0.00170	0.00199	0.00107	0.00182	—

Примечание. Выше диагонали — среднее число нуклеотидных различий между популяциями (в скобках число фиксированных различий), ниже диагонали — среднее число нуклеотидных замен на один сайт между популяциями. Код популяции см. в табл. 1.

та *UBC460* митохондриального происхождения [20, 21, 24, 25]. Частота встречаемости длинного фрагмента *UBC460*, зафиксированного у *L. olgensis* из зал. Ольги, к югу по побережью Японского моря постепенно уменьшается и достигает 42.9% в популяциях Юго-Западного Приморья (табл. 2). В северных районах Приморского края и на остальной территории РДВ, включая Курильские острова и Сахалин, у лиственниц фиксирован короткий фрагмент, за исключением двух прибрежных популяций Сихотэ-Алинского биосферного заповедника и двух популяций из Забайкальского края и Амурской области, где отмечено редкое присутствие длинного фрагмента [19, 21]. Такое географическое распределение двух вариантов длины фрагмента *UBC460* согласуется с мнением о существовании в южной части РДВ гибридных лиственниц, образованных в результате интрогрессивной гибридизации видов *L. olgensis*, *L. gmelinii*, *L. cajanderi* и *L. kamtschatica* [8].

Впервые по результатам анализа нуклеотидного полиморфизма 5'-фланкирующей области гена *atpA* и *nad4*(3с–4г) мтДНК дана генетическая оценка состояния природной популяции *L. × lubarskii*. Этот таксон характеризуется средним уровнем гаплотипического и низким уровнем нуклеотидного разнообразия (табл. 1). Присутствие общего митотипа Н1 у *L. × lubarskii* и *L. olgensis* (рис. 1 и 2) указывает на их генетическое родство, которое ранее предполагалось на основании сходства морфологических признаков [3–8], и свидетельствует об относительно недавней дивергенции этих таксонов. Наблюдаемое отсутствие изменчивости мтДНК в популяции OLG *L. olgensis* (*locus classicus*) может быть результатом эффекта основателя, проявившегося при вытеснении вида более конкурентоспособной растительностью на периферию ареала к морскому побережью. Наличие в генеалогической сети альтернативных связей не позволяет дать однозначного ответа о генетических отношениях *L. × lubarskii* с другими видами *Larix* (рис. 2). Митотипы Н12–Н16 *L. gmelinii*, как одного из предполагаемых ро-

дительских видов лиственницы Любарского, оказались намного дальше от митотипов Н1, Н9, Н10 *L. × lubarskii*, чем митотип Н11 *L. sibirica*. Сходство, казалось бы, географически отдаленных лиственниц вполне вероятно, поскольку *L. sibirica* по ряду морфологических признаков и по данным аллозимного анализа чрезвычайно близка с *L. olgensis* [7, 32], которая в свою очередь является близким таксоном с *L. × lubarskii*. Полученные результаты согласуются с палеоботаническими исследованиями, которые указывают на существование в раннем плейстоцене в южном Приморье лиственницы *Laricioxylon* aff. *sichotealinense*

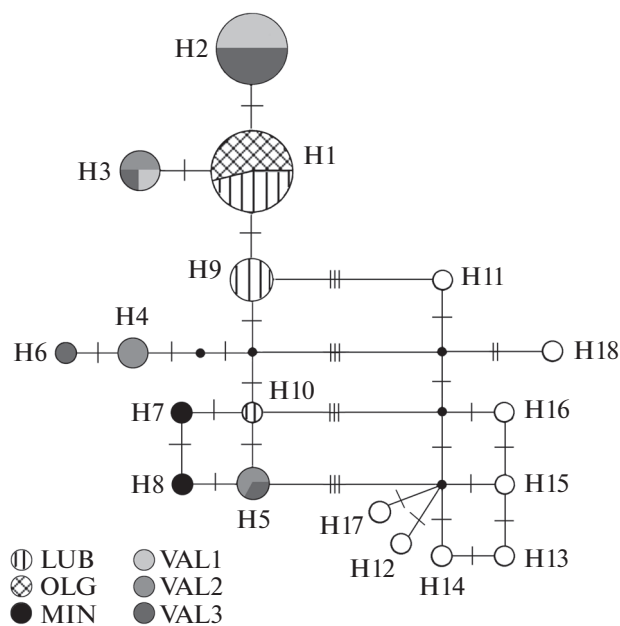


Рис. 2. Генеалогическая сеть митотипов лиственниц Восточной Сибири и Дальнего Востока, построенная методом RM по данным 5'-*atpA* и *nad4*(3с–4г) мтДНК. Размер окружностей отражает примерную частоту встречаемости митотипов, черные кружки — гипотетические гаплотипы, тонкие пересекающие бары — мутации.

Blokh., схожей по некоторым характеристикам анатомии древесины с *L. sibirica* и *L. gmelinii* [33, 34]. В этот же период *L. olgensis* имела более широкое распространение, достигая, вероятно, Восточно-Манчжурских гор, что могло способствовать образованию гибридных форм лиственниц, одной из которых стала *L. × lubarskii*.

Таким образом, результаты анализа трех митохондриальных маркеров выявили более близкое родство *L. × lubarskii* с *L. olgensis* и *L. sibirica*, чем с *L. gmelinii*.

Авторы благодарят В.Ю. Баркалова за предоставленный растительный материал, К.В. Киселева за помощь в разработке праймеров для амплификации ПЦР-продукта фрагмента 5'-фланкирующей области митохондриального гена *atpA* и Д.М. Атопкина за помощь в подготовке проб для секвенирования.

Работа поддержана грантами Президиума РАН (проекты № 15-I-6-030 и 15-I-6-080).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сукачев В.Н. О двух новых ценных для лесного хозяйства древесных породах // Тр. и исслед. по лесн. хоз-ву и лесн. пром-сти. 1931. Вып. 10. С. 12–18.
2. Колесников Б.П. К систематике и истории развития лиственниц секции *Pauciseriales* Patshke: Материалы по истории флоры и растительности СССР. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1946. Вып. 2. С. 21–86.
3. Недолужко В.А. Конспект дендрофлоры российского Дальнего Востока. Владивосток: Дальнаука, 1995. 208 с.
4. Farjon A. World Checklist and Bibliography of Conifers. 2nd. ed. Kew: Royal Botanic Gardens, 2001. 309 p.
5. Farjon A. A Handbook of the World's Conifers. Leiden, Boston: BRILL, 2010. 526 p.
6. Chang C.S., Kim H., Chang K.S. Provisional Checklist of Vascular Plants for the Korea Peninsula Flora (KPF). DESIGNPOST, 2014. P. 1–660.
7. Дылис Н.В. Лиственница Восточной Сибири и Дальнего Востока. М.: Изд-во АН СССР, 1961. 209 с.
8. Бобров Е.Г. История и систематика лиственниц // Комаровские чтения. Вып. 25. Л.: Наука, 1972. 96 с.
9. Урусов В.М. Гибридизация в природной флоре Дальнего Востока и Сибири (причины и перспективы использования). Владивосток: Дальнаука, 2002. 230 с.
10. Урусов В.М., Лобанова И.И., Варченко Л.И. Хвойные деревья и кустарники российского Дальнего Востока: география и экология. Владивосток: Дальнаука, 2004. 111 с.
11. Шишкин И.К. К познанию ольгинской лиственницы (*L. olgensis* A. Henry) // Бот. журн. СССР. 1933. Т. 18. Вып. 3. С. 162–207.
12. Гуков Г.В. Лиственницы и лиственничные леса российского Дальнего Востока. Владивосток: ГТС ДВО РАН, 2009. 350 с.
13. Голубева Л.В., Караулова Л.П. Растительность и климатостратиграфия плейстоцена и голоцена юга Дальнего Востока СССР. М.: Наука, 1983. 144 с.
14. Крестов П.В., Баркалов В.Ю., Омелько А.М. и др. Реликтовые комплексы растительности современных рефугиумов Северо-Восточной Азии // Комаровские чтения. 2009. Вып. 56. С. 5–63.
15. Сукачев В.Н. К истории развития лиственниц // Лесное дело. М.; Л.: Новая деревня, 1924. С. 12–44.
16. Коропачинский И.Ю. Голосеменные // Сосудистые растения советского Дальнего Востока. Т. 4. Л.: Наука, 1989. С. 9–25.
17. Потокин А.Ф., Иванов С.А., Орлова Л.В. Разнообразие лиственничников из *Larix olgensis* A. Henry в средней и южной части Приморского края // Труды XIII съезда Русск. ботан. о-ва. Т. 2. Тольятти, 2013. С. 296–297.
18. Semerikov V.L., Vendramin G.G., Sebastiani F., Lascoux M. RAPD-derived, PCR-based mitochondrial markers for *Larix* species and their usefulness in phylogeny // Conserv. Genet. 2006. V. 7. № 4. P. 621–625.
19. Семериков В.Л., Полежаева М.А. Структура изменчивости митохондриальной ДНК лиственниц Восточной Сибири и Дальнего Востока // Генетика. 2007. Т. 43. № 6. С. 782–789.
20. Semerikov V.L., Semerikova S.A., Polezhaeva M.A. et al. Southern montane populations did not contribute to the recolonisation of West Siberian Plain by Siberian larch (*Larix sibirica*): a range-wide analysis of cytoplasmic markers // Mol. Ecol. 2013. V. 22. № 19. P. 4958–4971. doi 10.1111/mec.12433
21. Polezhaeva M.A., Lascoux M., Semerikov V.L. Cytoplasmic DNA variation and biogeography of *Larix* Mill. in Northeast Asia // Mol. Ecol. 2010. V. 19. P. 1239–1252. doi 10.1111/j.1365-294X.2010.04552.x
22. Vasyutkina E.A., Adrianova I. Yu., Kozyrenko M.M. et al. Genetic differentiation of larch populations from the *Larix olgensis* range and their relationships with larches from Siberia and Russian Far East // For. Sci. Technol. 2007. V. 3. № 2. P. 132–138.
23. Васюткина Е.А., Лауве Л.С., Реунова Г.Д., Журавлев Ю.Н. Хромосомный мозаицизм лиственницы *Larix olgensis* A. Henry в Приморском крае // Изв. РАН. Сер. биол. 2010. № 6. С. 670–675.
24. Васюткина Е.А., Реунова Г.Д., Тупикин А.Е., Журавлев Ю.Н. Изменчивость митохондриальной ДНК лиственницы ольгинской (*Larix olgensis* A. Henry) в Приморском крае России // Генетика. 2014. Т. 50. № 3. С. 291–298. doi 10.7868/S0016675814030102
25. Полежаева М.А., Семериков В.Л., Пименова Е.А. Генетическое разнообразие лиственницы на севере Приморского края и границы распространения *Larix olgensis* A. Henry // Генетика. 2013. Т. 45. № 5. С. 580–586. doi 10.7868/S0016675813030144
26. Isabel N., Tremblay L., Michaud M. et al. RAPDs as an aid to evaluate the genetic integrity of somatic embryogenesis derived populations of *Picea mariana* (Mill.) B.S.P. // Theor. Appl. Genet. 1993. V. 86. P. 81–87.
27. Tamura K., Stecher G., Peterson D. et al. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0 // Mol. Biol. Evol. 2013. V. 30. P. 2725–2729.

28. *Excoffier L., Lischer H.E.L.* Arlequin suite ver. 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows // *Mol. Ecol. Res.* 2010. V. 10. P. 564–567. doi 10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x
29. *Librado P., Rozas J.* DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data // *Bioinformatics.* 2009. V. 25. № 11. P. 1451–1452. doi 10.1093/bioinformatics/btp187
30. *Bandelt H.-J., Forster P., Sykes B.C., Richards M.B.* Mitochondrial portraits of human populations // *Genetics.* 1995. V. 141. P. 743–753.
31. *Corander J., Marttinen P., Sirén J., Tang J.* Enhanced Bayesian modelling in BAPS software for learning genetic structures of populations // *BMC Bioinformatics.* 2008. № 9. P. 539. doi 10.1186/1471-2105-9-539
32. *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.
33. *Blokhina N.I., Bondarenko O.V.* Fossil plant assemblages from the Pliocene of southern Primory'e Region (Russian Far East): implications for reconstruction of plant communities and their environments // *Acta Palaeobot.* 2011. V. 51. № 1. P. 19–37.
34. *Bondarenko O.V., Blokhina N.I., Bruch A.A. et al.* Quantification of Calabrian vegetation in Southern Primory'e (Far East of Russia) using multiple proxies // *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 2017. V. 467. P. 253–264. <http://dx.doi.org/10.1016/j.palaeo.2016.09.017>.

On the Issue of *Larix × lubarskii* Sukaczev Origin: Analysis of Polymorphism of Mitochondrial Genome Markers

E. A. Vasyutkina^{a,*} and I. Yu. Adrianova^a

^a*Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, 690022 Russia*

^{*}*e-mail: levina@biosoil.ru*

The genetic diversity of *Larix × lubarskii* Sukaczev and its phylogenetic relationships with other larch species of Siberia and Russian Far East have been studied for the first time on the basis of mitochondrial markers *UBC460*, *nad4*(3c–4r) and 5'-flanking region of the *atpA* gene. In the *L. × lubarskii* population, two length variants of the *UBC460* fragment were revealed, with a predominance of a short one. This taxon is characterized by an average haplotypic (0.582) and low nucleotide (0.0003) diversity. The nucleotide polymorphism analysis of *nad4*(3c–4r) and 5'-*atpA* of larches from south Primorsky Krai revealed three mitotypes in *L. × lubarskii*, only one from which was common with *L. olgensis* A. Henry (*locus classicus*). The genealogical network of mitotypes indicate a common origin of *L. × lubarskii* and *L. olgensis* and a relatively recent divergence, as well as a closer relationship with *L. sibirica* Ledeb. than with *L. gmelinii* (Rupr.) Rupr.

Keywords: *Larix*, Pinaceae, mtDNA, *UBC460*, 5'-flanking region of the mitochondrial *atpA* gene, *nad4*(3c–4r), genetic variation.