

УДК 575.2:575.22:574.3

AGRIS: F30

**ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ОРИГИНАЛЬНОСТИ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ  
ДВУХ ВИДОВ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ НА УРАЛЕ**

**ESTIMATION OF GENETIC ORIGINALITY OF NATURAL POPULATIONS OF TWO  
SPECIES OF WOODY PLANT ON URAL**

©**Боронникова С. В.**,

д-р биол. наук, ORCID: 0000-0002-5498-8160;

Пермский государственный национальный  
исследовательский университет,

г. Пермь, Россия, SVBoronnikova@yandex.ru

©**Boronnikova S.**,

Dr. habil., ORCID: 0000-0002-5498-8160;

Perm State University,

Perm, Russia, SVBoronnikova@yandex.ru

©**Васильева Ю. С.**,

канд. биол. наук,

Пермский государственный национальный  
исследовательский университет,

г. Пермь, Россия, Yulianechaeva@mail.ru

©**Vasileva Yu.**,

Ph.D., Perm State University,

Perm, Russia, Yulianechaeva@mail.ru

©**Пришневская Я. В.**,

ORCID: 0000-0003-1513-2682,

Пермский государственный национальный  
исследовательский университет,

г. Пермь, Россия, yana\_prishnivskaya@mail.ru

©**Prishnivskaya Ya.**,

ORCID: 0000-0003-1513-2682,

Perm State University,

Perm, Russia, yana\_prishnivskaya@mail.ru

*Аннотация.* С целью выявления генетической оригинальности генофондов проведено изучение 7 популяций тополя дрожащего (или осины) *Populus tremula* L., Salicaceae и 9 популяций лиственницы сибирской *Larix sibirica* Ledeb., Pinaceae, а именно ее западной расы на Урале. Для выявления популяционной структуры 2-х указанных видов растений был применен ISSR–метод фингерпринтинга. У *P. tremula* амплифицированы 119 ISSR–PCR маркеров, а у *L. sibirica* — 121 ISSR–PCR маркера. Определены и проанализированы группы генетических характеристик на уровне популяций. Для анализа генофондов обычно определяются число молекулярных маркеров, долю полиморфных локусов, ожидаемую гетерозиготность, число редких и уникальных аллелей. Более информативными для оценки специфики генофондов признаны уникальные аллели. Для описания специфики генофондов растений можно рекомендовать показатель внутривидовой популяционной разнообразия  $\mu$ , но он показывает только равномерность рассредоточения частот аллелей. Определение генетической оригинальности популяционных генофондов можно проводить с помощью

характеристик специфики генофондов, как коэффициент генетической оригинальности растений (КГОр), но с учетом присутствия и количества уникальных аллелей. У 2 изученных видов растений (*P. tremula* и *L. sibirica*) указаны на Урале популяции с базовым и специфичным генофондами и отобраны популяции для их сохранения.

*Abstract.* To identify the genetic originality of species of woody plant gene pools was conducted the research of 7 populations of trembling poplar or aspen *Populus tremula* L., Salicaceae and 9 populations of Siberian Larch *Larix sibirica* Ledeb., Pinaceae; namely of West race on Ural. To determine the genetic diversity of populations two species of woody plant was used ISSR–method of fingerprinting. In *P. tremula* were revealed 119 ISSR–PCR markers, in *L. sibirica* — 121 ISSR–PCR markers. The groups of genetic characteristics at the level of populations were determined and analyzed. For the analysis of gene pools, the number of molecular markers, the proportion of polymorphic loci, the expected heterozygosity, the number of rare and unique alleles are usually determined. Unique alleles are recognized as more informative for assessing the specificity of gene pools. To describe the specificity of plant gene pools, one can recommend the indicator of the intrapopulation variety  $\mu$ , but it shows only the uniformity of the dispersion of allele frequencies. Determination of the genetic originality of population gene pools can be carried out with the help of characteristics of the specificity of gene pools, as the coefficient of genetic originality of plants (CGO) but taking into account the presence and number of unique alleles. In 2 studied plant species (*P. tremula* and *L. sibirica*), populations in the Urals with basic and specific gene pools are indicated and populations are selected for their conservation.

*Ключевые слова:* *Populus tremula* L., *Larix sibirica* Ledeb., Урал, ISSR-PCR маркеры, КГОр, генофонды.

*Keywords:* *Populus tremula* L., *Larix sibirica* Ledeb., Ural, ISSR-PCR markers, CGO, gene pool.

В лесных экосистемах находится значительная часть всего биоразнообразия Северного полушария. Большая часть лесных древесных растений характеризуются значительным уровнем внутривидовой генетической изменчивости, которая находится, в основном, в пределах популяций [1–2]. Понижение внутривидовой изменчивости сокращает адаптивный потенциал растений [3–4]. Антропогенное влияние, включая вырубку деревьев, оказывают негативное влияние на древесные растения из-за сокращения их ареалов и фрагментации, снижения общей и эффективной численности и плотности популяций, вплоть до исчезновения отдельных локальных популяций. Рубки леса ликвидируют часть генотипов, что неминуемо приводит к генетическому обеднению популяций [5].

На настоящий момент не решена главная проблема в сохранении генетического компонента биоразнообразия — проблема выбора популяций для восстановления, сохранения и мобилизации генетических ресурсов растений. Для описания генофондов рекомендованы показатели разнообразия популяций, выявляемые с помощью доминантных и кодоминантных маркеров. Большой интерес представляет изучение разнообразия популяций на нуклеотидном уровне [6]. Начинает развиваться новое направление популяционной генетики – геномное тестирование популяций [7]. Классификация разнообразия генотипов по результатам молекулярного маркирования (AFLP–метод) с определением КГО (коэффициент генетической оригинальности) была предложена Е. К. Потокиной и Т. Г. Александровой [8].

Объектами изучения являлись сорта вики посевной *Vicia sativa* L. На основании этого подхода с учетом малой численности популяций был предложен подход для определения типичности/специфичности генофондов редких видов травянистых растений [9]. Определение оригинальности генетического разнообразия сортов растений [10] и даже пород животных [11] весьма актуально в настоящее время для увеличения производительности с учетом достижений селекции.

Популяции древесных растений занимают большие площади и, как правило, генотипы их растений более однотипны при сопоставлении с популяциями травянистых растений. Древесные растения имеют большую продолжительность жизни. Эти особенности древесных растений необходимо учитывать при характеристике генофондов, в том числе при описании их специфичности.

У древесных растений, а именно у лиственных, модельным родом для генетического анализа считается род тополь *Populus* L., так он обладает сравнительно небольшим по размеру геномом и большим адаптивным потенциалом. Первым видом из древесных растений, геном которого почти полностью секвенировали, был североамериканский вид тополя *P. trichocarpa* [12]. На Урале распространен *Populus tremula* L. (тополь дрожащий или же осина), который является лесообразующим и практически значимым видом.

У хвойных же видов древесных растений избран вид из рода *Larix* Mill., в связи с тем, что он считается наиболее распространенным во всем мире, включая и Российскую Федерацию [13]. На Урале род *Larix* представлен западной расой лиственницы сибирской *Larix sibirica* Ledeb. [14]. Н. В. Дылис [15] описал лиственницу Сукачева (*Larix sukaczewii* Dyl.) как отдельный вид. Изученные нами популяции определены нами как западная раса лиственницы сибирской *Larix sibirica* Ledeb. (*L. sukaczewii*) и сокращенно обозначена как *L. sibirica*. В. П. Путенихин и З. Х. Шигаповым с соавторами [13, 16] исследовали с применением изоферментных маркеров генетическую изменчивость природных популяций *L. sukaczewii* на Среднем Урале. В. Л. Семериков с соавторами [17] с применением AFLP-маркеров, изоферментных, митохондриальных и хлоропластных, а также с выявлением нуклеотидного полиморфизма у отдельных потенциально адаптивно-значимых генов, изучил генетическую изменчивость, главным образом, для анализа вопросов филогении, на Приполярном Урале и на восточном макросклоне Уральских гор. Генетический компонент биологического разнообразия популяций *L. sibirica* западного макросклона Уральских гор на основании полиморфизма ДНК-маркеров практически не изучен.

Оригинальность и типичность/специфичность генофондов природных популяций 2-х избранных для исследования видов (*P. tremula* и *L. sibirica*) ранее не определялась с учетом совокупности характеристик генетического разнообразия с целью отбора популяций для сохранения генетического компонента биоразнообразия.

Цель изучения — определение характеристик генетической изменчивости на уровне популяций для выявления генетической оригинальности, установление базовых и своеобразных генофондов популяций 2-х видов древесных растений (*P. tremula* и *L. sibirica*) на Среднем и Северном Урале для отбора популяций с целью рекомендаций мер охраны генофондов с учетом их типичности и специфики для исследованного района.

#### *Материалы и методы исследований*

В качестве объектов для изучения выбраны 7 популяций тополя дрожащего или же осины (*Populus tremula* L., *Salicaceae*), которые присутствуют на Среднем Урале, в различных лесничествах Пермского края: Верхне-Курьинском (*Ptr1*), Добрянском (*Ptr2*), Кунгурском

(Ptr3), Суксунском (Ptr4), Частином (Ptr5), Чермозском (Ptr6) и Губахинском (Ptr7). Девять популяций западной расы лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb., Pinaceae) размещаются на Среднем и Северном Урале, восемь из них в Пермском крае: в муниципальном государственном заповеднике «Вишерский» (Lsb1, Lsb2), а еще в лесничествах: Красновишерском (Lsb3); Чердынском (Lsb4), в Гайнском (Lsb5), Полазненском (Lsb7), Осинском (Lsb8), Кишертском (Lsb9). Одна популяция *L. sibirica* располагается в Свердловской области в Качканарском участковом лесничестве (Lsb6).

Для проведения молекулярно-генетического изучения листья (у *L. sibirica* хвоя) собраны с каждого из 28-30 деревьев во всех изученных 16 популяциях. ДНК выделяли по методике С. Роджерса с соавторами [18] с модификациями для хвойных растений [19]. Качество и характеристики ДНК определяли на приборе Spectrofotometr<sup>TM</sup> NanoDrop 2000 (Thermo scientific, USA). Молекулярно-генетическое изучение популяций 2-х видов были проведены с применением ISSR (Inter Simple Sequence Repeats [20]) — метода полиморфизма ДНК. Смесь для ПЦР объемом 25 мкл содержала: 2 единицы *Taq*-полимеразы; 2,5 мкл 10х буфера + MgCl<sub>2</sub> («Силекс М», Россия); 25 пМ праймера («Синтол», Россия); 0,25 мМ dNTP («Fermentas», Литва); 5 мкл ДНК. Амплификацию ДНК проводили в термоциклере GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, USA) с пятью ISSR-праймерами, эффективными для *P. tremula* (M1 (AC)<sub>8</sub>CG, M27 (GA)<sub>8</sub>C, X9 (ACC)<sub>6</sub>G, X10 (AGC)<sub>6</sub>C, X11 (AGC)<sub>6</sub>G); и с пятью же ISSR-праймерами, но которые эффективны для *L. sibirica* (M3 (AC)<sub>8</sub>CT, X10 (AGC)<sub>6</sub>C, X11 (AGC)<sub>6</sub>G, ISSR-8 (GAG)<sub>6</sub>C, CR-215 (CA)<sub>6</sub>GT). Для 2-х исследованных видов использовались 2 одинаковых ISSR-праймера X10 (AGC)<sub>6</sub>C и X11 (AGC)<sub>6</sub>G, имеющие один и тот же тринуклеотидный повтор, но различающийся «якорным» нуклеотидом на конце праймера. В процессе ПЦР пробы ДНК амплифицировались по общепринятой для ISSR-метода программе: начальная денатурация 94°C, 2 мин.; первые 5 циклов 94 °C, 20 сек.; t° отжига, 10 сек.; 72 °C, 10 сек.; в дальнейших 35 циклах 94°C, 5 сек.; t° отжига, 5 сек.; 72°C, 5 сек. Температура отжига в зависимости от G/C состава праймеров изменялась от 46°C до 56°C. Для определения чистоты реактивов в качестве К- в реакционную смесь добавляли взамен ДНК 5 мкл деионизированной воды. Ампликоны разъединяли электрофорезом в 1,7% агарозном геле в 1× TBE буфере, окрашивали бромистым этидием. Для определения длин ампликонов выбрали маркер молекулярной массы (100 bp +1.5 + 3 Kb DNA Ladder, (ООО «СибЭнзим-М», Москва). Фотографирование и подсчет длин ампликонов проводили с помощью системы гель-документации GelDoc, а также программы Quantity One («Bio-Rad», USA). Проведено молекулярно-генетическое тестирование 119 ISSR-PCR маркеров у 206 деревьев *P. tremula*, а также 121 ISSR-PCR маркеров у 298 деревьев *L. sibirica*; в матрице рассмотрены 62 168 позиций.

В представленной работе проанализированы лишь только характеристики показателей генетической изменчивости популяций, которые важны для выявления свойства типичности и специфики их генофондов. Выявление полиморфизма ДНК проведено с поддержкой общепризнанных компьютерных программ POPGENE 1.31 и спец макроса GenAIE×6 для MS-Excel с определением доли (P<sub>95</sub>) полиморфных локусов [21], ожидаемой (H<sub>E</sub>) гетерозиготности [22]. При анализе генетической изменчивости внутри популяционных систем Л. А. Животовский [23] внес предложение установить следующие показатели: доля редких морф *h* (обозначенная в данной работе при анализе редких аллелей как *h<sub>r</sub>*); показатель внутрипопуляционной изменчивости  $\mu$  (обозначенный как  $\mu_r$ ). Специфические особенности генофондов были установлены по методике, авторами которой являются Е. К. Потоккина, Е. Г. Александрова [8], которая предусматривает подсчет КГО. В эту методику в связи со

спецификой популяций древесных растений были внесены изменения [9, 24]. Эта статья не предусматривает сопоставления характеристик генетической изменчивости 2-х избранных для исследования видов и, что больше, не претендует на сопоставление генетической изменчивости популяций меж хвойными и лиственными растениями в связи с тем, что в ней проанализирована генетическая изменчивость популяций лишь у 1-го вида (*P. tremula*) из отдела цветковые растения Magnoliophyta и еще лишь у 1-го вида (*L. sibirica*) из отдела голосеменные растения Pinophyta.

#### Результаты и их обсуждение

На основании данных полиморфизма структурных районов генома высчитываются количественные характеристики генетического компонента биоразнообразия, главной из которых служит частота аллеля. Как раз на ее данных рассчитываются практически все характеристики генетического полиморфизма; поэтому для выявления генетической оригинальности популяционных генофондов нужно сначала выяснить главные характеристики генетической изменчивости на популяционном уровне, а именно число аллелей, число полиморфных выявленных аллелей и их процент или долю, и в случае применения доминантных маркеров — ожидаемую гетерозиготность.

При изучении 7 популяций *P. tremula* выявлено 119 различных ISSR-PCR маркеров, из них число полиморфных различных маркеров подсчитано как 87, а их доля — 0,731. Для всех анализируемых 7 популяций другая позиция, а именно ожидаемая доля гетерозигот ( $H_E$ ) осины низка — 0,129. Наивысшее значение  $H_E$  подсчитано в *Ptr2* ( $H_E = 0,160$ ), а невысокая [25] — в *Ptr7* ( $H_E = 0,088$ ). Большим многообразием генетических данных (Таблица 1) характеризуется *Ptr4* ( $P_{95} = 0,790$ ;  $H_E = 0,138$ ), а минимальным — *Ptr5* ( $P_{95} = 0,565$ ;  $H_E = 0,120$ ). Для *P. tremula* в литературе приведены пределы варьирования ожидаемой гетерозиготности — от 0,026 до 0,834 [26]. В изученных популяционных системах *P. tremula* спектр этого показателя меньше — от 0,088 (*Ptr7*) до 0,160 (*Ptr2*).

Редкими именуется аллели, которые представлены в популяции с частотой меньше 5%. Эти аллели имеют все шансы быть обнаружены в популяциях изучаемого вида. Помимо этого, для описания своеобразия генофондов актуальны уникальные или оригинальные аллели (или ISSR-PCR выявленные маркеры), которые аплифицируются в ПЦР с пробами ДНК лишь из одной популяции. Они дополняют именно на популяционном уровне описание оригинальности генофонда.

Таблица 1.

#### ХАРАКТЕРИСТИКИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ 7 ПОПУЛЯЦИЙ *P. tremula*

Популяции/ показатели	<i>Ptr1</i>	<i>Ptr2</i>	<i>Ptr3</i>	<i>Ptr4</i>	<i>Ptr5</i>	<i>Ptr6</i>	<i>Ptr7</i>
$P_{95}$	0,530	0,785	0,733	0,790	0,565	0,727	0,686
$H_E$	0,139 (0,018)	0,160 (0,018)	0,142 (0,017)	0,138 (0,016)	0,120 (0,016)	0,114 (0,015)	0,088 (0,014)
<i>Un</i>	1	5	5	1	5	1	1

Примечание:  $P_{95}$  — доля полиморфных локусов;  $H_E$  — ожидаемая доля гетерозигот; *Un* — число оригинальных (уникальных) аллелей; *Ptr1*, *Ptr2*, *Ptr3*, *Ptr4*, *Ptr5*, *Ptr6*, *Ptr7* — обозначения популяций

В популяциях *Ptr1*, *Ptr4*, *Ptr6*, *Ptr7* выявлено по 1 оригинальному ISSR–PCR маркеру, а в популяциях *Ptr2*, *Ptr3*, *Ptr5* — по 5. Для *Ptr1* с применением в ПЦП праймера M1 амплифицирован оригинальный ISSR–PCR маркер длиной 1190 пн с частотой 0,860. По предложению укороченной записи [9] молекулярного маркера он обозначен как  $Ptr1_{un}1190_{M1}$ . С применением праймера X9 в *Ptr7* осины установлен оригинальный маркер длиной 310 пн с частотой встречаемости 0,530 ( $Ptr7_{un}310_{X9}$ ). При анализе генетического компонента внутри популяций по предложению Л. А. Животовского [23], в 7 популяциях осины установлено, равномернее распределены частоты аллелей в *Ptr2* ( $\mu_r=0,598$ ), а наименее размерено — в *Ptr5* ( $\mu_r=0,301$ ). Показатель  $h_r$  рассматривает структуру генетического разнообразия изнутри популяций. По сведениям Л. А. Животовского [23], пороговый показатель  $h_r$  достигает 0,3. Чем меньше установленный в популяции показатель  $h_r$ , тем больше сбалансирована структура разнообразия в популяции, потому что меньше крайних морф. В случае, если показатель  $h_r$  более, чем 0,3; то структура не равновесна в связи с высочайшим содержанием крайних морф. Показатель  $h_r$  имеет более высокое значение, чем 0,3, у 4 популяций тополя дрожащего: *Ptr3* ( $h_r=0,603$ ), *Ptr4* ( $h_r=0,586$ ), *Ptr5* ( $h_r=0,582$ ), *Ptr1* ( $h_r=0,422$ ). Показатель  $h_r$  ниже 0,3 у 3-х популяций осины: *Ptr3* ( $h_r=0,204$ ), *Ptr6* ( $h_r=0,185$ ), *Ptr7* ( $h_r=0,185$ ).

При изучении 9 популяций *L. sibirica*, а именно ее западной расы, амплифицировано 121 ISSR-PCR маркера. Как полиморфные указаны 117 аллелей ( $P_{95}=0,951$ ). На объединенную выборку из 9 популяций, ожидаемая гетерозиготность листовенницы сибирской подсчитана как 0,202. Как установила Ю. С. Васильева [27], более гетерогенна (Рисунок) популяция *Lsb5* ( $P_{95}=0,868$ ;  $H_E=0,225$ ), а в наименьшей степени — *Lsb7* ( $P_{95}=0,741$ ;  $H_E=0,171$ ). В популяциях *Lsb3*, *Lsb5* амплифицировано по 1 оригинальному (или уникальному), а в популяции *Lsb6* — 2 оригинальных ISSR-PCR маркера. К примеру, в популяции *Lsb3* детектирован полиморфный оригинальный маркер  $Lsb3_{p480}_{ISS}$ , который присутствует в популяции с частотой 0,467.

При сравнении описанных характеристик изученного генетического разнообразия с указанными в литературе данными нужно обязательно учитывать, что показатели, подсчитанные методом ISSR–фингерпринтинга, тактично рассматривать лишь только с данными, установленными с применением таких же доминантных ДНК-маркеров

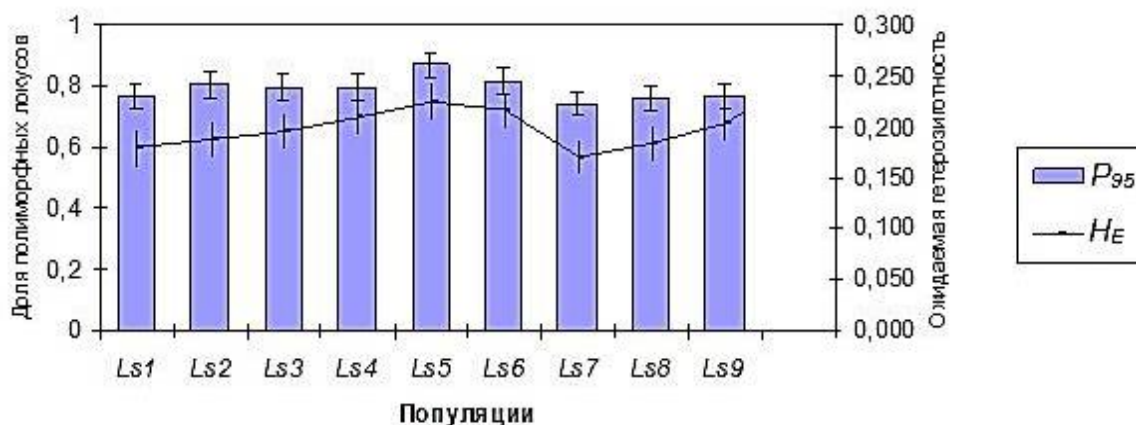


Рисунок. Генетическое разнообразие 9 популяций *L. sibirica*: доля полиморфных локусов ( $P_{95}$ ), ожидаемая гетерозиготность ( $H_E$ ); *Lsb1*, *Lsb2*, *Lsb3*, *Ls4*, *Lsb5*, *Lsb6*, *Lsb7*, *Lsb8*, *Lsb9* — обозначение популяций

Таблица 2.

РАСЧЕТ КОЭФФИЦИЕНТА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ОРИГИНАЛЬНОСТИ (КГОр) 7 ПОПУЛЯЦИЙ  
*P. tremula* НА ОСНОВАНИИ ПОЛИМОРФИЗМА ISSR-PCR МАРКЕРОВ

	Исходная матрица присутствия/отсутствия ISSR-PCR маркеров в популяциях							«Взвешенные» на основе частоты встречаемости в выборке значения присутствия/отсутствия ISSR-PCR маркеров							Σ	КГОр =Σ/N
	1800	1450	1340	900	720	690	n	Поп.	1800	1450	1340	900	720	690		
Поп.																
<i>Ptr1</i>	0	0	0	0	0	1	...	<i>Ptr1</i>	0,25	0,66	1	2,3	0,6	0,5	...	
<i>Ptr2</i>	0	0	0	1	0	1	...	<i>Ptr2</i>	0,25	0,66	1	0,3	0,6	0,5	...	
<i>Ptr3</i>	0	0	1	1	1	0	...	<i>Ptr3</i>	0,25	0,66	1	0,3	1	4	...	
<i>Ptr4</i>	1	1	1	1	0	1	...	<i>Ptr4</i>	4	1,5	1	0,43	0,6	0,5	...	
<i>Ptr5</i>	1	1	1	1	0	0	...	<i>Ptr5</i>	4	1,5	1	0,43	0,6	4	...	
<i>Ptr6</i>	0	0	0	0	1	1	...	<i>Ptr6</i>	0,25	0,66	1	2,33	1	0,5	...	
<i>Ptr7</i>	0	0	0	1	1	1	...	<i>Ptr7</i>	0,25	0,66	1	0,43	1	0,5	...	
К-во «1»	2	4	5	7	4	8	...	К-во «1»	2	4	5	7	4	8	...	
К-во «0»	8	6	5	3	6	2	...	К-во «0»	8	6	5	3	6	2	...	
Вес «1»	4	1,5	1	0,43	1,5	0,25	...	Вес «1»	4	1,5	1	0,43	1	0,5	...	
Вес «0»	0,25	0,66	1	2,33	0,66	4	...	Вес «0»	0,25	0,66	1	2,33	0,6	4	...	

Примечание: Σ — сумма «весов» всех ISSR-PCR маркеров для каждой популяции, КГОр=Σ/N — коэффициент генетической оригинальности популяции как частное полученной суммы и количества проанализированных ISSR-PCR маркеров каждой популяции.

По сведениям В. П. Путенихина и его соавторов [13] в «пермско–камской предуральской» изолированной популяций лиственницы Сукачева в Прикамье на основании полиморфизма изоферментов установлен повышенный по сравнению с другими районами распространения уровень генетической изменчивости [13]. С применением микросателлитов у *L. sibirica*, произрастающей на юге Красноярского края, установлено, что именно полиморфными были 91,3% локусов [28].

У 9 обследованных популяций лиственницы сибирской большей равномерностью рассредоточения частот аллелей обладала *Lsb5* ( $\mu_r=1,774$ ), а наименьшей — *Lsb7* ( $\mu_r=1,626$ ). В отличии от *P. tremula* показатель  $h_r$  у всех 9 популяций *L. sibirica* меньше 0.3; то есть они обладают низким содержанием крайних морф и равновесной структурой разнообразия. Наименьшие значения анализируемого показателя подсчитаны в *Lsb5* ( $h_r = 0,113$ ), а самые большие — в *Lsb7* ( $h_r=0,187$ ), поэтому она и наименее равновесна. Показателя  $h_r$  также установлен на основании полиморфизма локуса 4CL1-363 (ген 4-coumarate-CoA ligase, ID NCBI LOC18435511) у *L. sibirica* [6]. В качестве морф приняты гаплотипы. Закономерности структуры разнообразия популяций *L. sibirica*, обнаруженные на основании параметров ISSR–PCR маркеров и подсчитанные посредством  $h_r$ , удостоверены на данных рассмотрения SNP–маркеров. В итоге, из проанализированных характеристик генетического разнообразия на основе данных из 16 популяций 2-х видов на Урале своеобразие генофондов популяций может проиллюстрировать лишь только один из показателей — число оригинальных аллелей. Из внутренних характеристик разнообразия популяций для выявления оригинальности генофондов можно отметить показатель  $\mu$ , но он иллюстрирует о рассредоточении частот аллелей в популяции, не указывая на их специфику. Для выявления генетической оригинальности популяционных генофондов самый информативным считается коэффициент генетической оригинальности — КГО [8]. В зависимости от частоты встречаемости производят «взвешивание», в нашем случае, встречаемости аллелей. У «ординарных» популяций выявляется меньший КГО, так как у них комплект часто встречающихся в исследуемой группы аллелей. Наибольший КГО выявляется у популяций, которые имеют в своем составе редко встречающиеся в исследуемом районе аллели. Методика подсчета КГО разработана с применением маркеров с доминантным типом наследования и разрешает отметить базисные и своеобразные генофонды.

Для определения КГОр популяций древесных видов растений в общепринятую методику [8] были внесены модификации [9, 24], так как матрица составлена обязательно с учетом генотипов индивидуально всех изученных деревьев, а не для популяции в целом, как в общепринятой методике. При выполнении подсчетов по ней теряется индивидуальная информация о деревьях, которая принципиальна при исследовании древесных растений. В связи отмеченными модификациями в предоставленной работе КГО обозначен нами как КГОр, то есть КГО для древесных растений. В Таблице 2 представлен итоговый подсчет КГОр для 7 популяций тополя дрожащего. Самые большие КГОр обнаружены в популяциях осины: *Ptr4* (КГОр=2,450); *Ptr2* (КГОр=2,200), а меньшие — в *Ptr5* (КГОр=1,900). Для деления генофондов изученных популяционных систем осины по степени оригинальности (специфичности) предлагаются интервалы: с КГОр от 1,500 до 1,900 — типичный; с КГОр от 2,000 и выше — специфичный, но с учетом уникальных или оригинальных аллелей. Вследствие этого, популяция тополя дрожащего *Ptr5* (КГОр=1,900) располагает обычным (базовым) генофондом, а популяции *Ptr4* (КГОр=2,450) и *Ptr2* (КГОр=2,200) — своеобразным



генофондом. Высочайшие КГОр подтверждают присутствие в генофонде редких для района изысканий аллелей, их большого содержания и указывают на специфичность генофонда.

Популяции же с наименьшим КГОр имеют невысокие частоты и содержание редких аллелей, что указывает на наличие в популяции базисного генофонда. У *L. sibirica* самые большие КГОр выявлены в популяция *Lsb5* (КГОр=1,171); а еще в ней же обнаружены оригинальные аллели [27]. Эта 5 популяция находится в западной части Пермского края и на значительном расстоянии от иных изученных популяций. Вполне вероятно, вследствие этого в ней и собраны нетипичные для района изысканий аллели. Меньший КГОр подсчитан у *Lsb4* (КГОр=0,587). Она обладает базисным для района изысканий генофондом. Эта популяция располагается на севере Пермского края, в центре региона среднетаежных лесов, который занимает большие территории с почти непрерывным ареалом и практически не затронут влиянием человека. Вполне вероятно, это и служит одним из факторов типичности генофонда *Lsb4*. В рассматриваемой популяции не найдены оригинальные аллели.

Наконец, для шкалирования генофондов лиственницы сибирской, то есть ее западной расы, по степени их оригинальности (специфичности) в районе изучения предложены такие интервалы: с КГОр от 0,580 до 0,930 — типичный; с КГОр от 0,930 и выше — специфичный. Не считая этого, при выявлении специфики предусматриваются присутствие оригинальных аллелей, обнаруженных с применением всевозможных типов маркеров. К примеру, в популяции *Lsb7* с КГОр=0,703 раньше было установлено наибольшее число (5) оригинальных SNP-маркеров [6], вследствие этого генофонд этой популяции возможно отнести к специфическим.

Как показано на 16 популяций 2-х видов растений, пределы значений КГОр для определения типичности/специфичности генотипов отличаются для различных видов растений и их нужно подсчитать для любого вида отдельно в районе изучения.

В итоге, предложен принцип отбора объектов для сохранения генофондов, а именно рекомендовано выбирать популяции как с базовыми (типичными) генофондами, как у *P. tremula* популяция *Ptr5* (КГОр=1,900) и у *L. sibirica* популяция *Lsb4* (КГОр=0,587); кроме этого, и со специфичными генофондами, как у *P. tremula* популяция *Ptr4* (КГОр=2,450); *Ptr2* (КГОр=2,200) и у *L. sibirica* популяции *Lsb5* (КГОр=1,171).

#### Заключение

Молекулярно-генетическое изучение 7 популяций *P. tremula*, выявил 119 ISSR-PCR маркеров. Для *P. tremula* свойственен высокий уровень генетического разнообразия ( $P_{95}=0,731$ ;  $H_E=0,129$ ). Более генетически разнообразна *Ptr4* ( $P_{95}=0,790$ ;  $H_E=0,138$ ), а менее — *Ptr5* ( $P_{95}=0,565$ ;  $H_E=0,120$ ). По 1 оригинальному аллелю найдено в популяциях *Ptr1*, *Ptr4*, *Ptr6*, *Ptr7*, а в популяциях *Ptr2*, *Ptr3*, *Ptr5* — по 5. Частоты аллелей более равномерно распределены в *Ptr2* ( $\mu_r=0,598$ ), а наименее равномерно — в *Ptr5* ( $\mu_r=0,301$ ).

При исследовании 9 популяций *L. sibirica* выявлено 121 ISSR-PCR маркера. Доля полиморфизма маркеров, и ожидаемая гетерозиготность ( $P_{95}=0,951$ ;  $H_E=0,202$  выше у этого вида), чем у *P. tremula*. Популяции *L. sibirica* еще отличаются по сведениям о генетическом разнообразии: в популяции *Lsb5* эти характеристики высочайшие ( $P_{95}=0,868$ ;  $H_E=0,225$ ), а в популяция *Lsb7* — меньшие ( $P_{95}=0,741$ ;  $H_E=0,171$ ). В популяциях *L. sibirica* *Lsb3*, *Lsb5*

выявлено по 1 оригинальному, а в популяции *Lsb6* — 2 оригинальных ISSR-PCR маркера. При этом, равномерным расщеплением частот аллелей характеризуется *Lsb5* ( $\mu_r=1,747$ ), а наименее равномерным — в *Lsb7* ( $\mu_r=1,626$ ). Впрочем, данный показатель показывает лишь только на мерность расщепления частот аллелей в популяции, не демонстрируя их специфичность.

В заключение, для сохранения описанных генофондов популяций изученных 2-х видов отобраны популяции как с типичными генофондами, как у *P. tremula* популяция *Ptr5* (КГОр=1,900) и у *L. sibirica* популяция *Lsb4* (КГОр=0,587); и еще и со специфическими генофондами, такими как у *P. tremula* популяция *Ptr4* (КГОр=2,450) и *Ptr2* (КГОр=2,200), а у *L. sibirica* популяция *Lsb5* (КГОр=1,171). Специфику генофондов дополняют еще и оригинальные (уникальные) аллели. Изучение генетической изменчивости природных популяций древесных растений и оценка генетической оригинальности их генофондов также нужны для рекомендаций мер охраны по восстановлению и дальнейшему сохранению генофондов на популяционном уровне.

#### Список литературы:

1. Hamrick J. L., Godt M. J. W., Sherman-Broyles S. L. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species // Population genetics of forest trees. Springer, Dordrecht, 1992. С. 95-124.
2. Politov D. V. et al. Microsatellite analysis of clonality and individual heterozygosity in natural populations of aspen *Populus tremula* L.: identification of highly heterozygous clone // Russian journal of genetics. 2016. Т. 52. №6. С. 636-639.
3. Petit R. J., Hampe A. Some evolutionary consequences of being a tree // Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst. 2006. Т. 37. С. 187-214.
4. Янбаев Р. Ю., Деген Б., Янбаев Ю. А., Габитова А. А., Редькина Н. Н. Микросателлитные локусы: эффективный инструмент решения практических вопросов восстановления дубрав на Южном Урале // Вестник Башкирского государственного аграрного университета. 2017. №1. С. 115-118.
5. Ветчинникова Л. В., Титов А. Ф., Кузнецова Т. Ю. Карельская береза: биологические особенности, динамика ресурсов и воспроизводство. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2013. 312 с.
6. Nechaeva Yu. S., Julanov A. A., Boronnikova S. V., Prishnivskaya, Y. V. Nucleotide polymorphisms of candidate genes of adaptive significance in the ural populations of *Larix sibirica* Ledeb // Russian Journal of Genetics. 2017. Т. 53. №5. С. 587-595.
7. Salojarvi J., Smolander O. P., Nieminen K., Rajaraman S., Safronov O., Safdari P., Rastas P. Genome sequencing and population genomic analyses provide insights into the adaptive landscape of silver birch // Nature genetics. 2017. Т. 49. №6. С. 904.
8. Потокина Е. К., Александрова Т. Г. Методы классификации внутривидового разнообразия по результатам молекулярного маркирования // Фундаментальные и прикладные проблемы ботаники в начале XXI века. 2008. С. 62-65.
9. Боронникова С. В. Молекулярно-генетический анализ генофондов редких и исчезающих видов растений Пермского края: автореф. дисс. ... д-ра биол. наук: 03.00.15. Уфа: Уфимский научный центр РАН, 2009. 44 с.
10. Бобошина И. В., Боронникова С. В. Оценка генетической оригинальности сортов пшеницы мягкой, возделываемых в Пермском крае и в Республике Башкортостан //

Материалы V Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины». Ростов-на-Дону, 2013. С. 427–428.

11. Нестерук Л. В., Макарова Н. Н., Свищева Г. Р., Столповский Ю. А. Оценка генетического разнообразия Романовской породы овец с помощью коэффициента генетической оригинальности на основании данных ISSR-фингерпринтинга // *Генетика*. 2015. Т. 51. №7. С. 847–852.

12. Tuskan G. A. et al. The genome of black cottonwood, *Populus trichocarpa* (Torr. & Gray) // *Science*. 2006. Т. 313. №5793. С. 1596-1604..

13. Путенихин В. П., Фарушкина Г. Г., Шигапов З. Х. Лиственница Сукачева на Урале. Изменчивость и популяционно-генетическая структура. М.: Наука, 2004. 276 с.

14. 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– 71.

15. Дылис Н. В. Сибирская лиственница. Материалы к систематике, географии и истории. М.: Изд-во МОИП, 1947. 137 с.

16. Шигапов З. Х., Шигапова А. И., Уразбахтина К. А. Генетическая изменчивость и популяционная структура лиственницы Сукачева на Урале // *Вестник Оренбургского государственного университета*. 2009. №6. С. 438–440.

17. Semerikov V. L. Semerikova S. A., Polezhaeva M. A., Kosintsev P. A., Lascoux, M. Southern montane populations did not contribute to the recolonization of West Siberian Plain by Siberian larch (*Larix sibirica*): A range-wide analysis of cytoplasmic markers // *Molecular Ecology*. 2013. Т. 22. №19. С. 4958-4971.

18. Rogers S. O., Bendich A. J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // *Plant Molecular Biology*. 1985. Т. 1. №19. С. 69–76.

19. Бельтюкова Н. Н., Нечаева Ю. С., Пришнивская Я. В. и др. Оптимизация методики выделения ДНК некоторых хвойных видов растений Пермского края // *Материалы международной конференции «Синтез знаний в естественных науках. Рудник будущего: проекты, технологии, оборудование»*. Пермь, 2011. С. 278–282.

20. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification // *Genomics*. 1994. Т. 20. №2. С. 176-183.

21. Williams J. G. K. et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers // *Nucleic acids research*. 1990. Т. 18. №22. С. 6531-6535.

22. Nei M. *Molecular Evolutionary Genetics*. New York: Columbia University Press, 1987. 615 с.

23. Животовский Л. А. Показатель внутривидового разнообразия // *Журнал общей биологии*. 1980. Т. 41. №6. С. 828–836.

24. Светлакова Т. Н. Молекулярно-генетический анализ и оценка состояния генофондов популяций *Populus tremula* L. в Пермском крае: автореф. дисс. канд. биол. наук: 03.02.07. Уфа, 2012. 20 с.

25. Светлакова Т. Н., Бобошина И. В., Нечаева Ю. С. и др. Генетическая дифференциация популяций *Populus tremula* L. в Пермском крае на основании полиморфизма ISSR-маркеров // *Аграрный Вестник Урала*. 2012. Т. 95. №3. С.11–13.

26. Lexer C., Fay M. F., Joseph J. A. et al. Barrier to gene flow between two ecologically divergent *Populus species*, *P. alba* (white poplar) and *P. tremula* (European aspen): the role of ecology and life history in gene introgression // *Molecular Ecology*. 2005. №14. С. 1045–1057.

27. Нечаева Ю. С. Молекулярно-генетический анализ природных популяций западной расы *Larix sibirica* Ledeb. (*Larix sukasczewii* Dyl.) на Среднем и Северном Урале: автореф. дисс. канд. биол. наук: 03.02.07. Уфа, 2015. 24 с.

28. 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. <http://conf.sfu-kras.ru/sites/mn2013/section093.html>

*References:*

1. Hamrick, J. L., Godt, M. J. W., & Sherman-Broyles, S. L. (1992). Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. In *Population genetics of forest trees* (95-124). Springer, Dordrecht.

2. Politov, D. V., Belokon, M. M., Belokon, Y. S., Polyakova, T. A., Shatokhina, A. V., Mudrik, E. A., ... & Shestibratov, K. A. (2016). Microsatellite analysis of clonality and individual heterozygosity in natural populations of aspen *Populus tremula* L.: identification of highly heterozygous clone. *Russian journal of genetics*, 52(6), 636-639.

3. Petit, R. J., & Hampe, A. (2006). Some evolutionary consequences of being a tree. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 37, 187-214.

4. Yanbaev, R. Yu., Degen, B., Yanbaev, Yu. A., Gabitova, AA, & Redkina, NN (2017). Microsatellite loci: an effective tool for solving practical issues of restoration of oak groves in the Southern Urals. *Bulletin of the Bashkir State Agrarian University*, (1), 115-118.

5. Vetchinnikova L. V., Titov A.F., Kuznetsova T.Yu. Karelian birch: biological features, dynamics of resources and reproduction. Petrozavodsk: Karelian Research Centre, 2013. 312 p.

6. Nechaeva, Y. S., Julanov, A. A., Boronnikova, S. V., & Prishnivskaya, Y. V. (2017). Nucleotide polymorphisms of candidate genes of adaptive significance in the ural populations of *Larix sibirica* Ledeb. *Russian Journal of Genetics*, 53(5), 587-595.

7. Salojärvi, J., Smolander, O. P., Nieminen, K., Rajaraman, S., Safronov, O., Safdari, P., ... & Rastas, P. (2017). Genome sequencing and population genomic analyses provide insights into the adaptive landscape of silver birch. *Nature genetics*, 49(6), 904.

8. Potokina, E. K., & Alexandrova, T. G. (2008). Methods for classifying intraspecific diversity based on the results of molecular marking. In *Fundamental and Applied Problems of Botany at the Beginning of the 21st Century* (pp. 62-65).

9. Boronnikova, S. V. (2009). Molecular genetic analysis of rare and endangered plant species gene pools in Perm Krai: thesis of doctor of biological Sciences: 03.00.15. Ufa: Ufa Research Center, 44 p.

10. Boboshina, I. V., & Boronnikova, S. V. (2013). Evaluation of genetic originality of soft wheat varieties cultivated in Perm Krai and the Republic of Bashkortostan. Materials of the V international scientific-practical conference "Actual problems of biology, nanotechnology and medicine". Rostov-on-don, 427–428.

11. Nesteruk, L. V., Makarova, N. N., Svisheva, G. R., & Stolpovsky, Yu. A. (2015). Evaluation of genetic diversity of Romanov breed of sheep with the help of the genetic originality coefficient on the basis of ISSR-fingerprinting data. *Genetics*, 51 (7), 847-847.

12. Tuskan, G. A., Difazio, S., Jansson, S., Bohlmann, J., Grigoriev, I., Hellsten, U.,... & Schein, J. (2006). The genome of black cottonwood, *Populus trichocarpa* (Torr. & Gray). *science*, 313(5793), 1596-1604.

13. Putenikhin, V. P., Farukshina, G. G., & Shigapov, Z. Kh. (2004). Sukacheva's Larix in the Urals. Variability and population genetic structure. T.: Science, 276.
14. Semerikov, V. L., Iroshnikov, A. I., & Lasko, M. (2007). Structure of the variability of mitochondrial DNA and the postglacial history of Siberian larch (*Larix sibirica* Ledeb.). *Ecology*, (3), 163-171.
15. Dylis, N. V. (1947). Siberian larch. Materials for taxonomy, geography and history. M.: MOIP, 194 (7), 138.
16. Shigapov, Z. Kh., Shigapova, A. I., & Urazbakhtina, K. A. (2009). Genetic variability and population structure of larch Sukachev in the Urals. *Bulletin of the Orenburg State University*, (6), 438-440.
17. Semerikov, V. L., Semerikova, S. A., Polezhaeva, M. A., Kosintsev, P. A., & Lascoux, M. (2013). Southern montane populations did not contribute to the recolonization of West Siberian Plain by Siberian larch (*Larix sibirica*): A range-wide analysis of cytoplasmic markers. *Molecular ecology*, 22(19), 4958-4971.
18. 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.
19. Beltukova, N. N., Nechaeva, Yu. S., & Prishnivskaya, Ya. V. et. al. (2011). Optimization of DNA extraction methods for some coniferous plants in Perm Krai. Materials of the international conference " Synthesis of knowledge in natural Sciences. Mine of the future: projects, technologies, equipment". Perm, 278-282
20. Zietkiewicz, E., Rafalski, A., & Labuda, D. (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20(2), 176-183.
21. 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.
22. Nei, M. (1987). *Molecular Evolutionary Genetics*. New York: Columbia University Press, 615
23. Zhivotovskii, L. A. (1980). The index of intrapopulation diversity. *Biology Bulletin Reviews*, 41(6), 828-836.
24. Svetlakova, T. N. (2012). Molecular genetic analysis and estimation of population gene pools *Populus tremula* L. in Perm krai: thesis of candidate of biological Sciences: 03.02.07. Ufa, 20
25. Svetlakova, T. N., Boboshina, I. V., Nechaeva, Yu. S., & Boronnikova, S. V. (2012). Genetic differentiation of *Populus tremula* L. populations in the Perm Territory on the basis of polymorphism of ISSR markers. The agrarian messenger of the Urals, (3), 11-13.
26. Lexer, C., Fay, M. F., Joseph, J. A., Nica, M. S., & Heinze, B. (2005). Barrier to gene flow between two ecologically divergent *Populus* species, *P. alba* (white poplar) and *P. tremula* (European aspen): the role of ecology and life history in gene introgression. *Molecular ecology*, 14(4), 1045-1057.
27. Nechaeva, Yu. S. (2015). Molecular genetic analysis of natural populations of the Western race *Larix sibirica* Ledeb. (*Larix suckascezewii* Dyl.) in the Middle and Northern Urals: thesis of candidate of biological Sciences: 03.02.07. Ufa, 24

28. Lisina, A. N. (2013). The genetic variability of populations of Siberian larch based on the data of ISSR-PCR analysis. Youth and science: proceedings of the IX all-Russian scientific and technical conference. Krasnoyarsk: Siberian federal university, <http://conf.sfu-kras.ru/sites/mn2013/section093.html>

*Работа поступила  
в редакцию 22.04.2018 г.*

*Принята к публикации  
28.04.2018 г.*

---

*Ссылка для цитирования:*

Боронникова С. В., Васильева Ю. С., Пришнивская Я. В. Оценка генетической оригинальности природных популяций двух видов древесных растений на Урале // Бюллетень науки и практики. 2018. Т. 4. №5. С. 46-59. Режим доступа: <http://www.bulletennauki.com/boronnikova> (дата обращения 15.05.2018).

*Cite as (APA):*

Boronnikova, S., Vasileva, Yu., & Prishnivskaya, Ya. (2018). Estimation of genetic originality of natural populations of two species of woody plant on Ural. *Bulletin of Science and Practice*, 4(5), 46-59.