

УДК 577.21:582.475.2
AGRIS F30

**АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ И СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИЙ
ЗАПАДНОЙ РАСЫ ЛИСТВЕННИЦЫ СИБИРСКОЙ *LARIX SIBIRICA* LEDEB. УРАЛА
НА ОСНОВЕ ПОЛИМОРФИЗМА МЕЖМИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ МАРКЕРОВ**

©**Васильева Ю. С.**, ORCID: 0000-0002-2255-2434, канд. биол. наук,
Пермский государственный национальный исследовательский университет,
г. Пермь, Россия, yulianechaeva@mail.ru

©**Пришнивская Я. В.**, ORCID: 0000-0003-1513-2682,
Пермский государственный национальный исследовательский университет,
г. Пермь, Россия, yana_prishnivskaya@mail.ru

©**Чертов Н. В.**, Пермский государственный национальный исследовательский университет,
г. Пермь, Россия, super.gall@mail.ru

©**Жуланов А. А.**, Пермский государственный национальный исследовательский
университет, г. Пермь, Россия, aumakua.ru@gmail.com

**ANALYSIS OF GENETIC DIVERSITY AND STRUCTURE OF URALS POPULATIONS
OF WESTERN RACE OF SIBERIAN LARCH (*LARIX SIBIRICA* LEDEB.) BASED ON
INTERMICROSATELLITE MARKERS POLYMORPHISM**

©**Vasileva Yu.**, ORCID: 0000-0002-2255-2434, Ph.D.,
Perm State University, Perm, Russia, yulianechaeva@mail.ru

©**Prishnivskaya Ya.**, ORCID: 0000-0003-1513-2682, Perm State University,
Perm, Russia, yana_prishnivskaya@mail.ru

©**Chertov N.**, Perm State University, Perm, Russia, super.gall@mail.ru

©**Zhulanov A.**, Perm State University, Perm, Russia, aumakua.ru@gmail.com

Аннотация. Сохранение генетического разнообразия вида возможно только при условии сохранения генофонда его популяций. Особенно важны исследования закономерностей распределения генетической изменчивости для видов, занимающих обширные ареалы и имеющих хозяйственное значение, таких как виды рода *Larix* Mill. Целью данного исследования является анализ генетического разнообразия и структуры некоторых популяций *L. sibirica* Урала на основе полиморфизма межмикросателлитных маркеров. С использованием ISSR-маркеров проведен анализ генетического разнообразия и структуры 6 природных популяций лиственницы сибирской *L. sibirica* на Урале. В результате анализа выявлено 120 ISSR-маркеров, из которых 116 были полиморфными ($P_{95}=0,967$). Определены основные параметры генетического разнообразия популяций и показано, что уральские популяции лиственницы сибирской характеризуются более высоким генетическим разнообразием. При этом самые высокие показатели генетического разнообразия отмечены в популяции VSN ($P_{95}=0,923$; $HE=0,236$; $ne=1,388$), а наименее разнообразной по всем показателям оказалась популяция ISH ($P_{95}=0,826$; $HE=0,191$; $ne=1,321$). Изученные популяции *L. sibirica* Урала в значительной степени дифференцированы, большая часть всего наблюдаемого генетического разнообразия сосредоточена внутри популяций. Структура популяций в целом близка, но не в полной мере отражает географическое расположение

изученных популяций. Полученные данные свидетельствуют о существовании генетически дифференцированных популяций и их групп у *L. sibirica* в регионе исследования, и будут важны для разработки эффективной стратегии сохранения и воспроизводства ценных древесных видов растений.

Abstract. The preservation of the genetic diversity of a species is possible only if the gene pool of its populations is preserved. Particularly important are studies of patterns of distribution of genetic variability for species that occupy vast areas and are of economic importance, such as species of the genus *Larix* Mill. The purpose of this study is to analyze the genetic diversity and structure of some populations of *L. sibirica* of Ural based on intermicrosatellite polymorphism. Using the ISSR markers, the genetic diversity and structure of 6 natural populations of Siberian larch *L. sibirica* in the Urals were analyzed. The analysis revealed 120 ISSR markers, of which 116 were polymorphic ($P_{95}=0.967$). The main parameters of the genetic diversity of populations were determined and it was shown that the Ural populations of Siberian larch are characterized by a higher genetic diversity. At the same time, the highest rates of genetic diversity were found in the VSN population ($P_{95}=0.923$; $HE=0.236$; $ne=1.388$), while the ISH population was the least diverse in all indicators ($P_{95}=0.826$; $HE=0.191$; $ne=1.321$). The studied populations of *L. sibirica* of the Urals are largely differentiated, most of the entire observed genetic diversity is concentrated within populations. The structure of populations is generally close but does not fully reflect the geographical location of the studied populations. The findings suggest the existence of genetically differentiated populations and their groups in *L. sibirica* in the study region and will be important for the development of an effective strategy for the conservation and reproduction of valuable tree species of plants.

Ключевые слова: генетическое разнообразие, генетическая структура, ISSR-маркеры, Урал, *Larix sibirica*.

Keywords: genetic diversity, genetic structure, ISSR markers, Ural, *Larix sibirica*.

Введение

Для сохранения и рационального использования лесных ресурсов необходимо глубокое изучение их генофондов. Сведения о популяционно-генетической структуре лесных древесных растений являются основой оценки их внутривидового генетического потенциала и разработки комплекса мероприятий по сохранению генетических ресурсов видов в процессе их использования и воспроизводства [1]. Сохранение генетического разнообразия вида и его структурной организации возможно только при условии сохранения генофонда каждой популяции [2]. Однако, популяционный подход остается наименее разработанным в области сохранения генетических ресурсов древесных растений [1]. Особенно важны исследования закономерностей распределения генетической изменчивости для видов, занимающих обширные ареалы и имеющих хозяйственное значение [3]. Одними из инструментов изучения генетических процессов являются молекулярно-генетические маркеры. Особенно большое значение их использование приобретает у лесообразующих видов хвойных растений, которые обладают большим периодом онтогенеза, что затрудняет применение традиционных генетических методов [4]. Одними из ценных и широко распространенных хвойных видов растений России являются виды рода *Larix* Mill., имеющие огромное экологическое и экономическое значение. Популяционно-генетическими исследованиями с применением изоферментных маркеров в первую очередь были охвачены наиболее распространенные лесообразующие хвойные виды растений, в том числе

лиственница сибирская (*Larix sibirica* Ledeb.). За последние три десятилетия с помощью изоферментных и других типов маркеров накоплен обширный материал о структуре, генетическом разнообразии, внутри- и межвидовой дифференциации популяций большого числа различных видов и гибридных комплексов лиственниц в основном Азиатской России [5-9]. Данные исследования показывают, что большинство видов лиственницы в целом имеют достаточно близкие к другим хвойным видам показатели генетического полиморфизма, хотя довольно часто наблюдается более низкий уровень генетической изменчивости природных популяций лиственниц при достаточно высокой степени их дифференциации [9].

На Урале род *Larix* представлен западной расой лиственницы сибирской (*L. sibirica* L.) [10], которую Н. В. Дылис [11] выделил как лиственницу Сукачева (*L. sukaczewii* Dyl.). Генетическая изменчивость природных популяций лиственницы в этой части ареала вида изучена В. П. Путенихиным и З. Х. Шигаповым, с соавторами [9, 12] с использованием изоферментных маркеров, а также на Приполярном Урале и на восточном макро-склоне Уральских гор В. Л. Семериковым с соавторами [8, 10] с использованием изоферментных, митохондриальных, хлоропластных, AFLP-маркеров и выявления нуклеотидного полиморфизма некоторых потенциально адаптивно-значимых генов. По данным многолетних исследований на Урале ярко выражена фрагментарность насаждений лиственницы. Кроме того, в данном регионе располагается «безлиственничный язык» западного макро-склона Уральских гор [11]. Вместе с тем, в выделенной В. П. Путенихиным с соавторами [8] в качестве «пермско-камской предуральской» популяции, отмечен наиболее высокий уровень разнообразия вида на Урале, установленный с помощью комплекса данных морфологического и изоферментного анализов. Кроме того, район исследований характеризуется неоднородностью и разнообразием экологических условий: рельефа, климата, почв, гидрологических и геоморфологических особенностей, как в широтном отношении: от северо- и среднетаежных темнохвойных горных лесов в пределах Северного Урала до широколиственно-елово-пихтовых лесов и островной Кунгурской лесостепи на Южном Урале, так и по высотному профилю Уральского региона: от долин рек на Предуральской равнине до верхней границы лесов на склонах Уральских хребтов. Характерной особенностью района исследований является также выраженная высотная поясность.

Несмотря на большой научный интерес к видам рода *Larix*, состояние генетических ресурсов *L. sibirica* на Урале, в особенности его западном макро-склоне, с использованием ДНК-маркеров изучено недостаточно. Произрастание в суровых и многообразных условиях Уральских гор, островной характер и высокое генетическое разнообразие по данным изоферментных маркеров популяций лиственницы сибирской на Урале определяют их уникальность и большую значимость для популяционно-генетических исследований вида. В связи с этим, результаты данного исследования могут быть перспективны для разработки и оптимизации методики оценки состояния генофондов бореальных хвойных видов растений, что является актуальной задачей для сохранения популяций лесных древесных видов, продуктивных и устойчивых к действию различных факторов среды.

Таким образом, целью данного исследования является анализ генетического разнообразия и структуры некоторых популяций *L. sibirica* Урала на основе полиморфизма межмикросателлитных маркеров.

Материал и методика

В качестве объектов исследования избраны 6 природных популяций *L. sibirica*, произрастающих на Северном, Среднем и Южном Урале. Две популяции Северного Урала расположены в заповеднике «Вишерский» в горнолесном поясе западного склона Уральских

гор (ISH) и в верховьях р. Кама на территории северной темнохвойной тайги близ поселка Гайны (GN). В Среднеуральском регионе популяция располагается на юго-восточном склоне горы Качканар (KCH). Другие три популяции произрастают на Южном Урале: IRM — на территории светлохвойных лиственничных горных лесов в районе массива горы Большой Ирмель, KRB — в широколиственно темнохвойных горных лесах в окрестностях г. Карабаш, VSN — вблизи с. Верхняя Санарка. Для молекулярно-генетического анализа в каждой популяции была собрана хвоя с 28-32 деревьев примерно одного возраста, расстояние между деревьями составляло не менее 80 м (Таблица 1).

Для выделения ДНК использовали СТАВ-метод [13], модифицированный добавлением в качестве сорбента PVPP (polyvinylpolypyrrolidone). Навеска растительного материала составляла 20 мг. Концентрацию и спектральную характеристику ДНК определяли на приборе SpectrofotometrMNanoDrop2000 (Thermo scientific, США).

Таблица 1.

ИЗУЧЕННЫЕ ПОПУЛЯЦИИ *L. sibirica*

Обозначение популяции	Географическая привязка	Субъект РФ	Количество проб, шт
ISH	Заповедник «Вишерский», юго-западный склон горы Ишерим	Пермский край	30
GN	Верховья р. Кама, 50 км на северо-запад от поселка Гайны	Пермский край	30
KCH	Юго-восточный склон горы Качканар, 34 км юго-восток от г. Качканар	Свердловская область	30
KRB	Карабашский район, в 25 км на северо-запад от г. Карабаш,	Челябинская область	32
IRM	Гора Большой Ирмель, 12 км на северо-запад от с. Тюлюк	Челябинская область	28
VSN	Пластовский район, в 26 км к юго-западу от г. Пласт, с. Верхняя Санарка	Челябинская область	30

Для проведения ПЦР концентрацию ДНК каждой пробы выравняли до 10 нг/мкл. Молекулярно-генетический анализ проведен с использованием ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) метода анализа полиморфизма ДНК [14] с использованием последовательностей 5 ISSR-праймеров (Таблица 2), наиболее эффективных в геноме данного вида по результатам предыдущих исследований [15].

Таблица 2.

ХАРАКТЕРИСТИКА ISSR-ПРАЙМЕРОВ

Праймер	Нуклеотидная последовательность, (5'→3')	T _{отж} , °C
CR-215	ctc-tct-ctc-tct-ctc-ttg	56
ISSR-8	gag-gag-gag-gag-gag-gag-c	56
X10	agc-agc-agc-agc-agc-agc-c	64
X11	agc-agc-agc-agc-agc-agc-g	64
M3	aca-cac-aca-cac-aca-cct	54

Примечание: T_{отж} — температура отжига праймера.

Реакционная смесь объемом 25 мкл для полимеразной цепной реакции содержала: 2 единицы Tag-полимеразы; 2,5 мкл стандартного 10x буфера для ПЦР; 2,5 mM MgCl₂ («Силекс М», Россия); 0,25 mM dNTP (Fermentas, Литва); 25 пМ праймера («Синтол», Россия); 5 мкл тотальной ДНК. В качестве отрицательного контроля (К-) в реакционную

смесь для проверки чистоты реактивов добавляли вместо ДНК 5 мкл деионизированной воды. Амплификацию ДНК проводили в термоциклере GeneAmp PCRSystem 9700 (Applied Biosystems, США) по стандартной для ISSR-PCR метода программе: предварительная денатурация 94°C, 2 мин.; первые пять циклов 94 °С, 20 сек.; t° отжига, 10 сек.; 72 °С, 10 сек.; в последующих тридцати пяти циклах 94 °С, 5 сек.; t° отж., 5 сек.; 72 °С, 5 сек. Последний цикл элонгации длился 2 мин при 72 °С. Продукты амплификации разделяли электрофорезом в 1,7% агарозном геле в 1× TBE буфере, окрашивали бромистым этидием и фотографировали в проходящем ультрафиолетовом свете в системе гель-документации GelDoc XR (Bio-Rad, США). Для определения длин фрагментов ДНК использовали маркер молекулярного веса (100 bp +1,5 + 3 Kb DNA Ladder, ООО «СибЭнзим-М», Москва) и программу Quantity One (Bio-Rad, США). Всего проанализирована полиморфизм 885 ПЦР-проб. Для проверки достоверности полученных результатов ПЦР и электрофорез повторяли не менее трех раз. Для количественной оценки генетического разнообразия данные молекулярно-генетического анализа были представлены в виде матрицы бинарных признаков. Компьютерный анализ полиморфизма ДНК проводили с помощью компьютерных программ POPGENE 1.31 [16] и специализированного макроса GenAlEx6 для MS-Excel с определением доли (P95) полиморфных локусов, абсолютного (na) числа аллелей, эффективного (ne) числа аллелей, ожидаемой (HE) гетерозиготности [17]. Для описания генетической структуры изученных популяций были использованы следующие параметры [18]: ожидаемая доля гетерозиготных генотипов (HT) во всей популяции, как мера общего генного разнообразия; ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в субпопуляции (HS), как мера ее внутривидового разнообразия; доля межпопуляционного генетического разнообразия в общем разнообразии (GST), а так же пакет AMOVA (Analysis of Molecular Variance) с вычислением показателя подразделенности популяций (ФРТ) при использовании 1000 раундов премутаций [19]. На основе матрицы бинарных признаков была рассчитана матрица генетических (DN) расстояний [20] и невзвешенным парно-групповым методом (UPGMA – Unweighed Pair-group Method Using Arithmetic Average) построена дендрограмма, отражающая степень сходства исследуемых популяций по ISSR-PCR спектрам при помощи компьютерных программ Treecop 1.3b и POPGENE 1.31. Статистическая обработка полученных данных проведена с использованием стандартных для популяционно-генетических исследований методов [21], программ MS-Excel и STATISTICA 12.0.

Результаты и их обсуждение

Анализ ISSR-спектров 6 популяций *L. sibirica* выявил 120 ISSR-маркеров, из которых 116 были полиморфными (P95=0,967). В среднем один ISSR-праймер инициировал у *L. sibirica* синтез 18,5 фрагментов ДНК (Рисунок 1).

Число амплифицированных фрагментов ДНК варьировало в зависимости от праймера от 11 до 30, а их размеры — от 170 до 1530 пн. Наибольшее число локусов выявил праймер X11, а наименьшее — праймер CR-215. Число полиморфных локусов, выявляемое праймерами варьировало от 7 (с праймером CR-215) до 29 (с праймером X10). Доля полиморфных локусов оказалась наибольшей в популяции VSN (P95=0,923), а наименьшей (P95=0,806) — в популяции KCH (Таблица 3). Самой распространенной мерой генетической изменчивости в популяции является гетерозиготность. Ожидаемая гетерозиготность (HE) на общую выборку составила 0,217. Самое высокое значение этого показателя установлено в популяции IRM (HE = 0,240), а самое низкое — в популяции KRB (HE = 0,189). В изученных популяциях абсолютное число аллелей (na) в общей выборке составило 1,465. Значения этого показателя выше в популяции VSN (na=1,658), а ниже в популяции ISH (Таблица 4).

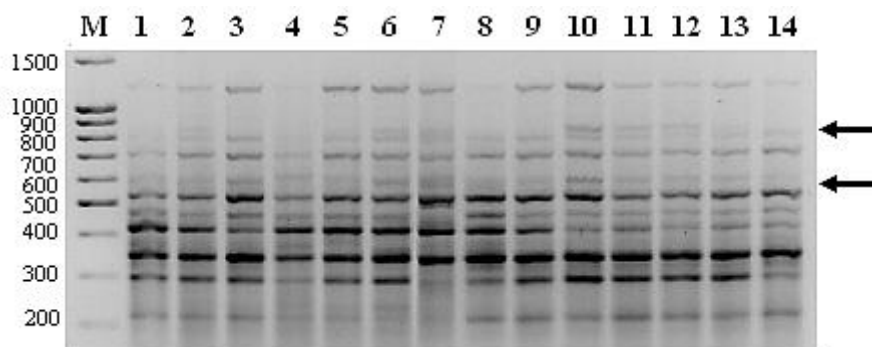


Рисунок 1. ISSR-спектр *L. sibirica* с праймером X10: М — маркер молекулярного веса, 1-14 — номера проб ДНК, стрелками обозначены некоторые полиморфные фрагменты.

Таблица 3.

ХАРАКТЕРИСТИКА АМПЛИФИЦИРОВАННЫХ ISSR-МАРКЕРОВ
 В ИЗУЧЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ *L. sibirica*

ISSR-праймеры	Длина, пп	Число ISSR-маркеров в популяциях						На общую выборку	
		ISH	GN	KCH	KRB	IRM	VSN	N	P
		P	P	P	P	P	P		
CR-215	1000-200	12	7	12	10	11	11	17	15
IS8	800-210	11	8	9	11	9	13	17	16
X10	1530-180	13	19	11	21	27	29	30	30
X11	1370-170	23	28	29	17	28	27	32	32
M3	900-190	17	16	14	19	11	16	24	23
Всего	1530-170	76 (0,826)	78 (0,867)	75 (0,806)	78 (0,857)	86 (0,896)	96 (0,923)	120	116 (0,967)

Примечание: N — число выявленных ISSR-маркеров; P — число полиморфных ISSR-маркеров; в скобках указана доля полиморфных локусов.

Таблица 4.

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ИЗУЧЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ *L. sibirica*

Популяции/	ISH	GN	KCH	KRB	IRM	VSN	На общую
P95	0,826	0,867	0,867	0,857	0,896	0,923	0,967
HE	0,191	0,228	0,218	0,189	0,240	0,236	0,217
na	1,392	1,400	1,400	1,408	1,533	1,658	1,465
ne	1,321	1,393	1,369	1,311	1,408	1,388	1,365

Примечание: P95 — доля полиморфных локусов, HE — ожидаемая гетерозиготность на — абсолютное число аллелей на локус; ne — эффективное число аллелей на локус, в скобках даны стандартные отклонения

Эффективное число аллелей (ne) является функцией от доли полиморфных локусов, числа аллелей на локус и выравнивания частот аллелей и, таким образом, является мерой генетического разнообразия популяции или вида. Этот показатель оценивает величину, обратную гетерозиготности. Эффективное число аллелей оказалось наибольшим в популяции IRM (ne = 1,408), а ниже в популяции KRB (ne = 1,311) и на общую выборку составляет 1,365 (Таблица 4).

Анализ генетической структуры изученных популяций *L. sibirica* показал, что ожидаемая доля гетерозиготных генотипов (HT) на общую выборку составила 0,304; а ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в отдельной популяции по всем локусам (HS) равна 0,217. Коэффициент подразделенности популяций показывает, что на

межпопуляционную компоненту приходится 28,7% всего генетического разнообразия ($GST = 0,287$), наиболее сильно популяции дифференцированы по локусам, выявляемым праймером CR-215 (Таблица 5).

Таблица 5.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ИЗУЧЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ *L. sibirica*

ISSR-праймер	HT	HS	GST
CR-215	0,261 (0,028)	0,158 (0,011)	0,39
ISSR-8	0,284 (0,032)	0,194 (0,019)	0,31
M3	0,322 (0,026)	0,203 (0,014)	0,37
X10	0,220 (0,018)	0,178 (0,012)	0,19
X11	0,283 (0,018)	0,218 (0,008)	0,22
На общую выборку	0,304 (0,024)	0,217 (0,014)	0,28

Примечание: HT — общего генное разнообразие; HS — внутривидовое разнообразие; GST — показатель подразделенности популяций; в скобках даны стандартные отклонения

Наименьшее генетическое расстояние по Нею (D) отмечено между популяциями ISH и KCH ($D=0,039$), а наибольшее — между популяциями KRB и KCH ($D=0,230$). Данные значения не в полной мере, но отчасти согласуются с географическими расстояниями между изученными популяциями (Таблица 6)

Таблица 6.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ГЕОГРАФИЧЕСКИЕ ДИСТАНЦИИ
 МЕЖДУ ИЗУЧЕННЫМИ ПОПУЛЯЦИЯМИ *L. sibirica*

Популяция	ISH	GN	KCH	KRB	IRM	VSN
ISH	-	270	266	630	730	670
GN	0,081	-	640	700	700	650
KCH	0,039	0,088	-	370	470	400
KRB	0,229	0,172	0,230	-	140	90
IRM	0,216	0,167	0,224	0,078	-	80
VSN	0,193	0,132	0,198	0,084	0,046	-

Примечание: над диагональю — географические дистанции (в км), под диагональю — генетические и дистанции по Нею

На дендрограмме изученные популяции сформировали 2 кластера. В первый кластер вошли Северо- и Среднеуральские популяции (ISH, GN, KCH); в кластер 2 объединились популяции Южного Урала (KRB, IRM, VSN). Узлы ветвления имеют высокий индекс бутстрепа (>50%), что говорит о достоверности межпопуляционных и межкластерных различий (Рисунок 2).

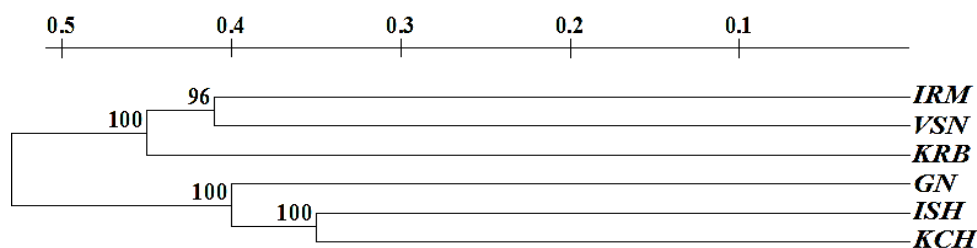


Рисунок 2. UPGMA-дендрограмма генетического сходства десяти изученных популяций *L. sibirica*, построенная на основании полиморфизма ISSR-маркеров. Шкала сверху — генетические расстояния; в узлах ветвления указаны значения бутстрепа (в %)

При сопоставлении полученных показателей генетического разнообразия с отмеченными в литературе изученные популяции лиственницы сибирской Урала характеризуются высокими значениями показателей генетического разнообразия по сравнению с популяциями этого и других видов рода *Larix*, произрастающими в других регионах страны. И. Ю. Адриановой [22] при исследовании RAPD-методом популяций лиственниц Камчатки, Сахалина и Курил выявлены следующие показатели генетического разнообразия: $h = 1,407$; $HE = 0,172$, $P95 = 0,430$, а у лиственницы сибирской тем же методом установлены: $HE = 0,170$; $P95 = 0,450$ [23]. С использованием ISSR-маркеров у *L. sibirica*, произрастающей на юге Красноярского края установлено, что 91,3% локусов были полиморфными [24]. Подобные заключения сделаны и В. П. Путенихиным с соавторами [9] на основании изоферментного анализа популяций лиственницы Сукачева на Урале. Некоторыми из причин этого являются увеличение размеров популяций в северной части уральского ареала лиственницы, а также многообразие экологических условий произрастания и история формирования лиственничных лесов Урала. Из 6 изученных популяций самые высокие показатели генетического разнообразия отмечены в популяции VSN ($P95 = 0,923$; $HE = 0,236$; $ne = 1,388$), а самые низкие – в популяции ISH ($P95 = 0,826$; $HE = 0,191$; $ne = 1,321$). Низкие значения показателей генетического разнообразия в популяции ISH среди остальных исследованных популяций, возможно, связаны с ее изолированностью и расположением на ограниченной территории в пределах нескольких склонов горы Ишерим Северного Урала. По литературным данным для видов рода *Larix* характерна достаточно высокая степень дифференциации [9]. У дальневосточных видов рода *Larix* [25] cpSSR-маркеры выявили высокую степень дифференциации ($GST = 0,144$), что, по мнению авторов, доказывает наличие изоляции расстоянием: Верхоянский хребет в прошлом представлял собой барьер для потока генов, определивший генетическую обособленность лиственниц северо-востока Азии. Так же высокие значения имела дифференциация, выявленная с использованием RAPD-маркеров [22], у популяций лиственниц Сахалина ($GST = 0,240$) и Камчатки ($GST = 0,250$). На Урале по данным изоферментного анализа [9] у лиственницы Сукачева выявлена средняя степень популяционной генетической дифференциации ($FST = 0,061$). По мнению авторов, на межпопуляционную генетическую дифференциацию лиственницы в разнообразных лесорастительных условиях Урала оказывает влияние комплекс таких факторов, как изоляция и естественный отбор. Пространственно-генетическая структура популяций так же во многом определяется историей формирования ареала вида. Полученные в нашем исследовании оценки генетической дифференциации достаточно высоки ($GST = 0,287$), но согласуются с таковыми для других видов рода *Larix* [22, 25, 26].

Выводы

Таким образом, в изученных популяциях *L. sibirica* установлен высокий уровень генетического разнообразия, при сравнении с показателями генетического разнообразия, приведенными в литературе обнаружено, что уральские популяции лиственницы сибирской, в целом характеризуются более высоким генетическим разнообразием. При этом самые высокие показатели генетического разнообразия отмечены в популяции VSN ($P95 = 0,923$; $HE = 0,236$; $ne = 1,388$), а наименее разнообразной по всем показателям оказалась популяция ISH ($P95 = 0,826$; $HE = 0,191$; $ne = 1,321$). Изученные популяции *L. sibirica* Урала в значительной степени дифференцированы, большая часть всего наблюдаемого генетического разнообразия сосредоточена внутри популяций. Структура популяций в целом близка, но не в полной мере отражает географическое расположение изученных популяций. На дендрограмме изученные популяции сформировали 2 кластера: в первый кластер вошли

Северо- и Среднеуральские популяции, во второй – Южноуральские. Полученные данные свидетельствуют о существовании генетически дифференцированных популяций и их групп у *L. sibirica* в регионе исследования.

Проведенный анализ генетического разнообразия и структуры популяций западной расы лиственницы сибирской Урала на основании полиморфизма межмикросателлитных маркеров позволил установить основные параметры генетического разнообразия и выявить генетическую структуру некоторых популяций данного вида в регионе, что в свою очередь необходимо для разработки эффективной стратегии сохранения и воспроизводства ценных древесных видов растений. На основе оценки характера изменчивости и популяционной структуры можно наметить общие пути сохранения генофонда вида в регионе на популяционной основе, отобрать локальные популяций для сохранения и воспроизводства вида.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00348\18.

Список литературы:

1. Янбаев Ю. А. Эколого-популяционные аспекты адаптации лесообразующих видов к условиям природной и техногенной среды: автореф. дисс. ... док. биол. наук. Тольятти: ИЭВБ РАН, 2002. 35 с.
2. Путенихин В. П. Популяционная структура и сохранение генофонда хвойных видов на Урале: автореф. дис. ... докт. биол. наук. Красноярск: Ин-т леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, 2000. 48 с.
3. Петрова Е. А., Горошкевич С. Н., Белоконь М. М. Генетическое разнообразие кедра сибирского *Pinus sibirica* Du Tour: распределение вдоль широтного и долготного профилей // Генетика. 2014. Т. 50. №5. С. 538-553.
4. Орешкова Н. В., Белоконь М. М., Жамъянсурен С. Генетическое разнообразие, популяционная структура и дифференциация лиственниц сибирской, Гмелина и Каяндера по данным SSR-маркеров // Генетика. 2013. Т. 49. №2. С.204-213.
5. Биоразнообразие лиственниц Азиатской России /под ред. Л.И. Милютина, С.П. Ефремова. Новосибирск: Гео, 2010. 159 с.
6. Ларионова А. Я., Яхнева Н. В., Абаимов А. П. Генетическое разнообразие и дифференциация популяций лиственницы Гмелина в Эвенкии (Средняя Сибирь // Генетика. 2004. Т. 40. № 10. С. 1370-1377.
7. Орешкова Н. В. Генетическая дифференциация сибирских видов лиственниц по данным изоферментного анализа // Растительный мир Азиатской России. 2012. № 2(10). С. 33-42.
8. Семериков В. Л., Семерикова С. А., Полежаева М. А. Нуклеотидное разнообразие и неравновесие по сцеплению потенциально адаптивно значимых генов *Larix sibirica* // Генетика. 2013. Т. 49. № 9. С. 1055-1064
9. Путенихин В. П., Фарукшина Г. Г., Шигапов З. Х. Лиственница Сукачева на Урале: изменчивость и популяционно-генетическая структура. М.: Наука, 2004. 276 с.
10. Семериков В. Л., Ирошников А. И., Ласко М. Структура изменчивости митохондриальной ДНК и послеледниковая история лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) // Экология. 2007. № 3. С. 163-171.
11. Дылис Н. В. Сибирская лиственница. Материалы к систематике, географии и истории. М.: Изд-во МОИП, 1947. 137 с.

12. Шигапов З. Х., Шигапова А. И., Уразбахтина К. А. Генетическая изменчивость и популяционная структура лиственницы Сукачева на Урале // Вестник ОГУ. 2009. № 6. С. 438-440.
13. Rogers S. O., Bendich A. J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // Plant Molecular Biology. 1985. Vol. 5. N 2. P. 69-76.
14. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification // Genomics. 1994. Vol. 20. P. 176-183.
15. Нечаева Ю.С. Молекулярно-генетический анализ природных популяций западной расы *Larix sibirica* Ledeb. (*Larix sukaczewii* Dyl.) на Среднем и Северном Урале: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Уфа: Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, 2015. 28 с.
16. Yeh F. C., Young R. C., Mao J. POPGENE, the Microsoft Windows-based user-friendly software for population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. Department of Edmonton. Alta: Renewable Resources, Univ. of Alberta, 1999. 238 p.
17. Nei M. Molecular evolutionary genetics. New York: Columbia University Press, 1987. 512 p.
18. Nei M. Analysis of Gene Diversity in Subdivided Populations // Proceedings of the National Academy of Sciences. 1973. Vol. 70. N 12. P. 3321-3323.
19. Assoumane A., Zoubeirou A. M., Rodier-Goud M., Favreau B., Bezançon G., Verhaegen D. Highlighting the occurrence of tetraploidy in *Acacia senegal* (L.) Willd. and genetic variation patterns in its natural range revealed by DNA microsatellite markers // Tree Genetics & Genomes. 2013. Vol. 9. N. 1. P. 93-106.
20. Nei M., Li W. H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases // Proceedings of the National Academy of Sciences. 1979. Vol. 76. No. 10. P. 5269-5273.
21. Животовский Л. А. Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991. 271с.
22. Адрианова И. Ю. Генетическая изменчивость и дифференциация лиственниц Камчатки, Сахалина и Курил // Сибирский лесной журнал. 2014. № 4. С. 110-116.
23. Абаимов А.П., Журавлев Ю.Н., Муратова Е.Н. и др. Популяционно-генетический анализ лиственниц Сибири и Дальнего Востока // Структурно-функциональная организация и динамика лесов: материалы всерос. науч. конф. Красноярск: Изд-во Сибирский федеральный ун-т, 2004. С. 294-296.
24. Лисина А. Н. Генетическая изменчивость популяций лиственницы сибирской на основе данных ISSR-PCR анализа // Молодежь и наука: сборник материалов IX Всероссийской научно-технической конференции Красноярск: Сибирский федеральный ун-т, 2013. URL: <http://conf.sfu-kras.ru/sites/mn2013/section093.html> (дата обращения: 16.03.18).
25. Полежаева М. А., Семериков В.Л. Генетическая изменчивость cpSSR маркеров в роде *Larix* на Дальнем Востоке // Вестник СВНЦ ДВО РАН. 2009. №2. С. 75-83.
26. Zhang L., Zhang H.G., Li X.F. Analysis of genetic diversity in *Larix gmelinii* (Pinaceae) with RAPD and ISSR markers // Genet. Mol. Res. 2013. No 12 (1). P. 196-207.

References:

1. Yanbaev, Yu. A. (2002). Ekologo-populyatsionnye aspekty adaptatsii lesoobrazuyushchikh vidov k usloviyam prirodnoi i tekhnogennoi sredy: avtoref. diss. ... dok. biol. nauk. Tol'yatti: IEVB RAN, 35.

2. Putenikhin, V. P. (2000). Populyatsionnaya struktura i sokhranenie genofonda khvoynykh vidov na Urale: avtoref. dis. ... dokt. biol. nauk. Krasnoyarsk: In-t lesa im. V. N. Sukacheva SO RAN, 48.
3. Petrova, E. A., Goroshkevich, S. N., Belokon, M. M., Belokon, Y. S., & Politov, D. V. (2014). Distribution of the genetic diversity of the Siberian stone pine, *Pinus sibirica* Du Tour, along the latitudinal and longitudinal profiles. *Russian Journal of Genetics*, 50(5). 467-482.
4. Oreshkova, N. V., Belokon, M. M., & Jamiyansuren, S. (2013). Genetic diversity, population structure, and differentiation of Siberian larch, Gmelin larch, and Cajander larch on SSR-marker data. *Russian Journal of Genetics*, 49(2). 178-186.
5. Bioraznoobrazie listvennits Aziatskoi Rossii. (2010). pod red. L. I. Milyutina, S. P. Efremova. Novosibirsk: Geo, 159.
6. Larionova, A. Ya., Yakhneva, N. V., & Abaimov, A. P. (2004). Genetic diversity and differentiation of Gmelin Larch *Larix gmelinii* populations from Evenkia (Central Siberia). *Russian Journal of Genetics*, 40(10). 1127-1133.
7. Oreshkova, N. V. (2012). Genetic differentiation of siberian larch species based on isozyme analysis data. *Plant Life of Asian Russia*, 2(10). 33-42.
8. Semerikov, V. L., Semerikova, S. A., & Polezhaeva, M. A. (2013). Nucleotide diversity and linkage disequilibrium of adaptive significant genes in *Larix* (Pinaceae). *Russian Journal of Genetics*. 49(9). 915-923.
9. Putenikhin, V. P., Farukshina, G. G., & Shigapov, Z. Kh. (2004). Listvennitsa Sukacheva na Urale: izmenchivost' i populyatsionno-geneticheskaya struktura. Moscow. Nauka, 276.
10. Semerikov, V. L., Iroshnikov, A. I., & Lascoux, M. (2007). Mitochondrial DNA variation pattern and postglacial history of the Siberian larch (*Larix sibirica* Ledeb.). *Russian Journal of Ecology*, 38(3). 147-154.
11. Dylis, N. V. (1947). *Sibirskaya listvennitsa. Materialy k sistematike, geografii i istorii.* Moscow. Izd-vo MOIP, 137.
12. Shigapov, Z. Kh., Shigapova, A. I., & Urazbakhina, K. A. (2009). Genetic changeableness and population structure of Sukachev's larch on Ural region. *Vestnik of the Orenburg State University*, (6). 438-440.
13. Rogers, S. O., & Bendich, A. J. (1985). Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues. *Plant molecular biology*, 5(2), 69-76.
14. Zietkiewicz, E., Rafalski, A., & Labuda, D. (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20(2), 176-183.
15. Nechaeva Yu.S. Molekulyarno-geneticheskii analiz prirodnykh populyatsii zapadnoi rasy *Larix sibirica* Ledeb. (*Larix sukaczewii* Dyl.) na Srednem i Severnom Urale: avtoref. diss. ... kand. biol. nauk. Ufa: Institut biokhimii i genetiki Ufinskogo nauchnogo tsentra RAN, 2015. 28.
16. Yeh, F. C., Young, R. C., Mao, J. (1999). POPGENE, the Microsoft Windows-based user-friendly software for population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. Department of Edmonton. Alta: Renewable Resources, Univ. of Alberta, 238.
17. Nei M. *Molecular evolutionary genetics.* New York: Columbia University Press, 1987. 512 p.
18. Nei, M. (1973). Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 70(12), 3321-3323.
19. Assoumane, A., Zoubeirou, A. M., Rodier-Goud, M., Favreau, B., Bezançon, G., & Verhaegen, D. (2013). Highlighting the occurrence of tetraploidy in *Acacia senegal* (L.) Willd. and

genetic variation patterns in its natural range revealed by DNA microsatellite markers. *Tree Genetics & Genomes*, 9(1), 93-106.

20. Nei, M., & Li, W. H. (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 76(10), 5269-5273.

21. Zhivotovskii, L. A. (1991). *Populyatsionnaya biometriya*. Moscow. Nauka, 271s.

22. Adrianova, Yu. (2014). Genetic Variability and Differentiation of the Kamchatka, Sakhalin and Kuril Islands' Larches I. *Siberian Journal of Forest Science*, № 4. С. 110-116.

23. Abaimov, A. P., Zhuravlev, Yu. N., & Muratova, E. N. (2004). *Populyatsionno-geneticheskii analiz listvennits Sibiri i Dal'nego Vostoka. Strukturno-funktsional'naya organizatsiya i dinamika lesov: materialy vseros. nauch. konf. Krasnoyarsk: Izd-vo Sibirskii federal'nyi un-t*, 294-296.

24. Lisina, A. N. (2013). Geneticheskaya izmenchivost' populyatsii listvennitsy sibirskoi na osnove dannykh ISSR-PCR analiza // *Molodezh' i nauka: sbornik materialov IKh Vserossiiskoi nauchno-tekhnikeskoi konferentsii Krasnoyarsk: Sibirskii federal'nyi un-t*, URL: <http://conf.sfu-kras.ru/sites/mn2013/section093.html> (data obrashcheniya: 16.03.18).

25. Polezhaeva, M. A., & Semerikov, V. L. (2009). Genetic Diversity of cpSSR loci in *Larix* Genus over the Far East Areas. *Bulletin of the North-East Scientific Center, Russia Academy of Sciences Far East Branch*, (2). 75-83.

26. Zhang, L., Zhang, H. G., & Li, X. F. (2013). Analysis of genetic diversity in *Larix gmelinii* (Pinaceae) with RAPD and ISSR markers. *Genetics and molecular research: GMR*, 12(1), 196-207.

Работа поступила
в редакцию 24.11.2018 г.

Принята к публикации
27.11.2018 г.

Ссылка для цитирования:

Васильева Ю. С., Пришневская Я. В., Чертов Н. В., Жуланов А. А. Анализ генетического разнообразия и структуры популяций западной расы лиственницы сибирской *Larix sibirica* Ledeb. Урала на основе полиморфизма межмикросателлитных маркеров // *Бюллетень науки и практики*. 2018. Т. 4. №12. С. 113-124. Режим доступа: <http://www.bulletennauki.com/12-14> (дата обращения 15.12.2018).

Cite as (APA):

Vasileva, Yu., Prishnivskaya, Ya., Chertov, N., & Zhulanov, A. (2018). Analysis of genetic diversity and structure of Urals populations of Western Race of Siberian larch (*Larix sibirica* Ledeb.) based on intermicrosatellite markers polymorphism. *Bulletin of Science and Practice*, 4(12), 113-124. (in Russian).