

УДК 575.2:575.22:574.3
AGRIS F30

https://doi.org/10.33619/2414-2948/65/01

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОПУЛЯЦИЙ *PINUS SYLVESTRIS* L.
И *PINUS SIBIRICA* DU TOUR В ПЕРМСКОМ КРАЕ НА ОСНОВАНИИ
ПОЛИМОРФИЗМА ISSR-PCR МАРКЕРОВ**

©**Нечаева Ю. И.**, ORCID: 0000-0003-0837-4149, Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия, ulia-2012@mail.ru

©**Пыстогова Н. А.**, ORCID: 0000-0003-4420-880X, Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, n.pystogova9@gmail.com

©**Чертов Н. В.**, ORCID: 0000-0003-0250-220X, Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, super.gall@mail.ru

©**Боронникова С. В.**, ORCID: 0000-0002-5498-8160, д-р биол. наук,
Пермский государственный национальный исследовательский университет,
г. Пермь, Россия, SVBoronnikova@yandex.ru

**MOLECULAR GENETIC ANALYSIS OF *PINUS SYLVESTRIS* L.
AND *PINUS SIBIRICA* DU TOUR POPULATIONS IN PERM KRAI BASED
ON POLYMORPHISM ISSR-PCR MARKERS**

©**Nechaeva Yu.**, ORCID: 0000-0003-0837-4149, Perm State University,
Perm, Russia, ulia-2012@mail.ru

©**Pystogova N.**, ORCID: 0000-0003-4420-880X, Perm State University,
Perm, Russia, n.pystogova9@gmail.com

©**Chertov N.**, ORCID: 0000-0003-0250-220X, Perm State University,
Perm, Russia, super.gall@mail.ru

©**Boronnikova S.**, ORCID: 0000-0002-5498-8160, Dr. habil., Perm State University,
Perm, Russia, SVBoronnikova@yandex.ru

Аннотация. Изучен полиморфизм ДНК, определены показатели генетического разнообразия и генетической структуры 3 популяций *Pinus sylvestris* L. и 3 популяций *Pinus sibirica* Du Tour в Пермском крае. В популяциях *P. sibirica* обнаружено 102 ISSR-PCR маркера, из которых 88 были полиморфными ($P_{95} = 0,863$), а в популяциях *P. sylvestris* — 113 ISSR-PCR маркеров, при этом 100 из них являлись полиморфными ($P_{95} = 0,885$). Популяции двух исследуемых видов древесных растений характеризуются высоким генетическим разнообразием. При этом у *P. sibirica* показатели генетического разнообразия оказались незначительно выше ($H_E = 0,195$; $n_e = 1,335$; $n_a = 1,330$), чем у *P. sylvestris* ($H_E = 0,166$; $n_e = 1,268$; $n_a = 1,212$). Анализ генетической структуры показал, что коэффициенты генетической подразделенности (G_{ST}) у двух изученных видов рода *Pinus* близки и составляют 0,320 у *P. sibirica* и 0,303 у *P. sylvestris*. Популяции сосны сибирской и сосны обыкновенной характеризуются средней степенью генетической дифференциации, поскольку на долю межпопуляционной компоненты приходится 32,0% и 30,3% генетического разнообразия этих видов соответственно. С помощью теста Мантел установлена высокая корреляция ($R^2 = 0,6871$) между генетическими и географическими расстояниями у популяций *P. sibirica*. Полученные данные актуальны для сохранения генофондов изученных двух видов рода *Pinus* в Пермском крае.

Abstract. DNA polymorphism has been studied, indicators of genetic diversity and genetic structure of 3 populations of *Pinus sylvestris* L. and 3 populations of *Pinus sibirica* Du Tour in the Perm Krai have been determined. In the populations of *P. sibirica*, 102 ISSR-PCR markers were found, of which 88 were polymorphic ($P_{95} = 0.863$), and in the populations of *P. sylvestris* — 113 ISSR-PCR markers, 100 of which were polymorphic ($P_{95} = 0.885$). The populations of the two studied species of woody plants are characterized by high genetic diversity. At the same time, in *P. sibirica*, the indices of genetic diversity were slightly higher ($H_E = 0.195$; $n_e = 1.335$; $n_a = 1.330$) than in *P. sylvestris* ($H_E = 0.166$; $n_e = 1.268$; $n_a = 1.212$). The analysis of the genetic structure showed that the coefficient of genetic subdivision (G_{ST}) in the two studied species of the genus *Pinus* are similar and amount to 0.320 in *P. sibirica* and 0.303 in *P. sylvestris*. The populations of Siberian pine and Scots pine are characterized by an average degree of genetic differentiation, since the interpopulation component accounts for 32.0% and 30.3% of the genetic diversity of these species, respectively. Using the Mantel test, a high correlation was found between genetic and geographical distances in *P. sibirica* populations ($R^2 = 0.6871$), while *P. sylvestris* showed a low correlation ($R^2 = 0.0649$). The data obtained are relevant for the preservation of the gene pools of the studied two species of the genus *Pinus* in the Perm Krai.

Ключевые слова: генетическое разнообразие, генетическая структура, ISSR-PCR маркеры, *Pinus sylvestris* L., *Pinus sibirica* Du Tour, Пермский край.

Keywords: genetic diversity, genetic structure, ISSR-PCR markers, *Pinus sylvestris* L., *Pinus sibirica* Du Tour, Perm Krai.

Введение

Генетическое разнообразие и внутривидовая дифференциация имеют важное биосферное и ресурсное значение. Для решения современных проблем сохранения и возобновления лесов необходима оценка биоразнообразия лесных экосистем, важным элементом которой является изучение генетического разнообразия популяций основных лесообразующих видов растений [1]. Разработка и обоснование комплекса мероприятий, направленных на максимальное сохранение генетического разнообразия лесообразующих видов в различных условиях должна основываться на данных о генетической структуре и состоянии генофондов их популяций [2].

Сосна сибирская (*Pinus sibirica* Du Tour) и сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.) являются ценными хозяйственными видами, а также одними из основных эдификаторов лесных экосистем бореальной зоны Евразии. Высокая экологическая пластичность и хозяйственная ценность сосны сибирской и сосны обыкновенной давно привлекают внимание генетиков и селекционеров к проблеме изучения, сохранения и воспроизводства генофондов этих видов.

Цель работы — сравнительный анализ генетического разнообразия и генетической структуры популяций *P. sylvestris* и *P. sibirica* в Пермском крае на основании полиморфизма межмикросателлитных маркеров.

Материалы и методы исследований

В качестве объектов для сравнительного анализа генетического разнообразия и генетической структуры избраны популяции двух видов древесных растений (*Pinus*

sylvestris L. и *Pinus sibirica* Du Tour; *Pinaceae*), расположенные в центральной и северной частях Пермского края. Исследованы 3 популяции сосны сибирской (*P. sibirica*), расположенные в Красновишерском лесничестве (*Ps_Kr*), Кочевском лесничестве (*Ps_Kh*) и на территории ФГБУ «Государственный заповедник «Басеги»» (*Ps_Bs*) (Таблица 1). Среди изученных популяций сосны сибирской на наибольшем географическом расстоянии (268 км) находятся популяции *Ps_Kh* и *Ps_Bs*, а на наименьшем — *Ps_Kr* и *Ps_Bs* (176 км). Исследованные три популяции *P. sylvestris* находятся на территории Березниковского лесничества (*Psl_Br*), Закамского лесничества (*Psl_Zc*) и Кишертского (*Psl_Ks*) лесничества (Таблица 1). При этом наиболее географически удаленными являются популяции *Psl_Br* и *Psl_Ks* (260 км), а на наименьшем географическом расстоянии находятся популяции *Psl_Ks* и *Psl_Zc* (105 км).

Таблица 1.

ИЗУЧЕННЫЕ ПОПУЛЯЦИИ *P. SIBIRICA* И *P. SYLVESTRIS*

Обозначение популяций	Расположение популяций	Объем выборки, шт.	Координаты (с. ш.; в. д.)
<i>Ps_Kr</i>	Красновишерский район, Красновишерское лесничество	17	N: 60.11 E: 57.44
<i>Ps_Kh</i>	Кочевский район, Кочевское лесничество	30	N: 59.39 E: 54.39
<i>Ps_Bs</i>	Горнозаводский район, ФГБУ «Государственный заповедник «Басеги», Горнозаводское лесничество	29	N: 58.56 E: 58.30
<i>Psl_Ks</i>	Кишертский район, Кишертское лесничество	28	N:57.08 E:57.23
<i>Psl_Br</i>	г. Березники, Березниковское лесничество	28	N:59.40 E:56.70
<i>Psl_Zc</i>	Пермский район, Закамское лесничество,	28	N:57.96 E:56.16

Примечание: популяции *P. sibirica*: *Ps_Kr* — расположена в Красновишерском лесничестве; *Ps_Kh* — в Кочевском лесничестве; *Ps_Bs* — в Горнозаводском лесничестве; популяции *P. sylvestris*: *Psl_Ks* — из Кишертского лесничества; *Psl_Br* — из Березниковского лесничества; *Psl_Zc* — из Закамского лесничества; с. ш. — северная широта; в. д. — восточная долгота.

Для проведения молекулярно-генетических исследований были собраны образцы хвои в 6 популяциях *P. sibirica* и *P. sylvestris* с 106 деревьев. Сбор образцов осуществлялся со случайно выбранных деревьев, расположенных на расстоянии не менее 100 метром друг от друга. ДНК из хвои выделяли по методике С. Роджерса [3], модифицированной с использованием в качестве сорбента PVPP (polyvinylpolypyrrolidone) [4]. Качество и характеристики ДНК определяли на приборе SpectrofotometrTMNanoDrop 2000 (Thermo scientific, USA). Для оценки генетического разнообразия и генетической структура популяций был применен ISSR- (Inter Simple Sequence Repeats) метод анализа полиморфизма ДНК [5]. Для проведения ПЦР были использованы эффективные для *P. sibirica* ISSR-PCR праймеры, которые были подобраны ранее [6]: ISSR-9 [(ACG)₇G]; CR-217 [(GT)₆GG]; CR-215 [(CA)₆GT]; M1 [(AC)₈CG]; X11 [(AGC)₆G]. Для ПЦР с пробами ДНК *P. sylvestris* также использовались ранее подобранные эффективные праймеры [7]: ISSR-1 [(AC)₈T]; CR-212 [(CT)₈TG]; CR-215 [(CA)₆GT]; M27 [(GA)₈C]; X10 [(AGC)₆C].

Для ПЦР использовали реакционную смесь объемом 25 мкл, содержащую: 0,4 мкл Tag-полимеразы; 2,5 мкл стандартного 10× буфера для ПЦР; 0,25 мкл праймера; 2,5 мкл Mg²⁺;

0,25 мкл dNTP; 5 мкл тотальной ДНК. В качестве отрицательного контроля (K-) для проверки чистоты реактивов к реакционной смеси вместо ДНК добавляли 5 мкл деионизированной воды. Амплификацию проводили в амплификаторе GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, USA) по типичной для ISSR-PCR метода программе: предварительная денатурация 94 °С, 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° отжига, 5 сек.; 72 °С, 5 сек. Последний цикл элонгации длился 2 мин при 72 °С. Температура отжига в зависимости от G/C-состава праймеров варьировала от 52 °С до 64 °С. Продукты амплификации разделяли с помощью электрофореза в 2% агарозном геле в 1× TBE буфере. Гели окрашивали бромистым этидием и фотографировали в проходящем ультрафиолетовом свете в системе Gel-Doc XR (Bio-Rad, USA). Для определения длины фрагментов ДНК использовали маркер молекулярной массы (100 + bp+DNA Ladder; ЗАО «Евроген», Москва). Определение длин фрагментов проводилось с использованием программы QuantityOne в системе гель-документации Gel-Doc XR (Bio-Rad, USA). Изучен полиморфизм 102 ISSR-PCR маркеров в 3 популяциях *P. sibirica* и 113 ISSR-PCR маркеров в 3 популяциях *P. sylvestris*.

Компьютерная обработка данных проведена с помощью программы POPGENE 1.31 [9] и с помощью специализированного макроса GenAlEx6 [8] для MS-Excel с определением: доли полиморфных локусов (P_{95}) [10], абсолютного числа аллелей (n_a), эффективного числа аллелей (n_e) [Kimura, Crow, 1964], ожидаемой гетерозиготности (H_E) [12]. Анализ генетической структуры проведен в соответствии с методикой М. Нея [13]. Генетическое расстояние между популяциями определяли по формуле М. Нея и В. Ли [14]. Была рассчитана матрица генетических различий, на основании которой невзвешенным парно-групповым методом UPGMA (unweighted pair-group method using arithmetic average) была построена дендрограмма, отражающая степень сходства исследуемых популяций по ISSR-спектрам при помощи компьютерных программ Treecon 1.3b. Для определения корреляции между генетическими и географическими расстояниями был применен общепринятый тест Мантела [15].

Результаты и их обсуждение

В результате молекулярно-генетического анализа популяций *P. sibirica* выявлено 102 ISSR-PCR маркера, из которых 88 были полиморфными ($P_{95}=0,863$). В ходе анализа полиморфизма ДНК популяций *P. sylvestris* было обнаружено 113 ISSR-PCR маркеров (Таблица 2), из которых 100 являлись полиморфными ($P_{95}=0,885$). Соответственно, доля полиморфных локусов незначительно выше у изученных популяций *P. sylvestris*.

Число амплифицированных ISSR-PCR маркеров у *P. sibirica* варьировало в зависимости от праймера от 17 (M1 [(AC)₈CG]) до 25 (X11 [(AGC)₆G]). В популяциях *P. sylvestris* максимальное число ISSR-PCR маркеров, равное 27, выявлено в ПЦР с праймером CR-212 [(CT)₈TG], а минимальное (20) с праймерами ISSR-1 [(AC)₈T] и M27 [(GA)₈C]. Размеры ISSR-PCR маркеров в исследованных популяциях *P. sibirica* изменялись (Таблица 2) в зависимости от праймера в пределах от 190 п.н. (M1 [(AC)₈CG]) до 1570 п.н. (CR-217 [(GT)₆GG]). В популяциях *P. sylvestris* размеры амплифицированных ISSR-PCR маркеров варьировали в зависимости от праймера от 210 п.н. (X10 [(AGC)₆C]) до 1400 п.н. (CR-212 [(CT)₈TG]). Ожидаемая гетерозиготность (H_E) у *P. sibirica* составила 0,195, что незначительно превышает значения этого показателя у *P. sylvestris* ($H_E=0,166$).

Таблица 2.

ХАРАКТЕРИСТИКА ISSR-PCR-МАРКЕРОВ *P. SIBIRICA* И *P. SYLVESTRIS*

ISSR-праймер	Последовательность (5'→3')	Длина фрагментов, п.н.	Общее число полиморфных ISSR-PCR маркеров (их частота)	
			N	P
<i>P. sibirica</i>				
ISSR-9	(ACG) ₇ G	200-1030	21	19 (0,905)
X11	(AGC) ₆ G	230-1220	25	22 (0,880)
M1	(AC) ₈ CG	190-1320	17	12 (0,706)
CR-215	(CA) ₆ GT	200-970	19	16 (0,842)
CR-217	(GT) ₆ GG	250-1570	20	19 (0,950)
	Всего		102	88 (0,863)
<i>P. sylvestris</i>				
ISSR-1	(AC) ₈ T	220-930	20	17 (0,850)
CR-212	(CT) ₈ TG	270-1400	27	26 (0,963)
CR-215	(CA) ₆ GT	220-1000	25	24 (0,960)
M27	(GA) ₈ C	240-1000	20	15 (0,750)
X10	(AGC) ₆ C	210-1100	21	18 (0,857)
	Всего		113	100 (0,885)

Примечание: N — общее число ISSR-PCR-маркеров, P — число полиморфных ISSR-маркеров, в скобках дана их частота.

Однако, эффективное число аллелей (n_e) значительно (Таблица 3) выше у *P. sibirica* ($n_e = 1,335$) по сравнению с *P. sylvestris* ($n_e = 1,268$).

Таблица 3.

СРАВНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ДВУХ ВИДОВ РОДА *PINUS*

Выборка	P_{95}	H_E	n_e	n_a
Популяции <i>P. sibirica</i>	0,863	0,195 (0,011)	1,335 (0,021)	1,330 (0,048)
Популяции <i>P. sylvestris</i>	0,885	0,166 (0,010)	1,268 (0,018)	1,212 (0,051)
Критерий	Фишера (F)		Критерий Стьюдента (t)	
Значение критерия	F=0,419	F=0,477	t=2,420	t=1,680
Сравнение с F_{st} или t_{st}	0,419 < 1,960	0,477 < 1,960	2,420 > 1,977	1,680 < 1,977

Примечание: P_{95} — доля полиморфных локусов, H_E — ожидаемая гетерозиготность; n_e — эффективное число аллелей на локус; у H_E и n_e в скобках даны стандартные отклонения.

Число редких аллелей выше у *P. sylvestris* ($R=29$) по сравнению с *P. sibirica* ($R=18$). Анализ генетической структуры трех популяций *P. sibirica* показал (Таблица 4), что ожидаемая доля гетерозиготных генотипов на общую выборку (H_T) составила 0,287. Этот показатель выше, чем ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в отдельной популяции ($H_S=0,196$). Наибольшая дифференциация популяций сосны сибирской установлена с использованием праймера X-11 [(AGC)₆G]. Установлено, что доля межпопуляционного генетического разнообразия в общем разнообразии или коэффициент подразделенности (G_{ST}) составил 0,320.

У *P. sylvestris* доля гетерозиготных генотипов на общую выборку (H_T) составила 0,238, а ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в отдельной популяции ($H_S=0,196$). Наибольшая дифференциация популяций сосны обыкновенной выявлена с использованием праймера CR-215 [(CA)₆GT]. Коэффициент подразделенности (G_{ST}) у *P. sylvestris* равен 0,303 (Таблица 4).

Таблица 4.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ
 ИЗУЧЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ДВУХ ВИДОВ РОДА *PINUS*

ISSR- PCR праймер	Нуклеотидная последовательность (5'→3')	H_T	H_S	G_{ST}
<i>P. sibirica</i>				
CR-217	(GT) ₆ GG	0,312 (0,017)	0,227 (0,013)	0,272
CR-215	(CA) ₆ GT	0,260 (0,028)	0,192 (0,020)	0,264
ISSR-9	(ACG) ₇ G	0,260 (0,028)	0,192 (0,020)	0,264
M-1	(AC) ₈ CG	0,303 (0,031)	0,231 (0,022)	0,239
X-11	(AGC) ₆ G	0,274 (0,030)	0,167 (0,017)	0,390
<i>Среднее</i>		<i>0,287 (0,027)</i>	<i>0,196 (0,018)</i>	<i>0,320</i>
<i>P. sylvestris</i>				
ISSR-1	(AC) ₈ T	0,281 (0,028)	0,171 (0,010)	0,391
CR-212	(CT) ₈ TG	0,261 (0,020)	0,211 (0,015)	0,190
CR-215	(CA) ₆ GT	0,251 (0,027)	0,156 (0,009)	0,379
M27	(GA) ₈ C	0,177(0,022)	0,133 (0,010)	0,248
X10	(AGC) ₆ C	0,209(0,021)	0,145 (0,007)	0,307
<i>Среднее</i>		<i>0,238(0,024)</i>	<i>0,166 (0,011)</i>	<i>0,303</i>

Примечание: H_T — ожидаемая доля гетерозиготных генотипов как мера общего генного разнообразия во всей популяции; H_S — ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в отдельной популяции, как мера ее внутривидового разнообразия или среднее выборочное генное разнообразие по всем локусам; G_{ST} — доля межпопуляционного генетического разнообразия в общем разнообразии или показатель подразделенности популяций; в скобках даны стандартные отклонения.

Установлено, что доля межпопуляционного генетического разнообразия (G_{ST}) близка у обоих исследованных видов рода *Pinus*. При этом значение данного показателя ($G_{ST} = 0,320$) у *P. sibirica* незначительно выше, чем у *P. sylvestris* ($G_{ST} = 0,303$). В целом, можно сказать, что популяции исследованных видов рода *Pinus* дифференцированы в средней степени, поскольку на межпопуляционную компоненту у *P. sibirica* приходится около 32,0% всей генетической изменчивости, а у *P. sylvestris* – 30,3%.

При подсчете попарных генетических расстояний было установлено, что у *P. sibirica* на наименьшем генетическом расстоянии ($D=0,157$) находятся популяции *Ps_Kr* и *Ps_Bs*, а на наибольшем ($D=0,213$) популяции *Ps_Kh* и *Ps_Bs*. У *P. sylvestris* наиболее генетически удаленными являются популяции *Psl_Ks* и *Psl_Br* ($D=0,187$), а на наименьшем генетическом расстоянии расположены популяции *Psl_Br* и *Psl_Zc* ($D=0,042$).

На основании матриц попарных генетических расстояний (D) был проведен кластерный анализ невзвешенным парно-групповым методом (UPGMA) и построены дендрограммы, отражающие степень сходства по ISSR-спектрам исследуемых популяций каждого вида. На дендрограмме популяции *P. sibirica Ps_Kr* и *Ps_Bs* сформировали 1 кластер, к ним примыкает популяция *Ps_Kh* (Рисунок 1А).

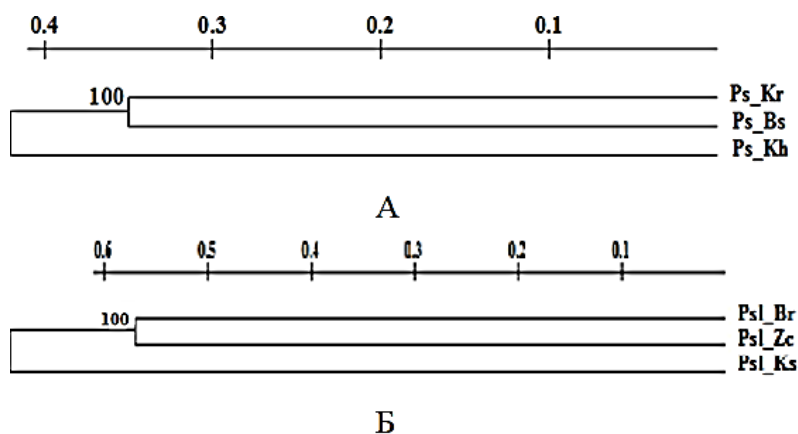


Рисунок 1. UPGMA-дендрограмма генетического сходства исследуемых популяций *P. sibirica* (А) и популяций *P. sylvestris* (Б); шкала сверху — генетическое расстояние; на дендрограмме цифрами указаны значения бутстрепа (в %)

На дендрограмме *P. sylvestris* 1 кластер сформировали выборки *Psl_Zc* и *Psl_Br*, а к ним примыкает популяция *Psl_Ks* (рис. 1Б). О достоверности межкластерных различий можно судить по высокому индексу бутстрепа (>50%) в узлах ветвления.

При выявлении зависимости между генетическими и географическими расстояниями с помощью теста Мантелы у *P. sibirica* был получен высокий коэффициент детерминации ($R^2 = 0,6871$), что свидетельствует о высокой корреляции между географическим и генетическим расстояниями у популяций у *P. sibirica* (Рисунок 2А).

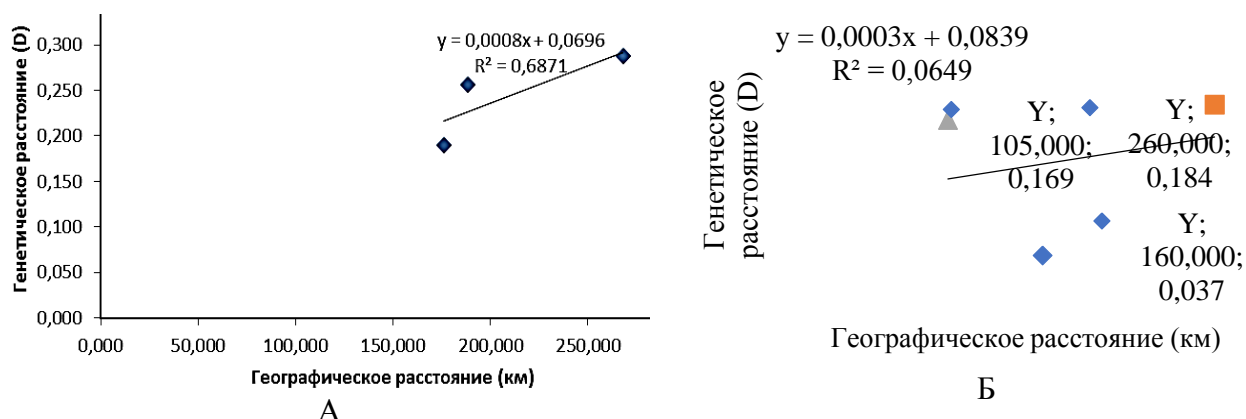


Рисунок 2. График зависимости генетических и географических расстояний у изученных популяций: А — *P. sibirica*; Б — *P. sylvestris*

У *P. sylvestris* с использованием теста Мантелы был выявлен низкий коэффициент детерминации ($R^2 = 0,0649$), что указывает на низкую степень корреляции между географическим и генетическим расстояниями популяций этого вида (Рисунок 2Б).

Заключение

При молекулярно-генетическом анализе у *P. sylvestris* выявлено 113 ISSR-PCR маркеров, а у *P. sibirica* меньше — 102 ISSR-PCR маркера. Доля полиморфных локусов незначительно выше у *P. sylvestris* ($P_{95}=0,885$) по сравнению с этим показателем у *P. sibirica* ($P_{95}=0,863$). Другие показатели генетического разнообразия незначительно выше у *P. sibirica* ($H_E=0,195$; $n_a=1,330$) в сравнении с *P. sylvestris* ($H_E=0,166$; $n_a=1,212$;). Интересен тот факт, что достоверно отличается у двух изученных видов только один показатель генетического

разнообразия, а именно — число эффективных аллелей: $n_e=1,335$ у *P. sibirica* и $n_e=1,268$ у *P. sylvestris*. Вместе с тем наибольшее число редких аллелей отмечено у *P. sylvestris* ($R=29$). Наибольшим генетическим разнообразием характеризуются популяция *Ps_Kh* у *P. sibirica* ($H_E=0,247$; $n_a=1,578$; $n_e=1,427$) и популяция *Psl_Br* у *P. sylvestris* ($H_E=0,227$; $n_a=1,558$; $n_e=1,375$), которые рекомендуются для сохранения генетического разнообразия изученных видов на популяционном уровне. Анализ генетической структуры показал, что коэффициенты генетической подразделенности (G_{ST}) у двух изученных видов рода *Pinus* близки и составляют 0,320 у *P. sibirica* и 0,303 у *P. sylvestris*. В связи с этим, популяции сосны сибирской и сосны обыкновенной характеризуются средней степенью генетической дифференциации. На наибольшем генетическом расстоянии находятся популяции *Ps_Kh* и *Ps_Bs* у *P. sibirica* и популяции *Psl_Ks* и *Psl_Br* у *P. sylvestris*, а на наименьшем — популяции *Ps_Kr* и *Ps_Bs* *P. sibirica* и популяции *Psl_Br* и *Psl_Zc* у *P. sylvestris*. Полученные результаты подтверждаются на UPGMA-дендрограммах генетического сходства. С использованием теста Мантелла установлено, что между генетическими и географическими расстояниями у популяций *P. sibirica* степень корреляции высокая ($R^2 = 0,6871$), а у популяций *P. sylvestris* — низкая ($R^2 = 0,0649$). Результаты данного исследования важны для разработки рекомендаций по сохранению генофондов двух видов рода *Pinus* в Пермском крае.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Правительства Пермского края в рамках научного проекта №С-26/174.3 от 31.01.2019.

Список литературы:

1. Видякин А. И., Кантор Г. Я. Пространственная организация и факторы формирования групп популяций сосны обыкновенной в Южном Зауралье // Вестник Оренбургского государственного университета. 2013. Т. 159. №10. С. 34-39.
2. Yanbaev Y., Sultanova R., Blonskaya L., Bakhtina S., Tagirova A., Tagirov V., Kulagin A. Gene pool of scots pine (*Pinus sylvestris* L.) Under reforestation in extreme environment // Wood Research. 2020. V. 65. №3. P. 459-470. <https://doi.org/10.37763/wr.1336-4561/65.3.459470>
3. Rogers S. O., Bendich A. J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // Plant molecular biology. 1985. V. 5. №2. P. 69-76. <https://doi.org/10.1007/BF00020088>
4. Нечаева Ю. С., Бельтюкова Н. Н., Пришнивская Я. В., Тайман К. Е. Оптимизация методики выделения ДНК некоторых хвойных видов растений Пермского края // Синтез знаний в естественных науках. Рудник будущего: проекты, технологии, оборудование: Материалы междунар. конф. Пермь, 2011. С. 278-282.
5. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification // Genomics. 1994. V. 20. №2. P. 176-183. <https://doi.org/10.1006/geno.1994.1151>
6. Мазунина Ж. И., Нечаева Ю. С. Анализ эффективности ISSR-праймеров для изучения полиморфизма ДНК кедра сибирского *Pinus sibirica* Du Tour // Научные исследования: теоретико-методологические подходы и практические результаты: материалы Международной научно-практической конференции. Самара, 2017. С. 376-378.
7. Бобошина И. В., Нечаева Ю. С., Видякин А. И., Боронникова С. В. Подбор праймеров для проведения ISSR-анализа полиморфизма ДНК *Pinus sylvestris* L. // Молекулярно-генетические подходы в таксономии и экологии: материалы научной конференции. Ростов-на-Дону, 2013. С. 17-20.

8. Peakall R. O. D., Smouse P. E. GenALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // *Molecular ecology notes*. 2006. V. 6. №1. P. 288-295. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x>
9. Yeh F. C., Yang R. C., Mao J., Ye Z., Boyle T. J. POPGENE, the Microsoft Windows-based user-friendly software for population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits // Dept. Renewable Resources, University of Alberta, Edmonton, Canada. 1996. V. 238.
10. Williams J. G., Kubelik A. R., Livak K. J., Rafalski J. A., Tingey S. V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers // *Nucleic acids research*. 1990. V. 18. №22. P. 6531-6535. <https://doi.org/10.1093/nar/18.22.6531>
11. Kimura M., Crow J. F. The number of alleles that can be maintained in a finite population // *Genetics*. 1964. V. 49. №4. P. 725. <https://doi.org/10.1093/genetics/49.4.725>
12. Nei M. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia university press, 1987.
13. Nei M. *Molecular population genetics and evolution*. North-Holland Publishing Company, 1975.
14. Nei M., Li W. H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1979. V. 76. №10. P. 5269-5273. <https://doi.org/10.1073/pnas.76.10.5269>
15. Mantel N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach // *Cancer research*. 1967. V. 27. №2. Part 1. P. 209-220.

References:

1. Vidyakin, A. I., & Kantor, G. Ya. (2013). Prostranstvennaya organizatsiya i faktory formirovaniya grupp populyatsii sosny obyknovennoi v Yuzhnom Zaural'e. *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta*, 159(10), 34-39. (in Russian).
2. Yanbaev, Y., Sultanova, R., Blonskaya, L., Bakhtina, S., Tagirova, A., Tagirov, V., & Kulagin, A. (2020). Gene pool of scots pine (*Pinus sylvestris* L.) Under reforestation in extreme environment. *Wood Research*, 65(3), 459-470. <https://doi.org/10.37763/wr.1336-4561/65.3.459470>
3. 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. <https://doi.org/10.1007/BF00020088>
4. Nechaeva, Yu. S., Beltyukova, N. N., Prishnivskaya, Ya. V., & Taiman, K. E. (2011). Optimizatsiya metodiki vydeleniya DNK nekotorykh khvoinykh vidov rastenii Permskogo kraja. Sintez znaniy v estestvennykh naukakh. *Rudnik budushchego: proekty, tekhnologii, oborudovanie: Materialy mezhdunar. konf. Perm*, 278-282. (in Russian).
5. Zietkiewicz, E., Rafalski, A., & Labuda, D. (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20(2), 176-183. <https://doi.org/10.1006/geno.1994.1151>
6. Mazunina, Zh. I., & Nechaeva, Yu. S. (2017). Analiz effektivnosti ISSR-praimerov dlya izucheniya polimorfizma DNK kedra sibirskogo *Pinus sibirica* Du Tour. *Nauchnye issledovaniya: teoretiko-metodologicheskie podkhody i prakticheskie rezul'taty: materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii. Samara*, 376-378. (in Russian).
7. Boboshina, I. V., Nechaeva, Yu. S., Vidyakin, A. I., & Boronnikova, S. V. (2013). Podbor praimerov dlya provedeniya ISSR-analiza polimorfizma DNK *Pinus sylvestris* L. *Molekulyarno-geneticheskie podkhody v taksonomii i ekologii: materialy nauchnoi konferentsii. Rostov-on-Don*, 17-20. (in Russian).

8. Peakall, R. O. D., & Smouse, P. E. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular ecology notes*, 6(1), 288-295. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x>
9. Yeh, F. C., Yang, R. C., Mao, J., Ye, Z., & Boyle, T. J. (1996). POPGENE, the Microsoft Windows-based user-friendly software for population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. *Dept. Renewable Resources, University of Alberta, Edmonton, Canada*, 238.
10. Williams, J. G., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., & Tingey, S. V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic acids research*, 18(22), 6531-6535. <https://doi.org/10.1093/nar/18.22.6531>
11. Kimura, M., & Crow, J. F. (1964). The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics*, 49(4), 725. <https://doi.org/10.1093/genetics/49.4.725>
12. Nei, M. (1987). *Molecular evolutionary genetics*. Columbia university press.
13. Nei, M. (1975). *Molecular population genetics and evolution*. North-Holland Publishing Company.
14. 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.76.10.5269>
15. Mantel, N. (1967). The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer research*, 27(2 Part 1), 209-220.

Работа поступила
в редакцию 09.03.2021 г.

Принята к публикации
13.03.2021 г.

Ссылка для цитирования:

Нечаева Ю. И., Пыстогова Н. А., Чертов Н. В., Боронникова С. В. Молекулярно-генетический анализ популяций *Pinus sylvestris* L. и *Pinus sibirica* Du Tour в Пермском крае на основании полиморфизма ISSR-PCR маркеров // Бюллетень науки и практики. 2021. Т. 7. №4. С. 12-21. <https://doi.org/10.33619/2414-2948/65/01>

Cite as (APA):

Nechaeva, Yu., Pystogova, N., Chertov, N., & Boronnikova, S. (2021). Molecular Genetic Analysis of *Pinus sylvestris* L. and *Pinus sibirica* Du Tour Populations in Perm Krai Based on Polymorphism ISSR-PCR markers. *Bulletin of Science and Practice*, 7(4), 12-21. (in Russian). <https://doi.org/10.33619/2414-2948/65/01>