



УДК 582.475.2:575.174.015.3(1-924.9+234.85)

Генетическое разнообразие, генетическая структура и дифференциация популяций лиственницы сибирской на Урале

Ю. С. Васильева, Я. В. Сбоева*, С. В. Боронникова, Н. В. Чертов, Н. Н. Бельтюкова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет», ул. Букирева, д. 15, г. Пермь, 614990, Россия.

E-mail: yana_prishnivskaya@mail.ru*

* Автор для переписки

Ключевые слова: генетическая структура, генетическое разнообразие, популяции, смоляные кислоты, ISSR-маркеры, *Larix sibirica* Ledeb.

Аннотация. Изучены 10 популяций *Larix sibirica* Ledeb., расположенные на Урале. Они характеризуются высокими показателями генетического разнообразия ($P_{95} = 0,951$; $H_E = 0,202$; $n_e = 1,471$). Анализ генетической структуры изученных популяций *L. sibirica* показал, что показатель подразделенности популяций (G_{ST}) равен 0,297, большая часть генетического разнообразия десяти изученных популяций *L. sibirica* сосредоточена внутри популяций (70,3 %). Изученные популяции *L. sibirica* дифференцированы на четыре группы в соответствии с высотной-широтной зональностью региона исследований. Результаты исследования генетической структуры популяций лиственницы сибирской, проведенные с использованием различных методов (STRUCTURE 2.3.4, анализ главных координат – PCoA, SAMOVA 2.0), подтверждают подразделение десяти изученных популяций *L. sibirica* на горные (**Ls1, Ls2, Ls6**), предгорные (**Ls9, Ls10**), равнинные североуральские (**Ls3, Ls4, Ls5**) и равнинные среднеуральские (**Ls7, Ls8**). Тем не менее, генетическая индивидуальность девяти изученных популяций *L. sibirica* доказана с использованием программы STRUCTURE. Наименьшее генетическое расстояние отмечено между популяциями **Ls3/Ls4** ($D_N = 0,028$) и **Ls1/Ls2** ($D_N = 0,034$), наибольшее ($D_N = 0,263$) – между популяциями **Ls8** и **Ls9**. Генетическое расстояние не всегда отражает географическое расположение изученных популяций. На дендрограмме в некоторых случаях ближе оказались популяции, расположенные на большем географическом расстоянии друг от друга (**Ls1** и **Ls10**), чем пространственно более близкие (**Ls1** и **Ls3**). Исследование генетического разнообразия и дифференциации популяций хвойных видов растений важно для изучения содержания их смоляных кислот в разных условиях произрастания, в том числе и для содержания абсцизовой кислоты, характерной для *L. sibirica*, у деревьев с разными генотипами.

Genetic diversity, genetic structure and differentiation of Siberian larch populations in the Urals

Yu. S. Vasilyeva, Ya. V. Sboeva, S.V. Boronnikova, N. V. Chertov, N. N. Beltyukova

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Perm State University”, Bukireva St., 15, Perm, 614990, Russian Federation

Keywords: abscisic acid, genetic diversity, ISSR-markers, *Larix sibirica* Ledeb, populations, resin acids.

Summary. We studied 10 populations of *Larix sibirica* Ledeb. located in the Urals. They are characterized by high rates of genetic diversity ($P_{95} = 0.951$; $H_E = 0.202$; $n_e = 1.471$). An analysis of the genetic structure of the studied *L. sibirica* populations showed that the population subdivision index (G_{ST}) is 0.297, most of the genetic diversity of the ten studied *L. sibirica* populations is concentrated within the populations (70.3 %). The studied populations of *L. sibirica*

are differentiated into four groups in accordance with the altitudinal-latitude zonation of the studied region. The results of a study of the genetic structure of Siberian larch populations, carried out using various methods (STRUCTURE 2.3.4, analysis of the main coordinates – PCoA, SAMOVA 2.0) confirm the division of ten studied *L. sibirica* populations into mountain ones (*Ls1*, *Ls2*, *Ls6*), foothill (*Ls9*, *Ls10*), Plain North Ural (*Ls3*, *Ls4*, *Ls5*) and Plain Central Ural (*Ls7*, *Ls8*). However, the genetic identity of the nine studied *L. sibirica* populations has been proven using the STRUCTURE program. The smallest genetic distance was observed between the populations *Ls3* / *Ls4* ($D_N = 0.028$) and *Ls1* / *Ls2* ($D_N = 0.034$), the largest one ($D_N = 0.263$) was observed between the populations *Ls8* and *Ls9*. Genetic distance does not always reflect the geographical location of the populations studied. In some cases, populations located at a greater geographical distance from each other (*Ls1* and *Ls10*) were closer on the dendrogram than spatially close ones (*Ls1* and *Ls3*). The study of the genetic diversity and differentiation of populations of coniferous plant species is important for studying the content of their resin acids under different growing conditions, including the content of abscisic acid characteristic of *L. sibirica* in trees with different genotypes.

Введение

Изучение генетического разнообразия, внутри- и межвидовой дифференциации хвойных видов растений, включая и род *Larix* (лиственница), имеющих большое биосферное и ресурсное значение, является одной из важных задач популяционной биологии (Oreshkova, 2013). Хвойные леса Российской Федерации составляют половину мировых запасов. Основной лесообразующей породой является *Larix sibirica* Ledeb. – лиственница сибирская (Lesnoy plan ..., 2018). Древесина этого растения обладает множеством выгодных качеств и универсальна в своем применении. Помимо своих физико-механических свойств, которые ценятся в строительстве, лиственница содержит ряд полезных веществ, являющихся перспективным сырьем для лесохимической промышленности. В древесине находятся биологически активные вещества, такие как терпеноиды, стероиды, алкалоиды, флавоноиды, комплекс полисахаридов (холоцеллюлоза) и прочее (Terentyeva, 2015).

Ежегодно в процессе заготовок на предприятиях деревообрабатывающей и целлюлозно-бумажной промышленности образуется до 45 млн м³ коры и древесины в виде отходов. Древесина и кора по ряду физических и химических свойств являются ценнейшими объектами для переработки. Исследование генетического разнообразия и дифференциации популяций *L. sibirica* важно также для изучения содержания в деревьях смоляных кислот в разных условиях произрастания, в том числе и абсцизовой кислоты, характерной для *L. sibirica*.

По данным многолетних исследований (Dylis, 1947; Igoshina, 1963; Putenikhin, Martinsson, 1995), на Урале, в том числе и в Пермском крае, ярко выражена фрагментарность насаждений лиственницы. Кроме того, в данном регионе рас-

полагается «безлиственничный язык» западного макросклона Уральских гор, отмечаемый на всех картах распространения вида (Kuznetsov, 1927; Dylis, 1947; Simak, 1979). Вместе с тем, именно в этой, выделенной В. П. Путенихиным с соавторами (Putenikhin et al., 2004) в качестве «пермско-камской предуральской», популяции авторами отмечен наиболее высокий уровень разнообразия вида на Урале, установленный с помощью комплекса данных морфологического и изоферментного анализов. На межпопуляционную генетическую дифференциацию лиственницы сибирской в разнообразных лесорастительных условиях Урала оказывает влияние комплекс таких факторов, как изоляция и естественный отбор. Пространственно-генетическая структура популяций также во многом определяется историей формирования ареала вида (Polezhayeva, Semerikov, 2009; Zhang, 2013; Adrianova, 2014).

В связи с этим изучение генетического разнообразия и генетической структуры популяций *L. sibirica* западного макросклона Уральских гор на основе анализа ДНК-маркеров перспективно 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.

Целью данной работы являлось изучение генетического разнообразия, генетической структуры и дифференциации изученных популяций *L. sibirica* в условиях их произрастания на Урале.

Материал и методы

Объектами исследований являлись 10 популяций *Larix sibirica* (сем. Pinaceae), расположенные на Урале. Восемь из изученных популяций *L. sibirica* располагаются в следующих районах

Пермского края: в Красновишерском – в государственном заповеднике «Вишерский» (*Ls1*, *Ls2*) и около г. Красновишерск (*Ls3*); в Чердынском (*Ls4*), в Гаинском (*Ls5*), в Добрянском (*Ls7*), в Осинском (*Ls8*), в Суксунском (*Ls9*) р-нах, а также две популяции находятся в Свердловской области: вблизи г. Качканар (*Ls6*) и пос. Билимбай (*Ls10*). Изученные популяции располагаются во всех ботанико-географических районах Пермского края и двух Свердловской области

(табл. 1). Сбор материала осуществлялся с деревьев, расположенных не ближе, чем 100–150 м друг от друга. Географические расстояния между популяциями изменяются в больших пределах: от минимального – 30 км (популяции *Ls1* и *Ls2*, располагающиеся на склонах разных хребтов Северного Урала) до максимального – 508 км между наиболее удаленными популяциями *Ls5* и *Ls10*.

Таблица 1

Изученные популяции *Larix sibirica* Ledeb.

Популяция	Расположение	Ботанико-географический район	Количество проанализированных образцов	Координаты	Высота над ур. м.
<i>Ls1</i>	Заповедник «Вишерский», западный склон хребта Тулымский камень	Северо- и среднетаежных кедрово-еловых горных лесов	30	N61.1130°, E58.8899°	680–916
<i>Ls2</i>	Заповедник «Вишерский», юго-восточный склон горы Ишерим	Северо- и среднетаежных кедрово-еловых горных лесов	30	N61.1178°, E59.1537°	730–810
<i>Ls3</i>	Красновишерский р-н, 10 км на юго-восток от г. Красновишерск	Средне- и южнотаежных предгорных пихтово-еловых и елово-пихтовых лесов	30	N60.3264°, E57.0931°	190–200
<i>Ls4</i>	Чердынский р-н, 5 км на север от д. Бондюг	Среднетаежных с преобладанием Камско-Печерско-Западноуральских пихтово-еловых лесов	30	N60.5147°, E55.9203°	190–200
<i>Ls5</i>	Гаинский р-н, 8 км на север от с. Сёйва	Среднетаежных с преобладанием Североевропейских сосновых и еловых лесов	30	N60.1739°, E53.6213°	192–207
<i>Ls6</i>	Свердловская область, восточный склон горы Качканар	Среднетаежных пихтово-еловых и елово-кедровых зеленомошных, кустарничковых и травяно-кустарничковых лесов	30	N58.7824°, E59.4068°	480–700
<i>Ls7</i>	Добрянский р-н, ООПТ «Полазненский бор», 500 м на северо-восток от д. Заборье	Южнотаежных пихтово-еловых с преобладанием осиновых и березовых лесов на месте южнотаежных темнохвойных лесов	30	N58.2998°, E56.3664°	196–207
<i>Ls8</i>	Осинский р-н, 4,5 км на северо-запад от д. Монастырки	Широколиственно-елово-пихтовых лесов	28	N57.3430°, E55.2568°	210–230

Таблица 1 (окончание)

Популяция	Расположение	Ботанико-географический район	Количество проанализированных образцов	Координаты	Высота над ур. м.
Ls9	Суксунский р-н, ООПТ «Лиственничная роща», 1 км от д. Бор	Островной Кунгурской лесостепи	30	N57.0688°, E57.5653°	240–250
Ls10	Свердловская область, 1,5 км восточнее пос. Билимбай	Южнотаежных пихтово-еловых и елово-пихтовых с липой зеленомошных, травяно-кустарничковых лесов	30	N56.9499°, E59.8483°	290–350

Для проведения молекулярно-генетического анализа в каждой из десяти популяций собрана хвоя индивидуально с 28–30 деревьев. Для выделения ДНК использовали методику С. Роджерса (Rogers, 1985), модифицированную (Nechaeva et al., 2011) с добавлением в качестве сорбента PVPP (polyvinylpyrrolidone). Навеска растительного материала составляла 20 мг. Для определения концентрации и качества ДНК применяли прибор Spectrofotometr™ NanoDrop 2000 («Thermo scientific», США), а также электрофорез в 2%-м агарозном геле. Для проведения ПЦР концентрацию ДНК каждой пробы выравнивали до 10 нг/мкл.

Молекулярно-генетический анализ проведен с использованием ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) метода анализа полиморфизма ДНК. Для полимеразной цепной реакции реакционная смесь объемом 25 мкл содержала: 2 единицы Taq-полимеразы («Силекс М», Россия); 2,5

мкл стандартного 10× буфера для ПЦР («Силекс М», Россия); 25 пМ праймера («Синтол», Россия); 2,5 mM MgCl₂ («Силекс М», Россия); 0,25 mM dNTP («Fermentas», Литва); 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 PCR System 9700 («Applied Biosystems», США) по стандартной для ISSR-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.; температура 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 46 °С до 56 °С (табл. 2).

Таблица 2

Характеристика ISSR-праймеров для *Larix sibirica* Ledeb.

Праймер		Температура отжига (°С)	Число полиморфных локусов
M3	(AC) ₈ CT	54	24
X10	(AGC) ₆ C	64	19
X11	(AGC) ₆ G	64	17
ISSR-8	(GAG) ₆ C	56	23
CR-215	(CA) ₆ GT	56	34

Для анализа продуктов амплификации их разделяли электрофорезом в 1,7%-м агарозном геле в 1× TBE буфере (Tris-Borate-EDTA), окрашивали бромистым этидием и фотографировали в проходящем ультрафиолетовом свете в

системе гель-документации GelDoc XR («Bio-Rad», США). Для определения длины 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 проанализирован полиморфизм ISSR-маркеров у 298 деревьев с пятью праймерами, то есть 1490 проб. Для проверки достоверности полученных результатов постановку ПЦР повторяли не менее трех раз (Nechaeva et al., 2013).

Для количественной оценки генетического полиморфизма и определения генетической структуры изученных популяций полученные данные были представлены в виде матрицы бинарных признаков, в которой наличие или отсутствие в спектрах одинаковых по размеру фрагментов рассматривалось, соответственно, как состояние 1 или 0. При этом учитывали только воспроизводимые в повторных экспериментах фрагменты, полиморфизм по интенсивности не брали в расчет.

Проведен компьютерный анализ молекулярно-генетического полиморфизма ДНК с помощью общепринятых компьютерных программ POPGENE 1.31 (Yeh et al., 1999) и специализированного макроса GenAlEx6 (Peakall, Smouse, 2006) для MS-Excel с определением доли (P_{95}) полиморфных локусов (Williams et al., 1990), эффективного (n_e) числа аллелей (Kimura et al., 1964), ожидаемой (H_e) гетерозиготности (Nei, 1987). В 10 популяциях *L. sibirica* проанализирован полиморфизм 36 654 ISSR-маркеров. Для описания генетической структуры популяций были использованы следующие параметры (Nei, 1975): ожидаемая доля гетерозиготных генотипов (H_T) во всей популяции, как мера общего генного разнообразия; ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в субпопуляции (H_S), как мера ее внутривидового разнообразия; доля межвидового генетического разнообразия в общем разнообразии или показатель подразделенности популяций (G_{ST}), а также пакет AMOVA (Analysis of Molecular Variance) с вычислением Φ_{PT} -индекса (показателя подразделенности популяций) с использованием 1000 раундов премутаций (Assoumane et al., 2012).

Для определения корреляции между параметрами генетической дифференциации популяций (D_N и Φ_{PT}) и географическими расстояниями был применен общепринятый тест Мантела (Mantel, 1967). Корреляцию определяли как в общей группе популяций, так и среди двух групп популяций: 1) горные, куда входят популяции *Ls1*, *Ls2*, *Ls6*, *Ls9* и *Ls10*, расположенные вдоль Среднего и Северного Урала на высоте от 250 до 900 м над ур. м.; 2) равнинные популяции (*Ls3*, *Ls4*, *Ls5*, *Ls7* и *Ls8*), расположенные на высоте

местности 190–200 м над ур. м. Также проведен анализ зависимости генетической дифференциации популяций и высоты их произрастания над уровнем моря в общей группе горных популяций и среди горных и равнинных популяций, расположенных на широте Северного Урала (*Ls1*, *Ls2*, *Ls3*, *Ls4*, *Ls5*), так как на данном участке наблюдается наибольший градиент высотных уровней в исследуемом регионе, а географические расстояния сравнительно невелики.

Генетические расстояния между популяциями (D_N) определяли по формуле М. Нея и Ли (Nei, Li, 1979). На основе матрицы бинарных признаков была рассчитана матрица генетических расстояний (Nei, 1972), на основании которой невзвешенным парно-групповым методом (UPGMA – unweighted pair-group method using arithmetic average) были построены дендрограммы, отражающие степень сходства исследуемых популяций и деревьев по спектрам при помощи компьютерных программ Treecon 1.3b и POPGENE 1.31. Кластерный анализ изученных популяций был проведен с помощью программы STRUCTURE 2.3.4 (Falush et al., 2003), которая использует методы Монте Карло по схеме марковской цепи, что позволяет минимизировать неравновесие Харди-Вайнберга и неравенство по сцеплению локусов в кластерном анализе индивидов (Smulders et al., 2008). Количество кластеров (K) находилось в диапазоне от 1 до 12. Для визуализации результатов, их математического подтверждения на основе логарифма правдоподобия LnPD методами Evanno (Evanno et al., 2005) для определения наиболее вероятного числа генетических групп была использована веб-программа STRUCTURE Harvester (Earl et al., 2012). Данная веб-программа позволяет провести детекцию подходящего количества кластеров путем их индивидуального перебора. Было выполнено 5 прогонов анализа, каждый включал этап сбора данных, состоящий из 100000 итераций. Кроме того, для визуализации пространственно-генетической структуры популяций лиственницы сибирской была использована программа SAMOVA 2.0. (Spatial Analysis of Molecular Variance), которая реализует подход к определению групп географически близких популяций, максимально генетически дифференцированных друг от друга. Метод основан на имитации процедуры «отжига», направленной на максимизацию доли общей генетической дисперсии на основе различий между группами популяций (Dupanloup et al., 2002). Также был использо-

ван метод главных координат (PCoA – Principal Coordinate Analysis) реализованный в программе GenAlEx6 (Orlaci, 1978). Для определения корреляции между параметрами генетической дифференциации популяций и географическими расстояниями был применен общепринятый тест Мантела (Mantel, 1967).

Результаты

В изученных десяти популяциях *L. sibirica* на Урале установлен высокий уровень генетического разнообразия ($P_{95} = 0,951$; $H_E = 0,202$; $n_e = 1,471$), определенный на основании полиморфизма ISSR-маркеров. При этом самыми высокими показателями генетического разнообра-

зия характеризуется десятая (*Ls10*) популяция ($P_{95} = 0,871$; $H_E = 0,246$; $n_e = 1,418$), а наименее разнообразной оказалась популяция *Ls7* ($P_{95} = 0,741$; $H_E = 0,171$; $n_e = 1,292$). Анализ генетической структуры изученных популяций *L. sibirica* выявил, что ожидаемая доля гетерозиготных генотипов (H_T) на общую выборку составила 0,287, а ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в отдельной популяции по всем локусам (H_S) равна 0,202. Коэффициент подразделенности популяций (G_{ST}) показывает, что на межпопуляционную компоненту приходится 0,297 всего генетического разнообразия. Наибольшая дифференциация между популяциями *L. sibirica* установлена с использованием праймера CR-215 (табл. 3).

Таблица 3

Генетическая структура и дифференциация десяти изученных популяций *Larix sibirica* Ledeb.

ISSR-праймер	H_T	H_S	G_{ST}
M3	0,309 (0,025)	0,216 (0,013)	0,301
CR-215	0,237 (0,030)	0,151 (0,014)	0,364
ISSR-8	0,241 (0,026)	0,172 (0,014)	0,285
X10	0,303 (0,024)	0,227 (0,016)	0,250
X11	0,314 (0,020)	0,220 (0,013)	0,299
На общую выборку	0,287 (0,025)	0,202 (0,014)	0,297

Примеч.: H_T – ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в общей популяции; H_S – ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в отдельной популяции; G_{ST} – показатель подразделенности популяций; в скобках даны стандартные отклонения.

Значения попарных Φ_{PT} -генетических расстояний, выявленных с помощью пакета AMOVA, варьировали от 0,041 (*Ls3/Ls4*) до 0,468 (*Ls8 / Ls9*). Отличия генетических расстояний

между популяциями были статистически значимыми (табл. 4). На общую выборку *L. sibirica* индекс Φ_{PT} составил 0,304, что приблизительно соответствует значению $G_{ST} = 0,297$.

Таблица 4

Парные Φ_{PT} -генетические расстояния между изученными популяциями *Larix sibirica* Ledeb. по результатам анализа молекулярной изменчивости (AMOVA)

	<i>Ls1</i>	<i>Ls2</i>	<i>Ls3</i>	<i>Ls4</i>	<i>Ls5</i>	<i>Ls6</i>	<i>Ls7</i>	<i>Ls8</i>	<i>Ls9</i>	<i>Ls10</i>
<i>Ls1</i>	-	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
<i>Ls2</i>	0,079	-	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
<i>Ls3</i>	0,258	0,239	-	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
<i>Ls4</i>	0,285	0,261	0,041	-	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
<i>Ls5</i>	0,276	0,257	0,062	0,116	-	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
<i>Ls6</i>	0,151	0,157	0,219	0,257	0,224	-	0,001	0,001	0,001	0,001
<i>Ls7</i>	0,443	0,392	0,360	0,383	0,332	0,377	-	0,001	0,001	0,001
<i>Ls8</i>	0,464	0,430	0,385	0,404	0,345	0,409	0,138	-	0,001	0,001
<i>Ls9</i>	0,329	0,335	0,311	0,321	0,288	0,261	0,456	0,468	-	0,001
<i>Ls10</i>	0,295	0,267	0,286	0,318	0,248	0,253	0,400	0,399	0,190	-

Примеч.: значения индекса Φ_{PT} показаны ниже диагонали; p – уровень значимости показан выше диагонали.

Итак, анализ молекулярной изменчивости (AMOVA) подтвердил, что большая часть всего генетического разнообразия сосредоточена внутри популяций (70 %), а на долю межпопу-

ляционной изменчивости приходится 30 % всего наблюдаемого генетического разнообразия (табл. 5).

Таблица 5
Оценка генетической внутри- и межпопуляционной изменчивости популяций *Larix sibirica* Ledeb. по результатам анализа молекулярной изменчивости (AMOVA)

Показатель подразделенности	df	SS	MS	Дисперсия	%	<i>p</i>
Между популяциями	9	1836,650	204,072	6,359	30 %	<0,001
Внутри популяций	288	4198,579	14,578	14,578	70 %	<0,001

Примеч.: df – степени свободы; SS – сумма квадратов; MS – среднееквадратическое отклонение; % – процент общего генетического разнообразия; *p* – уровень значимости при использовании 1000 раундов премутации.

Кроме того, для описания генетической структуры и исследования соответствия между кластерами генотипов и группами популяций применялась программа STRUCTURE 2.3.4. В ней реализован байесовский алгоритм кластеризации генотипов в *K* кластеров с учетом априорной информации о географическом положении рассматриваемых популяций. Для выбора оптимального *K*, где $4 \leq K \leq 12$, использовался логарифм правдоподобия LnPD. Анализ популяционной структуры с помощью on-line приложения

STRUCTURE Harvester выявил, что с ростом величины *K* среднее значение логарифма функции вероятности LnP(D) возрастает от *K* = 4 до *K* = 9, а затем выходит на плато, но при этом значительно возрастает дисперсия (рис. 1А). Максимальное значение LnP(D) с низкой дисперсией *K* наблюдается при *K* = 9. Для обнаружения количества *K*-групп, которые наилучшим образом соответствуют набору данных, также используют значение коэффициента DeltaK, который тоже оказался максимальным при *K* = 9 (рис. 1Б).

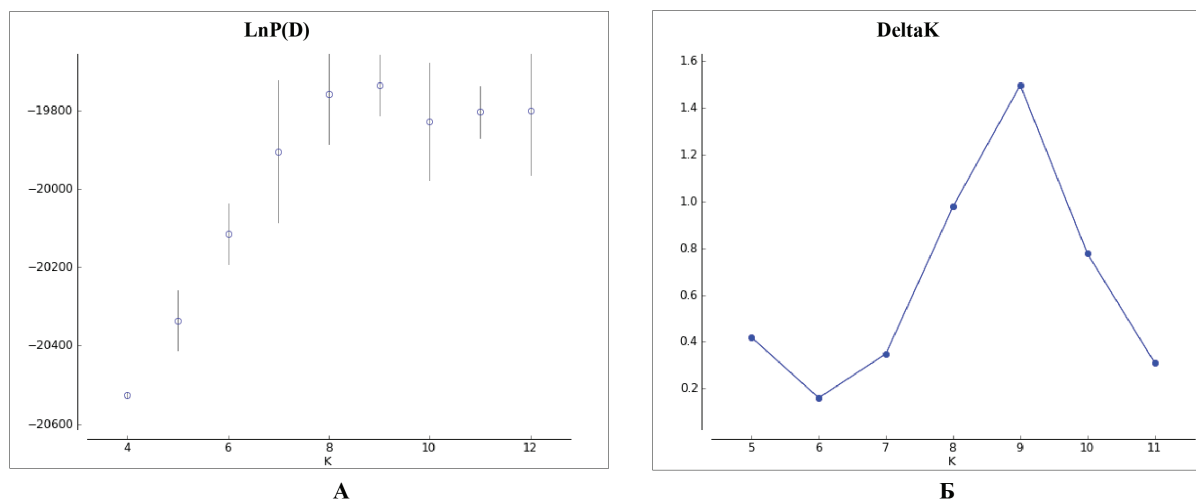


Рис. 1. График зависимости среднего значения логарифма функции вероятности LnP(D) от значения параметра *K* (число кластеров), дисперсия значения *K* (А) и график зависимости коэффициента DeltaK от значения *K* (Б) в изученных популяциях *Larix sibirica* Ledeb.

Таким образом, наиболее вероятным оказывается разделение исследуемой выборки на девять генетических кластеров, соответствующих девяти популяциям, при этом наиболее близкими оказываются популяции *Ls1* и *Ls2*, находящиеся также на наименьшем географическом

расстоянии друг от друга (рис. 2). Популяции *Ls1* и *Ls2*, таким образом, являются одной генетической популяцией. В целом популяционная структура *L. sibirica* выражена четко, большинство деревьев могут быть отнесены к одной из исследованных популяций с апостериорной ве-

роятностью $\geq 0,95$, что говорит о значительном уровне дифференциации популяций. При этом небольшое число генотипов имеет смешанную генетическую структуру: так, деревья из популя-

ции *Ls6* имеют сходные генотипы с деревьями из популяций *Ls1* и *Ls2*, а в популяции *Ls5* имеют место генотипы, близкие к генотипам деревьев из популяций *Ls3* и *Ls4* (рис. 2).

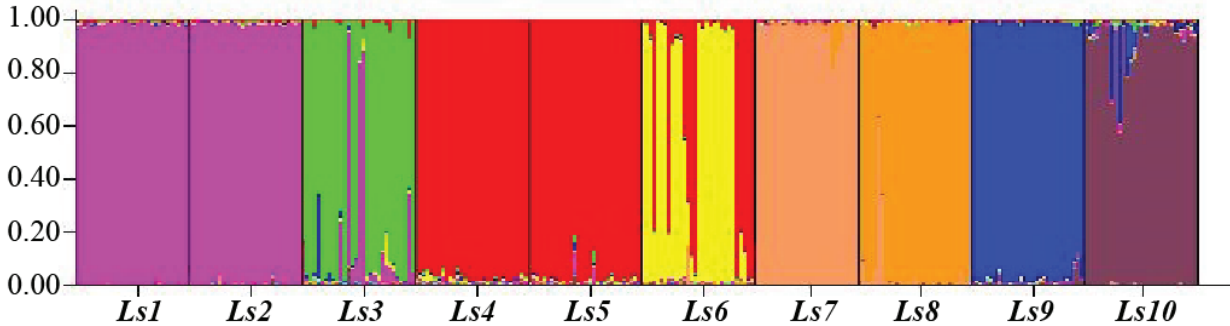


Рис. 2. Структура распределения генотипов в популяциях *Larix sibirica* Ledeb. при $K = 9$; по вертикали – доля частот аллелей соответствующего кластера (апостериорная вероятность), по горизонтали – номера популяций.

Наименьшее генетическое расстояние отмечено между популяциями *Ls3/Ls4* ($D_N = 0,028$) и *Ls1/Ls2* ($D_N = 0,034$), наибольшее ($D_N = 0,263$) – между популяциями *Ls8* и *Ls9* (табл. 6). На основании полученной матрицы попарных генетических расстояний (D_N) был проведен кластерный анализ невзвешенным парно-групповым методом (UPGMA) и построена дендрограмма, отражающая степень сходства по ISSR-спектрам исследуемых популяций (рис. 3). На дендрограмме изученные популяции сформировали 4 кластера. В первый кластер вошли горные популяции, произрастающие на высоте от 600 до 900 м над ур. м. в пределах Северного Урала (*Ls1*, *Ls2*, *Ls6*); в

кластер 2 объединились предгорные популяции Среднего Урала на высоте от 240 до 350 м над ур. м. (*Ls9*, *Ls10*). В третьем кластере находятся равнинные популяции, произрастающие на высотах 190–200 м над ур. м. на широте Северного Урала (*Ls3*, *Ls4*, *Ls5*). Четвертый кластер составляют две популяции (*Ls7*, *Ls8*), расположенные также на небольших высотах (около 200 м над ур. м.) из центральной части Пермского края в пределах широт Среднего Урала. Узлы ветвления имеют высокий индекс бутстрепа ($> 50\%$), что говорит о достоверности межпопуляционных и межкластерных различий (рис. 3).

Таблица 6

Попарные генетические расстояния (D_N) между изученными популяциями *Larix sibirica* Ledeb.

	<i>Ls1</i>	<i>Ls2</i>	<i>Ls3</i>	<i>Ls4</i>	<i>Ls5</i>	<i>Ls6</i>	<i>Ls7</i>	<i>Ls8</i>	<i>Ls9</i>	<i>Ls10</i>
<i>Ls1</i>	-									
<i>Ls2</i>	0,034	-								
<i>Ls3</i>	0,080	0,070	-							
<i>Ls4</i>	0,104	0,088	0,028	-						
<i>Ls5</i>	0,104	0,087	0,037	0,055	-					
<i>Ls6</i>	0,042	0,034	0,072	0,094	0,086	-				
<i>Ls7</i>	0,200	0,177	0,172	0,186	0,146	0,181	-			
<i>Ls8</i>	0,235	0,210	0,195	0,211	0,157	0,217	0,047	-		
<i>Ls9</i>	0,118	0,137	0,128	0,139	0,125	0,123	0,214	0,263	-	
<i>Ls10</i>	0,105	0,096	0,113	0,143	0,094	0,109	0,187	0,204	0,087	-

Разделение популяций на данные четыре кластера подтверждают результаты анализа главных компонент, проведенного на основании Φ_{PT} -индекса, вычисленного с помощью пакета AMOVA. При ординации популяции распределились неравномерно (рис. 4). Четко обособились четыре группы: в группу 1 вошли три горные популя-

ции (*Ls1*, *Ls2*, *Ls6*), в группу 2 – две предгорные популяции Среднего Урала (*Ls9* и *Ls10*), в группу 3 – три равнинные популяции Северного Урала (*Ls3*, *Ls4*, *Ls5*), а в группу 4 – две равнинные популяции (*Ls7*, *Ls8*), расположенные на широте Среднего Урала (центральная часть Пермского края).

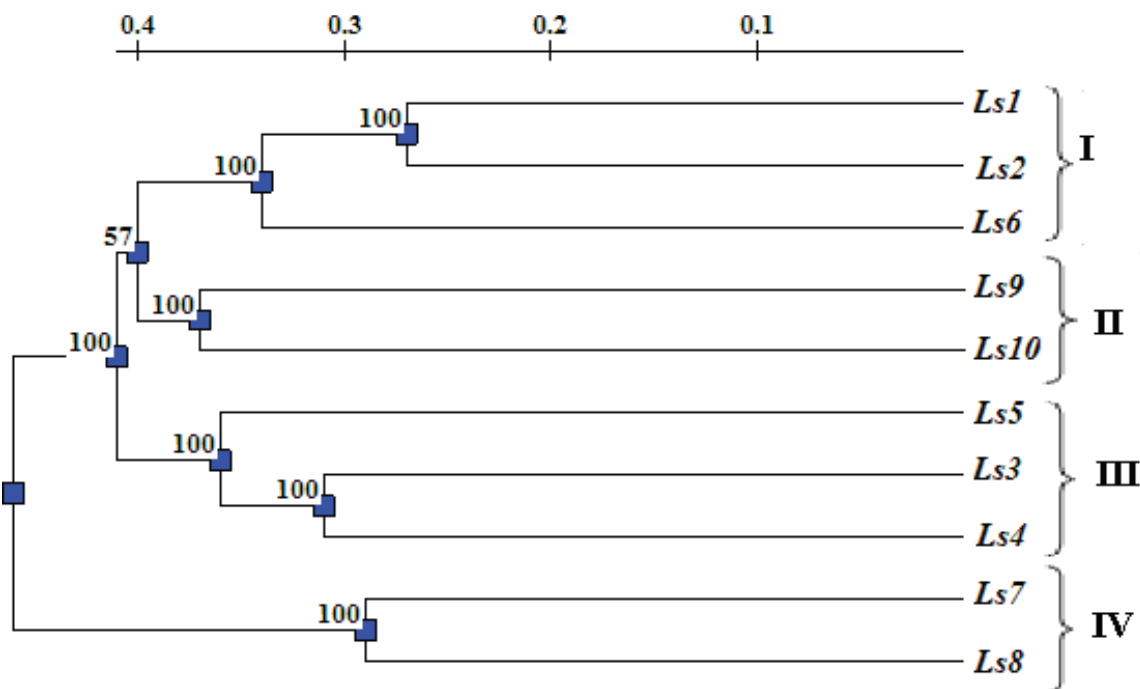


Рис. 3. Дендрограмма генетического сходства десяти изученных популяций *Larix sibirica* Ledeb., построенная на основании полиморфизма ISSR-PCR маркеров невзвешенным парно-групповым методом (UPGMA); шкала сверху – генетические расстояния; в узлах ветвления указаны значения бутстрепа (в %); *Ls1*, *Ls2*, *Ls3*, *Ls4*, *Ls5*, *Ls6*, *Ls7*, *Ls8*, *Ls9*, *Ls10* – обозначения популяций; I, II, III, IV – номера кластеров.

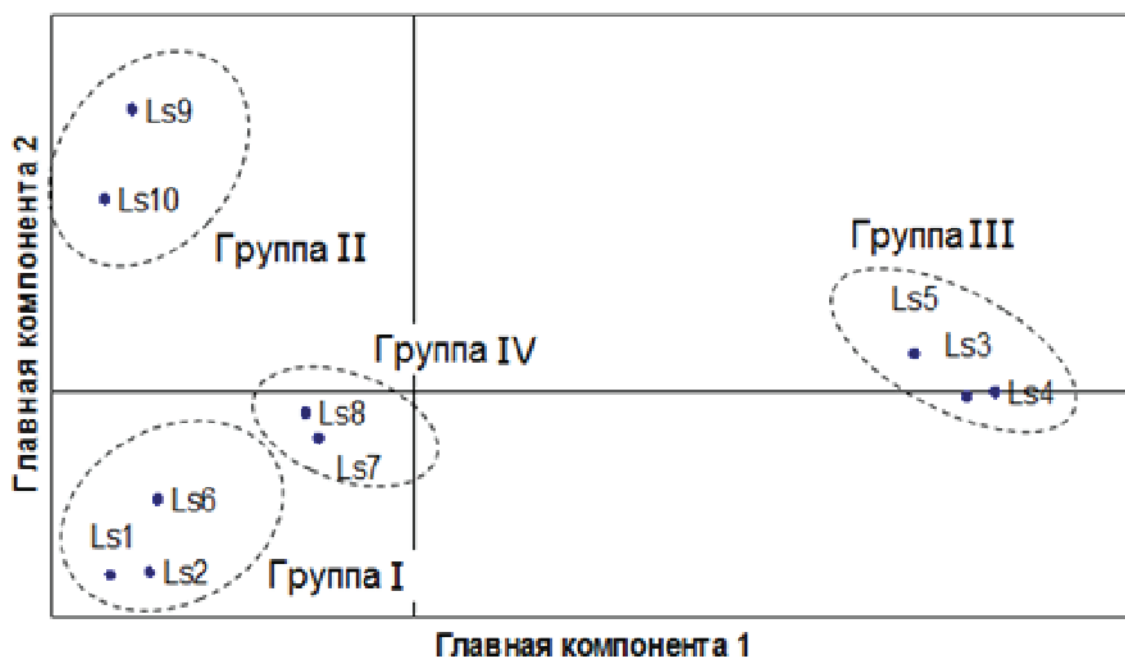


Рис. 4. Ординация изученных популяций *Larix sibirica* Ledeb. с помощью анализа главных компонент, полученная на основании Φ_{PT} -матрицы генетических расстояний.

Кроме того, для визуализации пространственно-генетической структуры популяций лиственницы сибирской была использована программа SAMOVA 2.0. В программе были определены наиболее генотипически близкие группы

популяций и построена карта их географического распределения посредством on-line ресурса GoogleMaps. В результате на карте обозначились те же четыре группы популяций со сходной генетической структурой (рис. 5).

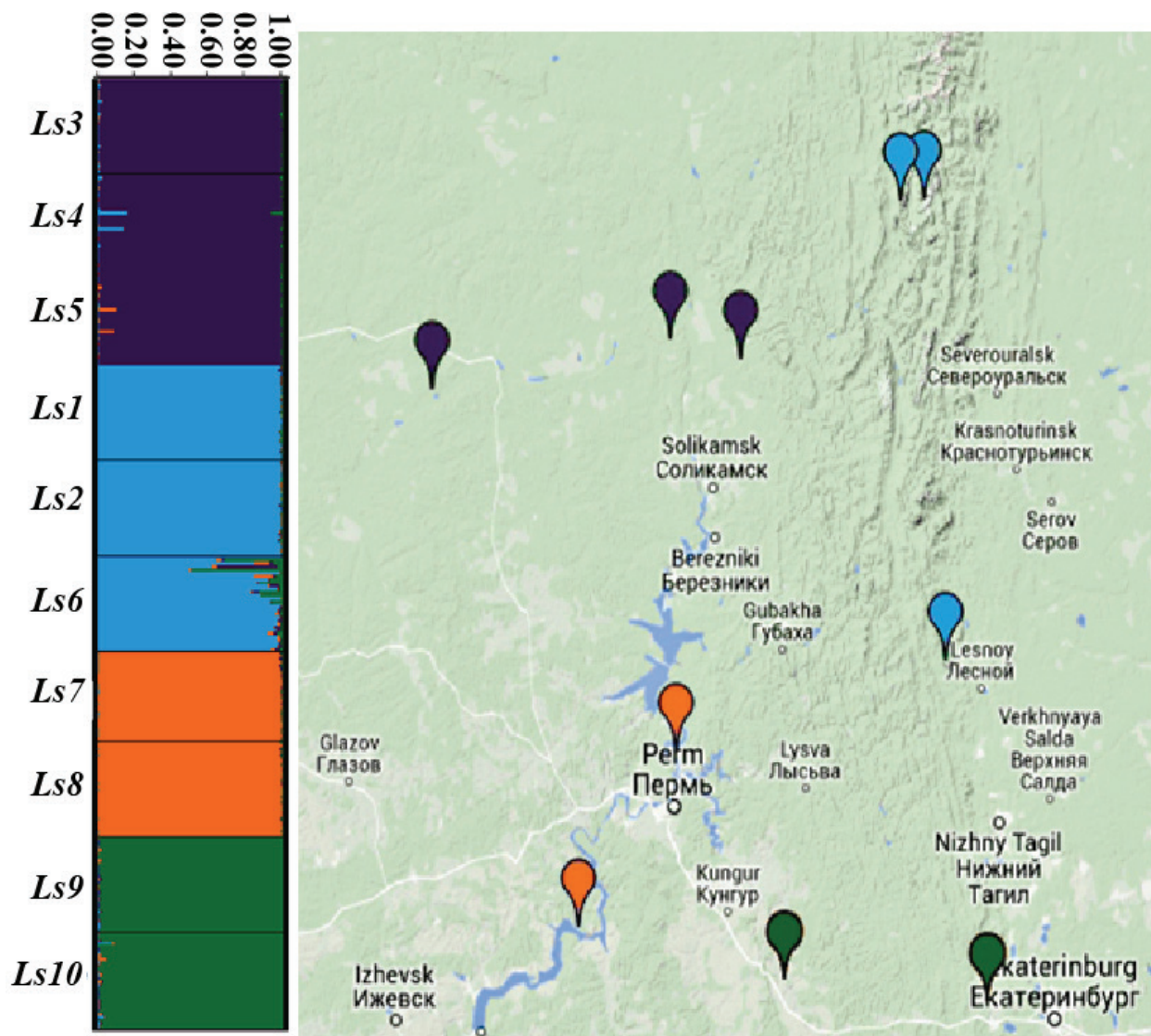


Рис. 5. Географическое распределение генотипов изученных популяций *Larix sibirica* Ledeb., определенное с помощью анализа SAMOVA; справа – группы генотипов, выявленные с помощью программы STRUCTURE при $K = 4$; шкала сверху – апостериорная вероятность, по горизонтали – номера популяций; картографические данные on-line ресурса Google Maps.

Таким образом, по результатам анализов, использующих различные алгоритмы определения пространственно-генетической структуры, выявлено подразделение десяти изученных популяций *L. sibirica* на четыре следующие группы: горные (*Ls1*, *Ls2*, *Ls6*), предгорные (*Ls9*, *Ls10*), равнинные североуральские (*Ls3*, *Ls4*, *Ls5*) и равнинные среднеуральские (*Ls7*, *Ls8*).

По литературным данным (Maier, 1992; Putenikhin et al., 2004), для видов рода *Larix* характерна достаточно высокая степень дифференциации. У дальневосточных видов рода *Larix* (Polezhaeva, Semerikov, 2009) cpSSR-маркеры выявили высокую степень дифференциации ($G_{ST} = 0,144$), что, по мнению авторов, доказывает наличие изоляции расстоянием: Верхо-

янский хребет в прошлом представлял собой барьер для потока генов, определивший генетическую обособленность лиственниц северо-востока Азии. Также высокие значения имела дифференциация, выявленная с использованием RAPD-маркеров (Adrianova, 2014), у популяций лиственниц Сахалина ($G_{ST} = 0,240$) и Камчатки ($G_{ST} = 0,250$).

На Урале, по данным изоферментного анализа, у лиственницы Сукачева выявлена средняя степень популяционной генетической дифференциации ($F_{ST} = 0,061$). Уровень же фенотипической дифференциации в регионе был достаточно высок и в среднем составил 24,3 % (Putenikhin et al., 2004). По мнению авторов, на межпопуляционную генетическую дифференциацию листвен-

ницы в разнообразных лесорастительных условиях Урала оказывает влияние комплекс таких факторов, как изоляция и естественный отбор. Пространственно-генетическая структура популяций также во многом определяется историей формирования ареала вида. Полученные в нашем исследовании оценки генетической дифференциации достаточно высоки ($G_{ST} = 0,297$), но согласуются с таковыми для других видов рода *Larix* (Polezhaeva, Semerikov, 2009; Zhang et al., 2013; Adrianova, 2014). Однако выявленные значения G_{ST} в несколько раз превышают полученные данные о дифференциации лиственницы на Урале по изоферментным маркерам (Putenikhin et al., 2004) и в большей степени близки к оценкам фенотипической дифференциации популяций вида в регионе.

Итак, изученные популяции *L. sibirica* 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; так, на дендрограмме в некоторых случаях ближе оказались популяции, расположенные на большем географическом удалении друг от друга (*Ls1* и *Ls10*), чем географически более близкие (*Ls1* и *Ls3*). Полученные данные свидетельствуют также о существовании нескольких генетически дифференцированных популяций и их групп у *L. sibirica* в регионе исследования.

При исследовании популяций *L. sibirica* на Урале была проведена проверка их пространственно-генетической структуры на соответствие модели «изоляция расстоянием» (isolation-by-distance). Так, при попарном сравнении всех десяти изученных популяций тест Мантелла выявил незначительную корреляцию ($r^2 = 0,161$; $p = 0,004$) географических и генетических (D_N) расстояний.

Исследования популяций лиственницы сибирской, произрастающих на территории Центральной и Южной Сибири, также не обнаружили тесной взаимосвязи между географическими и генетическими расстояниями у изученных популяций. По предположению авторов, это связано с тем, что лиственница сибирская произрастает в различных географических зонах с разнообразными экологическими условиями, образуя большое количество разновидностей, экотипов и климатипов, влияние же экологических факторов перебивает показатели генетической

дифференциации (Oreshkova, Belokon, 2012). В то же время различные исследования свидетельствуют (Korshikov et al., 2009; Svetlakova et al., 2014), что в разных крупных геоморфологических образованиях формирование генетической структуры и дифференциации популяций растений происходит по-разному. Так, для хвойных видов растений формирование различной генетической структуры в условиях горной поясности показано на примере сосны крымской (Korshikov et al., 2009). Таким образом, исследование пространственно-генетической структуры популяций *L. sibirica* на Урале было проведено в двух группах популяций, располагающихся в разных геоморфологических системах региона – равнинных и горных.

При исследовании зависимости генетических (D_N) и географических расстояний в группах горных и равнинных популяций тест Мантелла выявил статистически значимую положительную корреляцию ($r^2 = 0,580$; $p = 0,024$ и $r^2 = 0,822$; $p = 0,010$ соответственно) по каждой группе (рис. 6).

При этом в группе равнинных популяций пространственно-генетическая структура выражена сильнее, чем в группе горных популяций, что согласуется с данными, полученными при исследовании *Populus tremula* L. ($r = 0,900$; $p < 0,020$) на Урале (Svetlakova et al., 2014). При проверке зависимости географических расстояний и Φ_{PT} -индекса также выявлена статистически значимая корреляция как в группе горных, так и в группе равнинных популяций ($r^2 = 0,680$; $p = 0,023$ и $r^2 = 0,760$; $p = 0,020$ соответственно).

При анализе AMOVA с учетом двух групп популяций обнаружено, что большая часть всего генетического разнообразия также сосредоточена внутри популяций (67 %), на изменчивость между группами горных и равнинных популяций приходится 11 %, межпопуляционная компонента всего наблюдаемого генетического разнообразия составляет 22 % (табл. 7). Это свидетельствует о том, что дифференциация между группами горных и равнинных популяций выражена в меньшей степени, чем между отдельными популяциями внутри групп. Однако, по некоторым оценкам, на основе доминантных маркеров дифференциация популяций древесных видов на уровне 10 % интерпретируется как значительная (Vetchinnikova et al., 2013; Zhang et al., 2013).

На динамике генетической структуры популяций непременно сказывается их высотное расположение. В горных регионах в

пределах одного макросклона возможна генетическая микродифференциация популяций растений, даже при отсутствии выраженных изоляционных барьеров (Malinovskiy et al., 1988). Так, например, исследования, проведенные в разновысотных горных популяциях различных видов хвойных растений, показали, что расположенные на разных высотных уровнях, отличающихся выраженными градиентами экологических факторов среды, горные популяции обнаруживают значительные различия в генетической структуре, нередко превышающие различия, выявляемые при анализе популяций из географически удаленных частей ареала (Larionova, Ekart, 2005; Mosca et al., 2012). Анализ зависимости генетической дифференциации и высоты произрастания популяций над уровнем моря вы-

явил статистически значимую корреляцию между степенью генетической дифференциации по Φ_{PT} -индексу и разницей в высоте произрастания популяции над уровнем моря в группе горных популяций ($r^2 = 0,860$; $p = 0,008$) и среди горных и североуральских равнинных популяций *L. sibirica* ($r^2 = 0,940$; $p = 0,020$). При этом мы не брали в сравнение среднеуральские равнинные популяции (центральная часть Пермского края), так как кластерный анализ показал их высокую обособленность в совокупности с наименьшим уровнем генетического разнообразия. Таким образом, изоляция популяций может быть обусловлена не только географической удаленностью, но и высотно-поясным расположением популяций (рис. 6).

Таблица 7

Генетическая дифференциация внутри и между группами горных и равнинных популяций *Larix sibirica* Ledeb. по результатам анализа молекулярной изменчивости (AMOVA)

Показатель подразделенности	df	SS	MS	Дисперсия	%	<i>p</i>
Между группами	1	509,159	509,159	2,331	11 %	< 0,001
Между популяциями	8	1294,424	161,803	4,937	22 %	< 0,001
Внутри популяций	288	4231,645	14,693	14,693	67 %	< 0,001

Примеч.: df – степени свободы; SS – сумма квадратов; MS – среднее квадратическое отклонение; % – процент общего разнообразия; *p* – уровень значимости при использовании 1000 раундов премутации.

Это подтверждает мнение о том, что высотная гетерогенность условий произрастания вносит существенный вклад в генетическую дифференциацию популяций (Linhart, Grant, 1996; Oreshkova, Belokon, 2012; Wang et al., 2012). Данные анализа пространственно-генетической структуры популяций лиственницы сибирской на Урале согласуются с описанными в литературе для некоторых видов рода *Larix*. Например, при изучении лиственниц Сахалина и Камчатки (Adrianova, 2014) обнаружена достоверная корреляция генетических и географических дистанций между выборками ($r = 0,680$; $p < 0,005$). Связь показателей генетической структуры и дифференциации с высотой произрастания популяций выявлена также при изучении природных популяций лиственницы принца Рупрехта (*L. principis-rupprechtii* Mayr) из различных высотных уровней горы Гуаньди в Китае (Wang et al., 2012). На Урале насаждения *L. sibirica* имеют выраженный островной характер (Putenikhin et al., 2004), что во многом определяет изолированность популяций вида. По мнению З. Х. Шигапова и соавторов (Shigarov et al., 2009), суровые

экологические условия северных районов Урала являются существенным фактором динамики популяционной структуры лиственницы Сукачева на Урале, приводящим к некоторым нарушениям генотипической структуры природных популяций вида в регионе.

Неоднородность среды обитания определяет многомерную сложность популяционной структуры любого вида, а контрастность условий, обусловленная высотной поясностью в горах, не может не отразиться на особенностях популяционной структуры, уровне генетического разнообразия и степени дифференциации популяций вида (Linhart, Grant, 1996). Однако сложная пространственная структура популяций лишь в некоторой степени отражается на их дифференциации, большинство же межпопуляционных различий имеет полигенную природу (Shvarts, 1980). Уникальность, многообразие и исторические факторы развития природных систем Урала определяют и сложность популяционной структуры *L. sibirica* в регионе.

Одним из подходов использования полученных данных о генетическом разнообразии 10

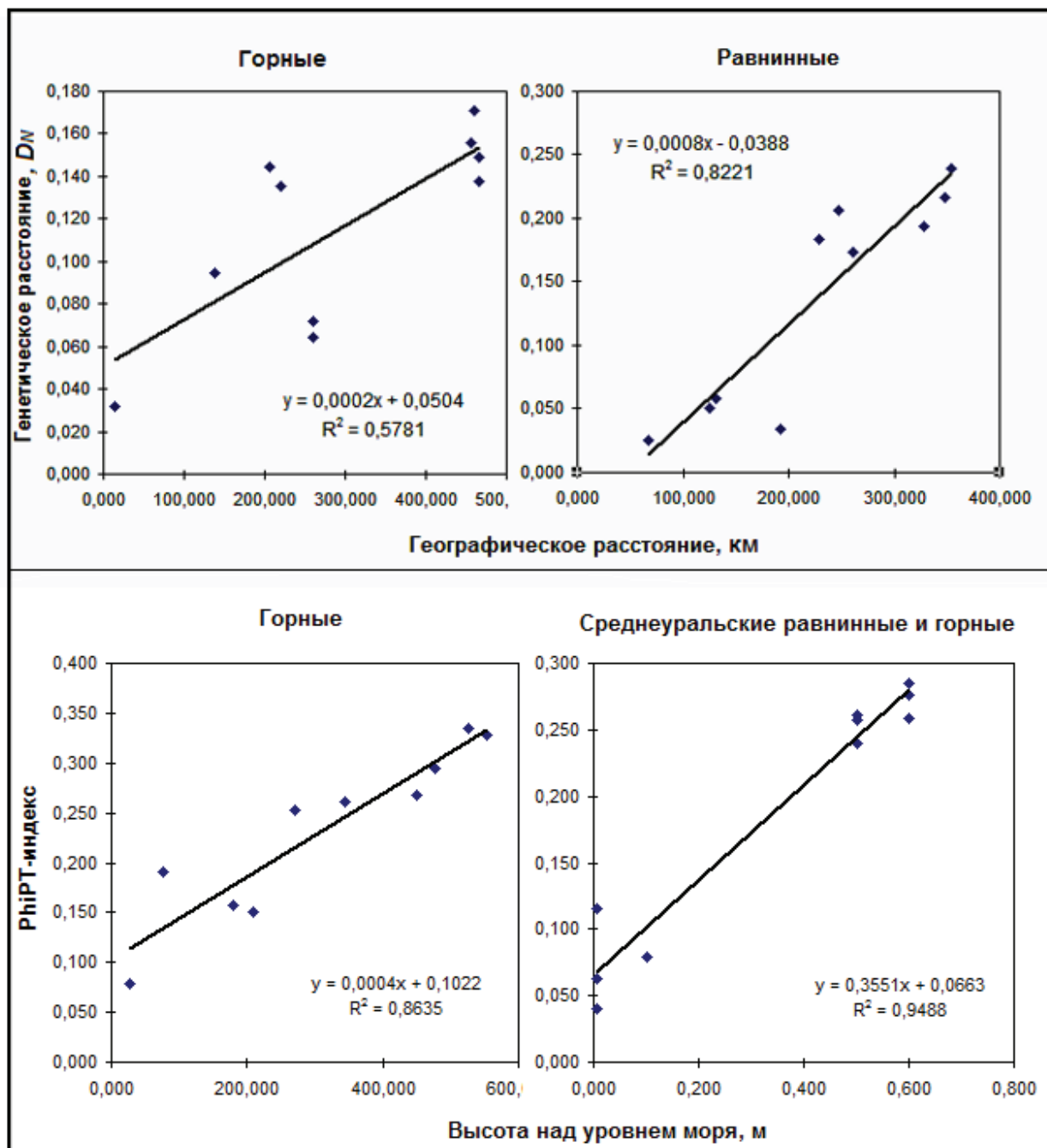


Рис. 6. Графики: 1) зависимости генетических (D_N) и географических расстояний в группах горных и равнинных популяций *Larix sibirica* Ledeb.; 2) Φ_{PT} -индекса и высоты произрастания изученных популяций *L. sibirica* над ур. м.

популяций *L. sibirica* и их подразделении на 4 группы популяций может быть изучение содержания в деревьях с разными генотипами смоляных кислот, в том числе и абсцизовой кислоты с противомикробной активностью в разных условиях произрастания Уральских гор. Изучение генетической структуры и дифференциации природных популяций древесных растений может быть использовано для составления генетически обоснованных программ по сохранению, восстановлению и рациональному использованию лес-

ных генетических ресурсов, а также для выяснения истории расселения, что позволит составить план для сохранения и охраны генофондов популяций.

Благодарности

Работа выполнена в рамках государственного задания № FSNF-2020-0008 ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет» по науке 2020 года.

REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА

- Adrianova I. Yu.** 2014. Genetic variability and differentiation of Kamchatka, Sakhalin and Kuril larch trees. *Sibirskiy lesnoy zhurnal* [Siberian forest journal] 4: 110–116. [In Russian] (**Адрианова И. Ю.** Генетическая изменчивость и дифференциация лиственниц Камчатки, Сахалина и Курил // Сибирский лесной журнал, 2014. № 4. С. 110–116).
- Assoumane A., Zoubairou 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: 93–106. DOI: 10.1007/s11295-012-0537-0
- Babkin V. A.** 2011. *Biomassa listvennicy: ot himicheskogo sostava do innovacionnyh produktov: monografiya* [Larch biomass: from chemical composition to innovative products: monograph]. Novosibirsk: Izdatelstvo SO RAN. 236 pp. [In Russian] (**Бабкин В. А.** Биомасса лиственницы: от химического состава до инновационных продуктов: монография. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2011. 236 с.).
- Dupanloup A., Schneider S., Excoffier L.** 2002. Simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology* 11(12): 2571–2581.
- Dylis N. V.** 1947. *Sibirskaya listvennica. Materialy k sistematike, geografii i istorii* [Siberian larch. Materials for taxonomy, geography and history]. Moscow: Izdatelstvo MOIP. 137 pp. [In Russian] (**Дылис Н. В.** Сибирская лиственница. Материалы к систематике, географии и истории. М.: Изд-во МОИП, 1947. 137 с.).
- Earl A., von Holdt M.** 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources* 4(2): 359–361.
- Evanno G., Regnaut S., Goudet J.** 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecol.* 14: 2611–2620.
- Falush D. M., Stephens J. K.** 2003. Pritchard Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 164: 1567–1587.
- Gogol E. S., Kostyro Ya. A., Trofimova N. N., Babkin V. A.** 2019. Rational use of Siberian larch biomass as a source of biologically active substances to create agents with wound healing activity. In: *Klimat. Ekologiya, selskoye khozyaystvo Yevrazii: Materialy VIII mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii* [Climate, ecology, agriculture of Eurasia: Proceedings of the VIII Intern. scientific-practical conf.] Irkutsk: Irkutsk state. agrarian university. A. A. Ezhevsky. Pp. 76–83. [In Russian] (**Гоголь Е. С., Костыро Я. А., Трофимова Н. Н., Бабкин В. А.** Рациональное использование биомассы лиственницы сибирской как источника биологически активных веществ для создания средств с ранозаживляющей активностью // Климат, экология, сельское хозяйство Евразии: Материалы VIII междунар. науч.-практ. конф. Иркутск: Иркутский гос. аграр. ун-т им. А. А. Ежевского, 2019. С. 76–83).
- Govorushko S. M.** 2014. Environmental impact of logging. *Lesnoy zhurnal* [Forest Journal] 1(337): 45–53. [In Russian] (**Говорушко С. М.** Экологические последствия лесозаготовок // Лесной журнал, 2014. № 1(337). С. 45–53).
- Igoshina K. N.** 1963. Larch in the Urals. In: *Materialy po istorii flory i rastitelnosti SSSR* [Materials on the history of flora and vegetation of the USSR] Iss. 4. Leningrad: Izdatelstvo AN SSSR. Pp. 462–492. [In Russian] (**Игошина К. Н.** Лиственница на Урале // Материалы по истории флоры и растительности СССР. Вып. 4. Л.: Изд-во АН СССР, 1963. С. 462–492).
- Kimura M., Crow J. F.** 1964. The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics (US)* 49: 725–738.
- Korshikov I. I., Gorlova E. M., Koba V. P.** 2009. High-altitude and zonal genetic differentiation of the Crimean pine (*Pinus pallasiana* D. Don) populations in the mountainous Crimea. *Industrial botany* 9: 110–116. [In Russian] (**Коршиков И. И., Горлова Е. М., Коба В. П.** Высотно поясная генетическая дифференциация популяций сосны крымской (*Pinus pallasiana* D. Don) в горном Крыму // Промышленная ботаника 2009. Вып. 9. С. 110–116).
- Kuznetsov N. I.** 1927. Southwestern, southern and southeastern border of the distribution of larch (*Larix sibirica* Ledeb.) within European Russia. In: *Yubileyny sbornik. posvyashchenny I. P. Borodinu* [Jubilee collection dedicated to I. P. Borodin]. Leningrad: State Russian Botanical Society. Pp. 31–256. [In Russian] (**Кузнецов Н. И.** Юго-западная, южная и юго-восточная граница распространения лиственницы (*Larix sibirica* Ledeb.) в пределах Европейской России // Юбилейный сборник, посвященный И. П. Бородину. Л.: Государственное Русское Ботаническое общество, 1927. С. 231–256).
- Larionova A. Ya., Ekart A. K.** 2005. Genetic structure and differentiation of Siberian fir populations located at varied elevations in Western Sayan. *Ecological Genetics* 2(3): 22–28. [In Russian] (**Ларионова А. Я., Экарт А. К.** Генетическая структура и дифференциация разновысотных популяций пихты сибирской в Западном Саяне // Экологическая генетика, 2005. № 3, вып. 2. С. 22–28).
- Lesnoy plan Permskogo kraja na 2018–2027 g.* (s izmeneniyami po forme, utverzhdennoy prikazom Ministerstva prirodnykh resursov i ekologii Rossiiskoy Federatsii ot 20 dekabrya 2017 g. № 692), utv. ukazom gubernatora Permskogo kraja ot 19.04.2018 № 36 [The forest plan of the Perm region to 2018–2027 years (with changes in the form

approved by the order of the Ministry of natural resources and ecology of the Russian Federation dated December 20, 2017 № 692), approved by the decree of the Governor of the Perm region from 19.04.2018 № 36]. [In Russian] (*Лесной план Пермского края на 2018–2027 гг.* (с изменениями по форме, утвержденной приказом Министерства природных ресурсов и экологии Российской Федерации от 20 декабря 2017 г. № 692), утв. указом губернатора Пермского края от 19.04.2018 № 36). URL: https://priroda.permkrai.ru/timberrow/les_plan/Лесной%20план%20Пермского%20края%20на%202018-2027%20годы.pdf

Linhart Y. B., Grant M. C. 1996. Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 27: 237–77. DOI: 10.1146/annurev.ecolsys.27.1.237

Maier J. 1992. Genetic variability in European larch (*Larix decidua* Mill). *Ann. Sei. For.* 49: 39–47. DOI: 10.1051/forest:19920104

Malinovskiy K. A., Tsarik I. V., Zhilyayev G. G. 1988. On the boundaries of natural plant populations. *Zhurnal obshchey biologii* [Journal Total Biol.] 49(1): 46–58. [In Russian] (**Малиновский К. А., Царик И. В., Жилиев Г. Г.** О границах природных популяций растений // Журн. общ. биол., 1988. Вып. 49, № 1. С. 46–58).

Mantel N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res* 27: 209–220.

Mosca E., Eckert A. J., Liechty J. D., Wegrzyn J. L. 2012. Contrasting patterns of nucleotide diversity for four conifers of Alpine European forests. *Evolutionary Applications* 5: 762–775. DOI: 10.1111/j.1752-4571.2012.00256.x

Nechayeva Yu. S., Beltyukova N. N., Prishnivskaya Ya. V., Tayman K. E. 2011. Optimization of the DNA isolation technique for some coniferous plant species in the Perm region. In: *Sintez znaniy v yestestvennykh naukakh. Rudnik budushchego: proyekt, tekhnologii, oborudovaniye: Materialy mezhdunarodnoy konferentsii* [Synthesis of knowledge in natural sciences. Mine of the future: projects, technologies, equipment: Materials of the international conference]. Perm: Perm State University. Pp. 278–282. [In Russian] (**Нечаева Ю. С., Бельтюкова Н. Н., Пришневская 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: Перм. гос. нац. иссл. ун-т, 2011. С. 278–282).

Nechayeva Yu. S., Boronnikova S. V., Yusupov R. R., Khayntse B. 2013. Study of polymorphism of ISSR markers in natural and artificial populations of larch. *Fundamentalnyye issledovaniya* [Basic research] 6(6): 1426–1431. [In Russian] (**Нечаева Ю. С., Боронникова С. В., Юсупов Р. Р., Хайнце Б.** Изучение полиморфизма ISSR-маркеров в природных и искусственных популяциях лиственницы // Фундаментальные исследования, 2013. № 6, Ч. 6. С. 1426–1431).

Nei M. 1972. Genetic distance between populations. *Amer. Naturalist* 106: 283–292.

Nei M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. New York: Columbia University Press. 512 pp.

Nei M., Chesser R. K. 1975. Estimation of fixation indexes and gene diversities. *Annals of Human Genetics* 47: 253–259.

Nei M., Li W.-H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms restriction endonucleases. *Proceedings the National Academy Sciences. USA* 76: 5269–5273.

Oreshkova N. V., Belokon M. M. 2012. Genetic differentiation of Siberian larch (*Larix sibirica* Ledeb.) populations by microsatellite loci. *The Bulletin of KrasGAU* 2: 111–116. [In Russian] (**Орешкова Н. В., Белоконов М. М.** Генетическая дифференциация популяций лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) по микросателлитным локусам // Вестник КрасГАУ. 2012. № 2. С. 111–116).

Oreshkova N. V., Belokon M. M., Zhamyansuren S. 2013. Genetic diversity, population structure, and differentiation of siberian larch, Gmelin larch and Kayander larch on SSR-markers data. *Genetics* 49(2): 204–213. [In Russian] (**Орешкова Н. В., Белоконов М. М., Жамьянсурен С.** Генетическое разнообразие, популяционная структура и дифференциация лиственниц сибирской, Гмелина и Каяндера по данным SSR-маркеров // Генетика, 2013. Т. 49, № 2. С. 20–213). DOI: 10.7868/S0016675812120090

Orloci L. 1978. *Multivariate analysis in vegetation research*. Dordrecht: Springer. 455 pp.

Peakall R., Smouse P. E. 2006. GenAlEx6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Not.* 6: 288–295. DOI: 10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x

Polezhayeva 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, Russian Academy of Sciences, Far East Branch* 2: 75–83. [In Russian] (**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).

Putenikhin V. P., Farukshina G. G., Shigapov Z. Kh. 2004. *Listvennitsa Sukacheva na Urale. Izmenchivost i populyatsionno-geneticheskaya struktura* [Sukachev Larch in the Urals. Variability and population genetic structure]. Moscow: Nauka. 276 pp. [In Russian] (**Путенихин, В. П.** Лиственница Сукачева на Урале. Изменчивость и популяционно-генетическая структура. М.: Наука, 2004. 276 с.).

Putenikhin V. P., Martinsson O. 1995. *Present distribution of Larix sukaczewii Dyl. in Russia*. Umea: Swed. Univ. Agr. Sci. Dep. Silvi. 78 pp.

Rogers S. O., Bendich A. J. 1985. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues. *Plant Molecular Biology* 1(19): 69–76.

Shigapov Z. Kh., Shigapova A. I., Urazbakhitina K. A. 2009. Genetic variability and population structure of Sukachev's larch in the Urals. *Vestnik of the Orenburg State University* 6: 438–440. [In Russian] (**Шуганов З. Х., Шуганова А. И., Уразбахтина К. А.** Генетическая изменчивость и популяционная структура лиственницы Сукачевы на Урале // Вестник ОГУ, 2009. № 6. С. 438–440).

Shvarts S. S. 1980. *Ekologicheskiye zakonomernosti evolyutsii [Ecological patterns of evolution]*. Moscow: Nauka. 278 pp. [In Russian] (**Шварц С. С.** Экологические закономерности эволюции. М., 1980. 278 с.).

Simak M. 1979. *Larix sukaczewii – Naturlig utbredning, biologi, ekologi och fröanskaffningsproblem*. Umea: Swed. Univ. Agr. Sci. Dep. Silvi. 76 pp.

Smulders M. J. M., Cottrell J. E., Lefèvre F., van der Schoot J., Arens P. 2008. Structure of the genetic diversity in black poplar (*Populus nigra* L.) populations across European river systems: Consequences for conservation and restoration. *Forest Ecology and Management* 255(5): 1388–1399.

Svetlakova T. N., Boronnikova S. V., Yanbaev Yu. A. 2014. Genetic diversity and differentiation in Ural populations of the aspen, *Populus tremula* L., as revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. *Silvae Genetica* 63(1–2): 39–41. DOI: 10.1515/sg-2014-0006

Terentyeva E. P., Udovenko N. K., Pavlova E. A. 2015. *Khimiya drevesiny, cellyulozy i sinteticheskikh polimerov: uchebnoye posobiye [Chemistry of wood, cellulose and synthetic polymers: a study guide]*. Part 2. St. Petersburg: SPbGTURP. 83 pp. [In Russian] (**Терентьева Э. П., Удовенко Н. К., Павлова Е. А.** Химия древесины, целлюлозы и синтетических полимеров: учебное пособие. Ч. 2. СПб.: СПбГТУРП, 2015. 83 с.).

Vetchinnikova L. V., Titov A. F., Kuznetsova T. Yu. 2013. Karelian birch: biological characteristics, resource dynamics and reproduction. Petrozavodsk: Karelian Scientific Center of RAS. 312 pp. [In Russian] (**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.).

Wang Q., Wang M., Hao J. 2012. Genetic variation in natural populations of Prince Rupprecht's larch (*Larix principis-rupprechtii*) with elevation in the Guandi Mountain. In: *International Conference on Biomedical Engineering and Biotechnology*. China: IEEE. Pp. 321–324. DOI: 10.1109/iCBEB.2012.234

Williams J. G. K., Kubelik A. R., Livak K. J., Rafalski J. A., Tingey S. V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl. Acids Res.* 18: 6531–6535.

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. Edmonton: University of Alberta. 238 pp.

Zhang L., Zhang H. G., Li X. F. 2013. Analysis of genetic diversity in *Larix gmelinii* (Pinaceae) with RAPD and ISSR markers. *Genet. Mol. Res.* 12(1): 196–207. DOI: 10.4238/2013.January.24.12

Zhivotovskiy L. A. 1991. *Populyatsionnaya biometriya [Population biometrics]*. Moscow: Nauka. 271 pp. [In Russian] (**Животовский Л. А.** Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991. 271 с.).