

УДК 575.2:582.892

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЗАМАНИХИ ВЫСОКОЙ *Oplopanax elatus* (Nakai) Nakai (Araliaceae)

© 2010 г. А. Б. Холина, О. В. Наконечная, О. Г. Корень, Ю. Н. Журавлев

Биолого-почвенный институт Дальневосточного отделения

Российской академии наук, Владивосток 690022;

e-mail: kholina@biosoil.ru

Поступила в редакцию 18.06.2009 г.

Методом аллозимного анализа исследована генетическая и генотипическая изменчивость редкого реликтового вида, представителя одного из древних семейств покрытосеменных — Аралиевых (Araliaceae), клонообразующего растения заманихи высокой *Oplopanax elatus* (Nakai) Nakai. Приведены описание электрофоретического разделения и генетическая трактовка характера изменчивости ферментов. Показатели генетической изменчивости имеют невысокие значения ($P = 25.0\%$, $A = 1.45$, $H_o = 0.131$, $H_e = 0.113$), сопоставимые с данными, известными для редких видов растений и представителей сем. Araliaceae. Основными факторами, ответственными за наблюдаемый уровень полиморфизма, вероятно, являются эволюционная история вида и дрейф генов. В то же время уровень генотипического разнообразия ($G/N = 0.76$, $D = 0.97$) существенно превышает величины, известные для видов с вегетативным размножением ($D = 0.62$), что указывает на определенный вклад семенного размножения в его формирование.

Заманиха высокая *Oplopanax elatus* (Nakai) Nakai, представитель одного из древних семейств покрытосеменных — Аралиевых (Araliaceae), является реликтом третичной флоры с весьма ограниченной областью распространения: в России она встречается на юге Приморья, а за ее пределами произрастает только на севере Корейского полуострова [1, 2]. Это листопадный кустарник с шиповатым стволиком до 1 м высотой и крупными сложно надрезанными листьями; вид характеризуется высокими требованиями к влажности местообитаний. Ареал *O. elatus* представлен несколькими изолированными популяциями, приуроченными к главным вершинам Сихотэ-Алиня [1, 2]. Вид внесен в Красную книгу РСФСР [3] и Красную книгу Приморского края [4]. Заманиха высокая — ценное лекарственное растение, по действию подобное женьшеню, разрешена для медицинского применения [1, 2, 5] и является особо уязвимой из-за интенсивной и неконтролируемой заготовки сырья. Очевидна актуальность изучения генетического разнообразия вида как научной основы для сохранения генофонда и восстановления генотипической структуры популяций при реинтродукции. Анализ генетического разнообразия редких видов подразумевает использование молекулярных маркеров [6–8], среди которых надежными и востребованными являются аллозимные маркеры, применяемые нами при исследовании редких видов растений Дальнего Востока России [8–15]. Публикации по аллозимному полиморфизму представителей сем.

Araliaceae немногочисленны [8–11, 16–19]. В настоящей работе мы на основе анализа изоферментов оценили уровень генетической изменчивости *O. elatus* и сравнили его с известными данными для видов аралиевых.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сбор листьев 29 растений *O. elatus* для электрофоретического анализа производили в июне 2008 г. на горе Литовка (Приморский край, Партизанский р-н). Экстракцию, электрофорез и гистохимическое окрашивание изоферментов проводили как описано ранее [12]. Состав буферных систем и режимы фракционирования представлены в табл. 1, исследованные ферментные системы — в табл. 2. Для анализа генетической изменчивости было использовано 20 локусов (*Adh-1*, *Adh-2*, *Ald*, *Aat-1*, *Aat-2*, *Gpi-3*, *Lap-1*, *Lap-2*, *Mdh-1*, *Mdh-2*, *Mdh-3*, *Fe-1*, *Fe-2*, *Fe-3*, *Fe-4*, *Pgm-1*, *Pgm-2*, *6-Pgd-1*, *6-Pgd-2*, *Fdp*). Для обозначения ферментов использовали общепринятую номенклатуру Пракаша [20]. Аллели обозначали в соответствии с электрофоретической подвижностью по отношению к наиболее распространенному варианту, подвижность которого принимается за 1.00. Показатели полиморфности (P), среднего числа аллелей на локус (A), средней наблюдаемой (H_o) и ожидаемой (H_e) гетерозиготности рассчитывали общепринятыми методами [21, 22]. Статистическую обработку проводили с использованием программы TFPGA [23]. Генотипическое разнообразие

Таблица 1. Используемые буферные системы и условия электрофоретического фракционирования ферментов

Буферная система	Электродный буфер	Гелевый буфер	Режим и длительность фракционирования	Фракционируемые ферменты
ТС	0.223 М Трис 0.086 М Лимонная кислота pH 6.2	Электродный буфер, разбавленный 1 : 22	15 мА, 105 В, 16 ч	MDH, 6-PGD, FDP
ТЕВ	0.18 М Трис 0.10 М Борная кислота 0.004 М ЭДТА pH 8.6	Электродный буфер, разбавленный 1 : 25	17 мА, 180 В, 17 ч	AAT, ADH, ALD, GPI, LAP, FE, PGM

Таблица 2. Исследованные ферментные системы и количество полиморфных локусов и аллелей, выявленных в листьях *Oplorpanax elatus*

Фермент	Сокращение	Номер по К.Ф.	Интерпретируемые локусы	Полиморфные локусы	Аллели
Алкогольдегидрогеназа	ADH	1.1.1.1	2	0	2
Альдолаза	ALD	4.1.2.13	1	0	1
Аспаратаминотрансфераза	AAT	2.6.1.1	2	0	2
Глюкозофосфатизомераза	GPI	5.3.1.9	1	1	3
Лейцинаминопептидаза	LAP	3.4.11.1	2	1	4
Малатдегидрогеназа	MDH	1.1.1.37	3	1	6
Флуоресцентная эстераза	FE	3.1.1.2	4	1	5
Фосфоглюкомутаза	PGM	2.7.5.1	2	1	3
6-фосфоглюконатдегидрогеназа	6-PGD	1.1.1.44	2	0	2
Фруктозодифосфатаза	FDP	3.1.3.11	1	0	1
Всего			20	5	29

оценивали как соотношение G/N , где G — количество различных генотипов и N — размер выборки [24], а также с помощью модифицированного индекса разнообразия Симпсона (D), используемого для клональных растений [24, 25]: $D = 1 - \{[\sum n_i(n_i - 1)]/[N(N - 1)]\}$, где n_i — число растений с анализируемым фенотипом i и N — число растений анализируемых рамет — особей, предположительно образующихся в результате вегетативного размножения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе анализа 10 ферментных систем *O. elatus* было выявлено 29 аллельных вариантов, предположительно кодируемых 20 локусами (табл. 2, рис. 1). Наглядное изображение электрофореграмм некоторых изученных локусов представлено на рис. 2. Выявленные аллельные варианты интерпретировали на основе данных о четвертичной структуре фермента и принципа кодоминантного наследования. Далее приведены описание фенотипов и генетическая интерпретация для каждой из исследованных ферментных систем, а также литературные данные относительно

генетического контроля некоторых ферментов у изученных видов сем. Araliaceae.

Алкогольдегидрогеназа (ADH) представлена двумя зонами активности, предположительно контролируемые двумя мономорфными локусами (рис. 1). Мономорфный локус *Adh* обнаружен у *Panax ginseng* и *P. quinquefolius* [8–10].

Альдолаза (ALD) на электрофореграмме проявляется одной мономорфной зоной, как и у *Panax ginseng* и *P. quinquefolius* [8–10].

Аспаратаминотрансфераза (AAT) представлена в виде двух зон активности, предположительно контролируемых двумя мономорфными локусами *Aat-1* и *Aat-2* (рис. 1; 2,з). Для представителей аралиевых, *Panax quinquefolius* [8], *Kalopanax pictus* [17] и видов рода *Acanthopanax* [18] известен один мономорфный локус *Aat*, у *Dendropanax moribifera* — два локуса: полиморфный локус *Aat-1* с четырьмя аллельными вариантами и мономорфный *Aat-2* [19]; у *Panax ginseng* AAT контролируется тремя мономорфными локусами [8–10].

Глюкозофосфатизомераза (GPI) представлена тремя зонами активности. Быстроподвижные фракции GPI-1 и GPI-2 нами не учитывались. В

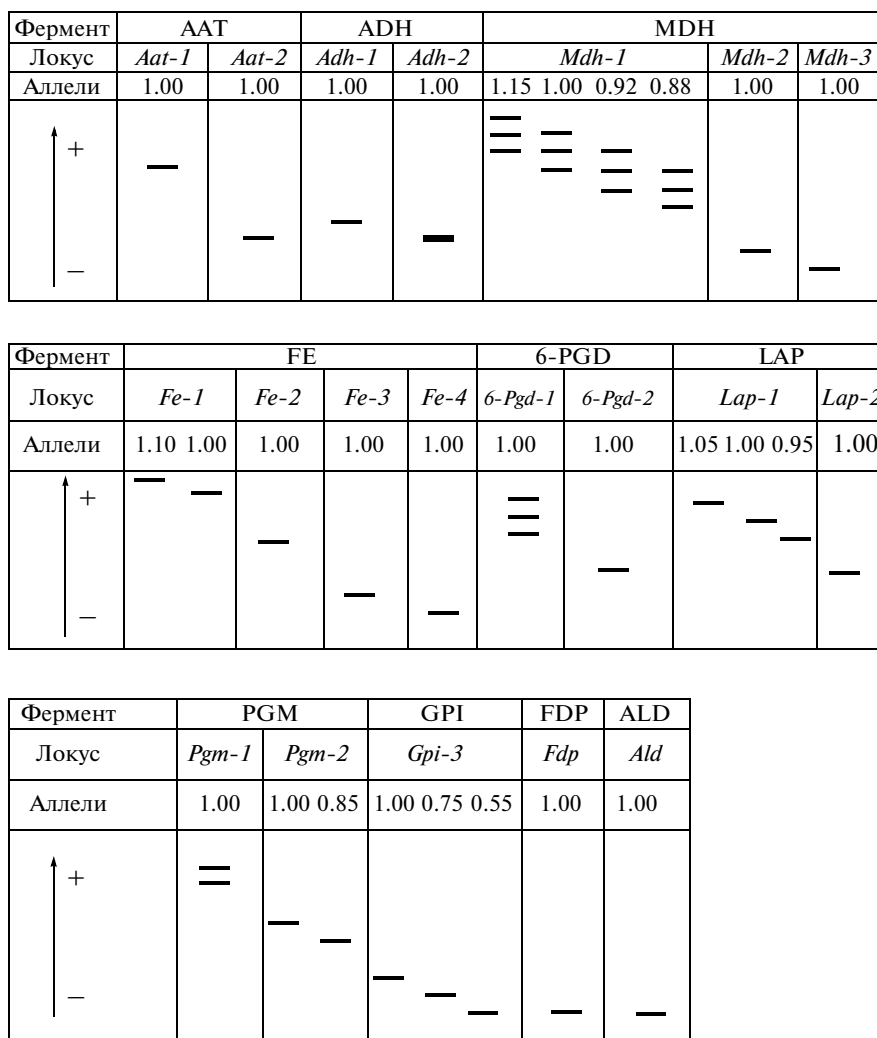


Рис. 1. Схематическое изображение некоторых электрофоретических вариантов ферментов в листьях *Oplopanax elatus*.

наименее подвижной зоне активности, предположительно кодируемой локусом *Gpi-3*, были выявлены электрофоретические варианты (рис. 1; 2, д). Генетическая система GPI различается у разных видов аралиевых по числу локусов. У *Kalopanax pictus* GPI находится под контролем единственного полиморфного локуса с двумя аллелями [17]; для видов рода *Acanthopanax* известен полиморфный локус *Gpi-2* с двумя аллелями [18]; три локуса выявлены у *Dendropanax morbifera*: наиболее подвижный — мономорфный *Gpi-1*, *Gpi-2* — слабополиморфный с двумя аллелями и полиморфный локус *Gpi-3* с тремя аллелями [19]; три мономорфных локуса GPI обнаружены у *Panax ginseng* [9, 10], а у *P. quinquefolius* GPI находится под контролем четырех локусов, из которых два наиболее подвижных — мономорфные [16].

Лейцинаминопептидаза (LAP) выявляется в виде двух зон активности, наиболее подвижная из

них предположительно контролируется локусом *Lap-1* с тремя аллелями, медленная зона — мономорфным *Lap-2* (рис. 1; 2, е). У некоторых исследованных видов аралиевых LAP также контролируется двумя генами: у восьми видов рода *Acanthopanax* — двумя мономорфными *Lap-1* и *Lap-2* [18]; у *Kalopanax pictus* выявлены *Lap-1* — полиморфный локус с тремя аллелями и мономорфный *Lap-2* [17]. У *Panax ginseng* и *P. quinquefolius* фермент контролируется одним мономорфным локусом [8–10].

Малатдегидрогеназа (MDH). На фореграммах четко проявляются три зоны активности — две высокоактивные зоны, кодируемые полиморфным локусом *Mdh-1* и мономорфным *Mdh-2*, и малоактивная медленная зона, под контролем мономорфного локуса *Mdh-3* (рис. 1). Аллели локуса *Mdh-1* выявляются тройными фракциями, гетерозиготы — пятью фракциями. Для большин-

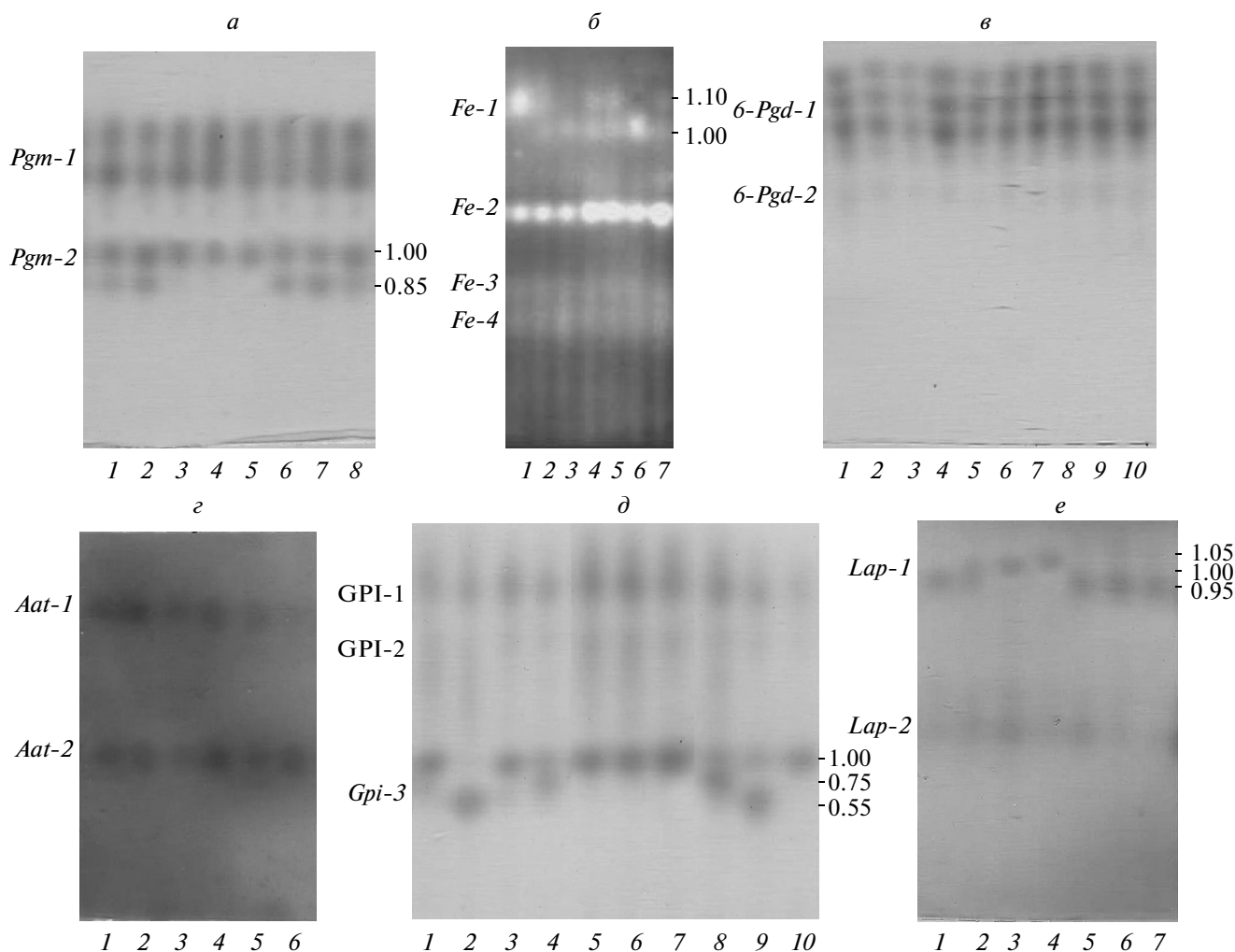


Рис. 2. Электрофореграммы некоторых локусов *Oplopanax elatus*. а – PGM: 1, 2, 6–8 – $Pgm-2^{1.00/0.85}$; 3–5 – $Pgm-2^{1.00}$. б – FE: 1 – $Fe-1^{1.10}$; 2, 4, 5, 7 – $Fe-1^{1.10/1.00}$; 3, 6 – $Fe-1^{1.00}$. в – 6-PGD. г – AAT. д – GPI: 1, 3, 5–7, 10 – $Gpi-3^{1.00}$; 2 – $Gpi-3^{0.55}$; 4, 8 – $Gpi-3^{1.00/0.75}$; 9 – $Gpi-3^{1.00/0.55}$. е – LAP: 1, 5–7 – $Lap-1^{0.95}$; 2 – $Lap-1^{1.00/0.95}$; 3 – $Lap-1^{1.00}$; 4 – $Lap-1^{1.05}$.

ства изученных видов аралиевых характерен двух-локусный контроль MDH – двух видов *Panax* [9, 10, 16], видов рода *Acanthopanax* [18] и *Dendropanax morbifera* [19], при этом в двух последних случаях локус *Mdh-1* является полиморфным с двумя аллелями. У *Kalopanax pictus* фермент находится под контролем трех локусов, из которых *Mdh-1* – полиморфный локус с четырьмя аллелями, *Mdh-2* – полиморфный локус с тремя аллелями и *Mdh-3* – мономорфный [17].

Флуоресцентная эстераза (FE). Определены четыре локуса FE: полиморфный *Fe-1* с двумя аллелями, контролирующий самую быструю зону активности, и три мономорфных локуса *Fe-2*, *Fe-3*, *Fe-4*. Полиморфный *Fe-1* с двумя аллелями известен для восьми видов рода *Acanthopanax* [18], для *Kalopanax pictus* обнаружены полиморфные локу-

сы *Fe-2*, *Fe-3* [17]. Для двух видов рода *Panax* FE находится под контролем единственного мономорфного локуса [9, 10, 16].

Фосфоглюкомутаза (PGM). Обнаружены две зоны активности; более подвижная зона, представленная двумя фракциями фермента, учитывалась как продукт мономорфного локуса *Pgm-1*, менее подвижная предположительно контролируется полиморфным локусом *Pgm-2* с двумя аллелями (рис. 1; 2,а). Для *Kalopanax pictus* известен однолокусный контроль PGM [17], у видов рода *Acanthopanax* выявлено два полиморфных двухаллельных локуса *Pgm-1* и *Pgm-2* [18], для двух видов рода *Panax* PGM контролируется тремя генами – мономорфным *Pgm-1* и двумя полиморфными *Pgm-2* и *Pgm-3* [8–10].

Таблица 3. Частоты аллелей пяти полиморфных локусов *Oplopanax elatus* ($N = 29$ растений)

Локус	Аллели	Частоты аллелей	H_o
<i>Gpi-3</i>	0.55	0.086	0.276
	0.75	0.121	
	1.00	0.793	
<i>Lap-1</i>	0.95	0.069	0.207
	1.00	0.862	
	1.05	0.069	
<i>Mdh-1</i>	0.88	0.224	0.655
	0.92	0.086	
	1.00	0.517	
	1.15	0.172	
<i>Fe-1</i>	1.00	0.569	0.655
	1.10	0.431	
<i>Pgm-2</i>	0.85	0.414	0.828
	1.00	0.586	

6-фосфоглюконатдегидрогеназа (6-PGD) выявляется двумя зонами, при этом быстрая зона представлена тремя фракциями у всех исследованных образцов растений (рис. 1; 2, в). Предположительно фермент контролируется двумя мо-

номорфными локусами *6-Pgd-1* и *6-Pgd-2*. Двухлокусный контроль 6-PGD установлен у *Dendropanax morbifera* [19], с мономорфным локусом *6-Pgd-1* и слабополиморфным двухаллельным локусом *6-Pgd-2*, и видов рода *Acanthopanax*, где локус *6-Pgd-1* является полиморфным с тремя аллелями, а *6-Pgd-2* — мономорфным [18]. У *Kalopanax pictus* [17] и *Panax ginseng* 6-PGD контролируется одним мономорфным локусом [9, 10], у *P. quinquefolius* в этом локусе обнаружены два аллельных варианта [8, 9].

Фруктозодифосфатаза (FDP) окрашивается в виде инвариантной зоны, предположительно контролируемой одним мономорфным локусом.

Среди исследованных ферментов локусы *Mdh-1*, *Pgm-1* и *6-Pgd-1* выявлялись множественными фракциями. Известно, что множественность фракций фермента в одной зоне может быть связана с дупликацией отдельных генов или всего генома в процессе эволюции [26]. Число хромосом *O. elatus* $2n = 48$ [27], так что, вероятно, вид относится к анцестральным полиплоидам. Допустимо предположить, что множественность форм рассмотренных ферментов *O. elatus* является результатом взаимодействия дублированных генов.

В целом по 10 исследованным ферментным системам из тканей листьев *O. elatus* идентифицировано 15 мономорфных и 5 полиморфных (*Gpi-3*, *Lap-1*, *Mdh-1*, *Fe-1*, *Pgm-2*) генов. Предполагается, что семь ферментов находятся под мультигенным контролем, тогда как три фермента находятся под контролем одного локуса. Полиморфные локусы стабильно выявляются в

Таблица 4. Основные показатели аллозимного полиморфизма *Oplopanax elatus* и других видов семейства Araliaceae

Вид	N_l	N_i	P , %	H_o	H_e	A	n_e	Ссылка
<i>Oplopanax elatus</i>	20	29	25.0	0.131	0.113	1.45	1.15	Наши данные
<i>Panax ginseng</i>	39	284	7.7	0.022	0.025	1.08	1.04	[8–11]
<i>P. quinquefolius</i>	39	44	18.2	0.056	0.067	1.27	1.14	[8, 9, 11]
<i>P. quinquefolius*</i>	16	1307	27.3	—	0.072	1.33	1.13	[16]
<i>Kalopanax pictus</i> (<i>K. septemlobus</i>)	18	398	55.6	—	0.200	1.94	1.36	[17]
Восемь видов рода <i>Acanthopanax</i>	23	255	13.0–47.8	0.019–0.129	0.028–0.168	1.13–1.57	1.04–1.29	[18]
<i>Dendropanax morbifera*</i>	11	240	30.7	0.100	0.095	—	1.5	[19]
Редкие, 54 вида*	—	—	29.9	—	0.095	1.53	—	[28]

Примечание. N_l — число локусов, N_i — число исследованных растений, P — полиморфность, H_o — наблюдаемая гетерозиготность, H_e — ожидаемая гетерозиготность, A — количество аллелей на локус, n_e — эффективное число аллелей.

* Показатели, средние по популяциям.

крахмальном геле и надежно интерпретируются, поэтому могут быть использованы в качестве генных маркеров для исследования уровня аллозимного полиморфизма *O. elatus*.

По каждому полиморфному локусу обнаружено от двух до четырех аллелей, представленных в популяции с разной частотой (табл. 3). Высокоизменчивыми были локусы *Mdh-1*, *Fe-1*, *Pgm-2* (наблюдаемая гетерозиготность — не ниже 35%), локусы *Gpi-3*, *Lap-1* характеризовались средним уровнем изменчивости (наблюдаемая гетерозиготность 0.276 и 0.207, соответственно).

На основе аллельных частот 20 локусов были рассчитаны основные показатели генетической изменчивости заманихи высокой (табл. 4). Установленный уровень полиморфизма оказался невысоким и сопоставимым с величинами, приведенными для редких видов растений [28] и для большинства изученных представителей сем. *Araliaceae* — редких видов или видов с ограниченным распространением. Исключение составил *Kalopanax pictus*, с максимальными показателями изменчивости, — вид, характеризующийся самым протяженным ареалом среди изученных видов аралиевых Дальнего Востока России и широко распространенный в странах Восточной Азии [2, 17].

Помимо небольших размеров ареала и экологической специфичности, низкий уровень генетической изменчивости *O. elatus* может быть в значительной мере обусловлен историческим прошлым вида. Снижение уровня полиморфизма происходит в том случае, когда в результате резкого сокращения численности и инбридинга вид проходит через “бутылочное горлышко”. Для реликтовых растений, таких как *Aristolochia manshuriensis* [13, 15], видов аралиевых *Panax ginseng* [9, 10] и *Dendropanax moribifera* [19], ситуация “бутылочного горлышка” является наиболее вероятной причиной невысокого уровня полиморфизма. *O. elatus* — представитель листопадных тургайских лесов [1]; во время оледенений происходило значительное сокращение ареала широколиственных лесов, оттесненных к югу, и смещение зоны высокогорной растительности; вероятнее всего, это сопровождалось резким снижением численности вида. Впоследствии заманиха осваивает условия существования в елово-пихтовых лесах, как в своеобразном рефугиуме с высокой влажностью почвы и воздуха, соответствующей экологическим требованиям вида, и отсутствием конкурентных видов в занимаемом ярусе [1, 2]. Не исключено, что колебания численности и возобновление вида из небольшого числа “основателей” могли происходить не один раз, в том числе и в настоящее время, в связи с активной человеческой деятельностью (рубки, пожары, сбор растений), поэтому можно рассматривать события

эволюционной истории вида и связанный с ними дрейф генов в качестве основных факторов, ответственных за наблюдаемый низкий уровень изменчивости вида.

Интересно отметить, что показатель наблюдаемой гетерозиготности заманихи является максимальным из изученных видов аралиевых (табл. 4). Низкие показатели гетерозиготности в популяциях аралиевых в большей степени связаны с их системой скрещивания, значительную долю которого часто составляет самоопыление, а у некоторых видов — клейстогамия [29] и различные формы апомиксиса [30], включая гаметофитный апомиксис у женшени [31], который также ведет к снижению гетерозиготности. Для заманихи высокой характерно сочетание полового и бесполого размножения, при этом семенное размножение затруднено, подавляющая часть проростков погибает; размножается растение в основном вегетативно [1, 2], что способствует размножению существующих в популяции генотипов, а при наличии отбора — наиболее приспособленных. В данном случае отбор может быть направлен в пользу гетерозигот, на что косвенно указывает не большой избыток наблюдаемой гетерозиготности по сравнению с теоретически рассчитанной из соотношения Харди–Вайнберга ($H_o = 0.131$, $H_e = 0.113$). Низкие показатели полиморфности и аллельного разнообразия *O. elatus* при относительно высоком уровне гетерозиготности также косвенно указывают на последствия дрейфа генов, так как известно, что дрейф генов, в отличие от инбридинга, в первую очередь сокращает аллельное разнообразие и как следствие — долю полиморфных локусов [32]. На поддержание повышенного уровня гетерозиготности могут влиять и другие факторы. Так, высокие показатели наблюдаемой гетерозиготности и избыток гетерозигот в популяциях эндема серпентинитовых обнажений *Calystegia collina* могут быть обусловлены, по мнению авторов, как происхождением отдельных популяций из ряда основателей, многие из которых были гетерозиготами, так и мутациями, возникающими у долгоживущего вида и поддерживаемыми вегетативным размножением [33]. Вполне вероятно, что исходным материалом при возникновении изученной популяции *O. elatus* послужили именно гетерозиготные растения, особенно если они обладали повышенной жизнеспособностью. Принимая во внимание преимущественно вегетативное размножение *O. elatus* и общую продолжительность жизни отдельной особи — до 300 лет (до отмирания всех частей клона) [2], нельзя исключать возможность накопления мутаций, поддерживаемых вегетативным размножением.

Анализ клональной структуры изученной популяции, проведенный для оценки генотипиче-

ского разнообразия, показал следующее. Для выборки из 29 растений было выявлено 22 различных мультилокусных генотипа; только четыре генотипа встречались более одного раза (2–4 раза). Генотипическое разнообразие (G/N) составило 0.76, т.е. в данной популяции 76% особей имеют индивидуальный генотип; индекс разнообразия Симпсона (D) – 0.97. Уровень генотипического разнообразия весьма высок для вида с затрудненным семенным размножением. Так, для редкого эндемичного вида *Erythronium propullans* средние значения по семи популяциям $G/N = 0.35$, $D = 0.66$ [24]; средний показатель D для 21 вида клонообразующих растений составил 0.62 [25]. Наличие большого числа разнообразных генотипов при невысоких показателях генетической изменчивости уже неоднократно было отмечено для видов с преимущественно вегетативным способом размножения [34–37]; это объясняется наличием спорадического семенного воспроизводства у исследованных видов.

Компьютерное моделирование влияния процессов семенного возобновления и клонального роста на генетическую изменчивость клонообразующего растения *Ranunculus repens* L. показало, что даже очень редких событий семенного размножения достаточно для поддержания высокого уровня генотипического разнообразия [35], при изучении генетической структуры *Anemone nemorosa* установлено, что для этого достаточно 3–5% особей полового происхождения [36]; в целом, несмотря на то что при увеличении темпов вегетативного размножения генотипическое разнообразие постепенно уменьшается, даже небольшого числа особей, появившихся в результате полового размножения, достаточно для того, чтобы популяция была генотипически вариабельной [34–38]. Полученные нами данные свидетельствуют о наличии в популяции заманихи периодической половой репродукции, позволяющей сохранить определенный уровень генотипического разнообразия. Кроме того, предполагаемое происхождение популяции *O. elatus* из гетерозиготных основателей, накопление мутаций, а также поддержка возникающих изменений путем вегетативного размножения – эти явления также могли способствовать формированию обнаруженного высокого уровня генотипического разнообразия. Следует отметить, что увеличение объема выборки при наличии выявленного числа мультилокусных генотипов могло бы снизить показатели генотипического разнообразия.

Таким образом, реликтовая популяция *O. elatus* характеризуется невысоким уровнем генетического полиморфизма, в целом характерным для редких видов растений с ограниченным ареалом и сопоставимым с данными, полученными для

других редких видов сем. Araliaceae. Основными факторами, ответственными за наблюдаемый уровень полиморфизма, вероятно, являются эволюционная история вида и дрейф генов. В то же время выявленный уровень генотипического разнообразия существенно превышает величины, известные для видов с вегетативным размножением, что указывает на определенный вклад семенного размножения в его формирование. Установленные для изученной популяции показатели полиморфизма еще не дают возможности корректно оценить разнообразие генофонда на видовом уровне и состояние отдельных популяций. Не менее важно получить данные об уровне и распределении внутри- и межпопуляционной изменчивости, учитывая особенности биологии размножения вида, для чего необходимы дальнейшие исследования.

Авторы выражают свою глубокую благодарность сотруднику лаборатории биотехнологии БПИ ДВО РАН Ирине Леонидовне Кац за сбор материала.

Работа поддержана грантом НШ 1635-2008.4 Президента Российской Федерации и программой Президиума РАН “Биологическое разнообразие”, проект “Генетическое разнообразие природных популяций представителей флоры Дальнего Востока” (№ 09-I-П23-06), а также грантом РФФИ 08-04-99132-п_офи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Куренцова Г.Э. Реликтовые растения Приморья. Л.: Наука, 1968. 72 с.
2. Журавлев Ю.Н., Коляда А.С. Araliaceae: женьшень и другие. Владивосток: Дальнаука, 1996. 280 с.
3. Красная книга РСФСР. Растения. М.: Росагропромиздат, 1988. 590 с.
4. Красная книга Приморского края: Растения. Владивосток: АВК “Апельсин”, 2008. 688 с.
5. Шретер А.И. Лекарственная флора советского Дальнего Востока. М.: Медицина, 1975. 328 с.
6. Schemske D.W., Husband B.C., Ruckelshaus M.N. et al. Evaluation approaches to the conservation of rare and endangered plants // Ecology. 1994. V. 75. P. 584–606.
7. Crawford D.J. Molecular markers for the study of genetic variation within and between populations of rare plants // Opera Bot. 1997. V. 132. P. 149–157.
8. Журавлев Ю.Н., Корень О.Г., Музарок Т.И. и др. Молекулярные маркеры для сохранения редких видов растений Дальнего Востока // Физиология растений. 1999. Т. 46. № 6. С. 953–964.
9. Корень О.Г. Молекулярные маркеры для технологии сохранения природных популяций женьшеня (*Panax ginseng* С.А. Мей.): Дис. ... канд. биол. наук. Владивосток: Биолого-почвенный институт ДВО РАН, 2000. 24 с.

10. Koren O.G., Potenko V.V., Zhuravlev Yu.N. Inheritance and variation of allozymes in *Panax ginseng* C.A. Meyer (Araliaceae) // Intern. J. Plant Sciences. 2003. V. 164. № 1. P. 189–195.
11. Артюкова Е.В., Козыренко М.М., Корень О.Г. и др. RAPD- и аллозимный анализ генетической изменчивости *Panax ginseng* C.A. Meyer и *P. quinquefolius* L. // Генетика. 2004. Т. 40. № 2. С. 239–247.
12. Холина А.Б., Корень О.Г., Журавлев Ю.Н. Высокий уровень полиморфизма и автотетраплоидное происхождение редкого эндемичного вида остролодочника ханкайского *Oxytropis chankaensis* Jurtz. (Fabaceae): данные аллозимного анализа // Генетика. 2004. Т. 40. № 4. С. 497–505.
13. Наконечная О.В., Корень О.Г., Журавлев Ю.Н. Аллозимная изменчивость реликтового растения *Aristolochia manshuriensis* Kom. (Aristolochiaceae) // Генетика. 2007. Т. 43. № 2. С. 217–226.
14. Холина А.Б., Корень О.Г., Журавлев Ю.Н. Генетическая структура и дифференциация популяций тетраплоида *Oxytropis chankaensis* (Fabaceae) // Генетика. 2009. № 1. С. 81–91.
15. Корень О.Г., Наконечная О.В., Журавлев Ю.Н. Генетическая структура природных популяций редкого реликтового вида *Aristolochia manshuriensis*. (Aristolochiaceae) в нарушенных и ненарушенных местообитаниях // Генетика. 2009. Т. 45. № 6. С. 773–780.
16. Cruze-Sanders J.M., Hamick J.L. Genetic diversity in harvested and protected populations of wild American ginseng *Panax quinquefolius* L. (Araliaceae) // Am. J. Bot. 2004. V. 91. № 4. P. 540–548.
17. Jung S.D., Huh H.W., Hong J.H. et al. Genetic diversity and population structure of *Kalopanax pictus* (Araliaceae) // J. Plant Biol. 2003. V. 46. № 4. P. 255–262.
18. Huh M.K., Huh H.W. Classification of genus *Acanthopanax* in Korea and genetic diversity using allozymes // Silvae Genetica. 2005. V. 54. № 4–5. P. 206–210.
19. Kim S.H., Jang Y.S., Han J.G. et al. Genetic variation and population structure of *Dendropanax moribifera* (Araliaceae) in Korea // Silvae Genetica. 2006. V. 55. № 1. P. 7–13.
20. Prakash S., Lewontin R.C., Hubby T.L. A molecular approaches to the study of genic heterozygosity in natural populations. IV. Patterns of genic variation in central, marginal and isolated populations of *Drosophila pseudoobscura* // Genetics. 1969. V. 61. P. 841–858.
21. Гончаренко Г.Г., Падутов В.Е., Потенко В.В. Руководство по исследованию хвойных видов методом электрофоретического анализа изоферментов. Гомель: Полеспечать, 1989. 164 с.
22. Животовский Л.А. Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991. 271 с.
23. Miller M.P. Tools for population genetic analyses (TFPGA) 1.3: A Windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. 1997. Computer software distributed by author.
24. Pleasant J.M., Wendel J.F. Genetic diversity in a clonal narrow endemic, *Erythronium propullans*, and its widespread progenitor, *Erythronium albidum* // Am. J. Bot. 1989. V. 76. № 8. P. 1136–1151.
25. Ellstrand N.C., Roose M.L. Patterns of genotypic diversity in clonal plant species // Am. J. Bot. 1987. V. 74. № 1. P. 123–131.
26. Gottlieb L.D. Conservation and duplication of isozymes in plants // Science. 1982. V. 216. P. 373–380.
27. Соколовская А.П. Географическое распространение полиплоидных видов растений (исследование флоры Приморского края) // Вестн. Ленингр. ун-та. 1966. № 3. Сер. биол., вып. 1. С. 92–106.
28. Gitzendanner M.A., Soltis P.S. Patterns of genetic variation in rare and widespread plant congeners // Am. J. Bot. 2000. V. 87. № 6. P. 783–792.
29. Елумеев Э.А. Особенности строения цветков, цветения и плодоношения свободнойгодника колючего // Апомиксис и селекция. М.: Наука, 1970. С. 238–241.
30. Хохлов С.С., Зайцева М.И., Курпьянов П.Г. Выявление апомиктических форм во флоре цветковых растений СССР. Саратов: Изд-во Сарат. ун-та, 1978. 224 с.
31. Zhuravlev Yu.N., Koren O.G., Reunova G.D. et al. *Panax ginseng* natural populations: their past, current state and perspectives // Acta Pharmacologica Sinica. 2008. V. 29. № 9. P. 1127–1136.
32. Хедрик Ф. Генетика популяций. М.: Техносфера, 2003. 592 с.
33. Wolf A.T., Howe R.W., Hamrick J.L. Genetic diversity and population structure of the serpentine endemic *Calysetegia collina* (Convolvulaceae) in northern California // Am. J. Bot. 2000. V. 87. № 8. P. 1138–1146.
34. Канралов М.В. Генотипическая изменчивость в популяциях клонообразующего растения *Saxifraga cernua* в центре и на периферии ареала // Экология. 2004. № 6. С. 460–463.
35. Watkinson A.R., Powell J.C. Seedling recruitment and the maintenance of clonal diversity in plant population – a computer simulation of *Ranunculus repens* // J. Ecology. 1993. V. 81. № 4. P. 707–717.
36. Stehlik I., Holderegger R. Spatial genetic structure and clonal diversity of *Anemone nemrosa* in late successional deciduous woodlands of Central Europe // J. Ecology. 2002. V. 88. № 3. P. 424–435.
37. Xie G.-W., Wang D.-L., Yuan Y.-M. et al. Population genetic structure of *Monimopetalum chinense* (Celastraceae), an endangered endemic species of Eastern China // Annals Botany. 2005. V. 95. P. 773–777.
38. Bengtsson B.O. Genetic variation in organism with sexual and asexual reproduction // J. Evolutionary Biology. 2003. V. 16. № 2. P. 189–199.

Genetic Variation of *Oplopanax elatus* (Nakai) Nakai (Araliaceae)**A. B. Kholina, O. V. Nakonechnaya, O. G. Koren, and Yu. N. Zhuravlev***Institute of Biology and Soil Sciences, Russian Academy of Sciences, Vladivostok, 690022 Russia**e-mail: kholina@biosoil.ru*

Using allozyme analysis, genetic and genotypic variation of rare relict species, a member of one of ancient angiosperm families, Araliaceae, the clone-forming plant *Oplopanax elatus* (Nakai) Nakai, was evaluated. Electrophoretic separation of the enzymes is described, and genetic interpretation of the enzymes variation patterns is presented. The values of genetic variation indices obtained were low ($P = 25\%$; $A = 1.45$; $H_o = 0.131$; $H_e = 0.113$) and comparable with the data reported for the rare plant species and the representatives of the family Araliaceae. The main factors responsible for the polymorphism level observed might be the evolutionary history of the species and gene drift. The level of genotypic diversity ($G/N = 0.76$; $D = 0.97$) was substantially higher, compared to the values reported for species with vegetative reproduction ($D = 0.62$). These results suggest certain contribution of the propagation by seeds in the formation of the species of interest.