

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ЛИСТВЕННИЦЫ СИБИРСКОЙ (*Larix sibirica* Ledeb.) В КОНТРАСТНЫХ ЭКОТОПАХ РЕСПУБЛИКИ ХАКАСИЯ

© 2025 г. Н. В. Орешкова^{1, 2, 3, *}, А. В. Пименов¹, Т. С. Седельникова¹, С. П. Ефремов¹

¹Институт леса им. В. Н. Сукачева — обособленное подразделение Федерального исследовательского центра “Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук”, Красноярск, 660036 Россия

²Федеральный исследовательский центр “Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук”, Красноярск, 660036 Россия

³Сибирский федеральный университет, Красноярск, 660041 Россия

*e-mail: oreshkova@ksc.krasn.ru

Поступила в редакцию 07.06.2024 г.

После доработки 14.07.2024 г.

Принята к публикации 16.07.2024 г.

С помощью микросателлитных маркеров (SSR) проведена оценка генетического полиморфизма пяти ценопопуляций лиственницы сибирской (*L. sibirica*), произрастающих в Республике Хакасия. Наиболее высокие значения среднего числа аллелей на локус выявлены в ценопопуляциях *L. sibirica* с остепненных лугов долины озера Фыркал (3.9 ± 0.458) и облесенных суходольных склонов в долине озера Агаскыр (3.9 ± 0.348). Для последней ценопопуляции характерны также максимальное значение эффективного числа аллелей на локус (2.302 ± 0.283) и самые большие показатели наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности ($H_O = 0.487 \pm 0.074$, $H_E = 0.492 \pm 0.070$). Анализ популяционной структуры свидетельствует о 0.8%-ном избытке гетерозиготных генотипов относительно популяции ($F_{IS} = -0.008 \pm 0.031$) и 3.4%-ном дефиците гетерозиготных генотипов ($F_{IT} = 0.034 \pm 0.034$) относительно вида. Дифференциация изученных ценопопуляций *L. sibirica* по SSR-маркерам составляет 4.3% ($F_{ST} = 0.043$). Наименьшее генетическое расстояние (0.036) выявлено между экологически максимально сходными (лесными) ценопопуляциями *L. sibirica*, а наибольшее генетическое расстояние (0.077), напротив, диагностировано между экологически контрастными (болотной и остепненной) ценопопуляциями.

Ключевые слова: генетический полиморфизм, гетерозиготность, хвойные, микросателлитные маркеры, лиственница, *Larix*.

DOI: 10.31857/S0016675825010046 **EDN:** VEZVBB

Лиственница сибирская (*Larix sibirica* Ledeb.) относится к числу основных лесобразующих видов бореальной зоны Евразии. На территории России леса с участием лиственницы (*Larix* Mill.) занимают около 264 млн га, или 38% всей лесопокрываемой площади. В пределах области своего распространения лиственница сибирская образует широкий спектр морфологической изменчивости, проявляющийся в наличии внутривидовых форм и морфотипов деревьев, адаптированных к различным условиям произрастания [1]. При исследовании генетической изменчивости популяций *L. sibirica* севера Красноярского края, Урала, Алтая и Тывы установлено отсутствие тесной взаимосвязи между географическим положением выборок и степенью их генетической подразделенности при высоком уровне внутривидового генетического

разнообразия [2, 3]. Тем самым диагностирована важная особенность *L. sibirica*: основной пул генетической изменчивости вида сосредоточен на внутривидовом (ценопопуляционном) уровне, доля межпопуляционной (географической) компоненты значительно меньше. Оценка генетического разнообразия ряда видов хвойных, в том числе *L. sibirica*, на ценопопуляционном уровне позволила выявить адаптивную составляющую их внутривидовой дифференциации [4–7]. При выборе экспериментальных объектов для подобного рода исследований целесообразно фокусировать внимание на тех частях ареалов, где в целом оптимальные для вида условия произрастания характеризуются значительной почвенно-гидрологической и фитоценотической неоднородностью, наличием

орографических и фенологических межпопуляционных барьеров [8].

Таким критериям соответствует южносибирская часть ареала *L. sibirica* в пределах Республики Хакасия, где на относительно небольшой площади сосредоточены степные, лесные, луговые и болотные фитоценозы, сложно структурированные по высотным поясам гор, экспозициям невысоких кряжей, межгорным речным долинам и приозерным котловинам со свойственными для данных ландшафтов мозаичностью и резкими градиентами факторов среды [9]. Здесь широко представлены чистые и смешанные древостои *L. sibirica* горнотажного, лесостепного и пойменно-болотного рядов развития, различающиеся по своей морфотипической, возрастной и пространственной структуре, по уровню и характеру антропогенной трансформации [10–12].

Цель настоящей работы — диагностика генетического разнообразия, структуры и внутривидовой дифференциации ценопопуляций лиственницы сибирской, произрастающих в Республике Хакасия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования послужили пять ценопопуляций *L. sibirica* из различных экотопов Республики Хакасия. Информация о местоположении пунктов сбора материала, об особенностях фитоценозов и морфологии деревьев представлена в табл. 1 и на рис. 1. Отбор экспериментальных материалов (образцов хвои) проводился в июле 2020 г. Общее количество отобранных деревьев составило 150 шт., количество образцов в каждой выборке — 30.

Для проведения генетического анализа в выборках лиственницы сибирской были использованы ядерные микросателлитные маркеры, разработанные ранее сотрудниками лаборатории лесной геномики СФУ для *L. sibirica*, а также японскими исследователями К. Isoda и А. Watanabe для лиственницы Кемпфера (*Larix kaempferi* (Lamb.) Carrière) [13, 14].

Отбор праймеров осуществляли путем подбора и оптимизации условий амплификации программы ПЦР. По результатам данного тестирования были отобраны полиморфные локусы, демонстрирующие хорошо интерпретируемые электрофореграммы. Отобранные полиморфные микросателлитные локусы для дальнейшего исследования выборок из популяций *L. sibirica* представлены в табл. 2.

Препараты тотальной ДНК были выделены модифицированным методом с применением цетилтриметиламмонийбромидом (СТАВ) из образцов тканей хвои, высушенной при помощи силикагеля [15].

Для проведения ПЦР использовали готовые реакционные смеси для амплификации ДНК “GenePak PCR Core” производства ООО “Лаборатория Изоген”, содержащие ингибированную для “горячего старта” Taq-ДНК-полимеразу, дезоксинуклеозидтрифосфаты и хлорид магния. Программа амплификации включала первичную денатурацию в течение 1 мин при 94°C, затем девять циклов “touchdown” с понижением на 1°C, каждый цикл: 30 с при 94°C, 30 с при 63°C, 1 мин при 72°C; далее 24 цикла без “touchdown”: 30 с при 94°C, 30 с при 53°C, 30 с при 72°C; финальная элонгация составляла 10 мин при 72°C. Продукты амплификации разделяли путем электрофореза в 6%-ном полиакриламидном геле с использованием Трис-EDTA-боратного электродного буфера в камерах для вертикального фореза. Окраску геля проводили в растворе бромистого этидия. В качестве маркера стандартных длин использовали ДНК плазмиды pBR322 *E. coli*, обработанную рестриктазой HpaII.

Расчет основных показателей для выборок пяти ценопопуляций лиственницы сибирской был проведен при помощи программы GenAlEx 6.51b2 [16]. Ошибки генотипирования, возникшие из-за *null-аллелей*, были идентифицированы и скорректированы с помощью программы MICROCHECKER [17]. Для построения филогенетического дерева использовались пакеты adegenet и poppr в R, построение производилось методом невзвешенных парногрупповых средних (UPGMA). Филогенетическое дерево было стенировано на основе стандартного генетического расстояния М. Нея [18]. Визуализация дерева осуществлялась с помощью онлайн-инструмента iTOL, версия 6 [19].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе исследования 10 ядерных микросателлитных локусов в пяти выборках лиственницы сибирской из Республики Хакасия было выявлено 45 аллельных вариантов, 29 (около 64 %) из которых оказались общими. У изученных нами ценопопуляций идентифицированные микросателлитные локусы частично различались по составу и частотам встречаемости выявленных аллелей. Наибольшее количество аллелей выявлено в следующих выборках: болотный лиственничник в долине оз. Агаскыр (AG-b) — 40 (из них 7 редких, частота встречаемости которых менее 5%); лиственничное редколесье в долине оз. Фыркал (FRK) — 39 (9 редкие); лиственничное редколесье, остепненное в пойме р. Карыш (KR) — 38 (8 редкие). У ценопопуляции из долины р. Тунгузूल (TNZh) — наиболее возрастного и крупномерного насаждения, напротив, отмечается наименьшее число аллельных вариантов — 33 (из них 3 редких). Самый высокий уровень аллельного разнообразия в исследованных выборках лиственницы имеет

Таблица 1. Биоэкологическая характеристика ценопопуляций *L. sibirica* в Ширинском и Орджоникидзевском районах Республики Хакасия

Код ценопопуляционной выборки, географические координаты	Орографические и фитоценоотические условия, таксационные характеристики насаждений
<p>TNZh 54°16' с. ш., 89°38' в. д.</p>	<p>Лиственничное редколесье (13–15 экз./га) высокотравно-луговое полидоминантное (свыше 140 видов травянистых растений) на темно-серых и дерново-подзолистых почвах пологих склонов долины р. Тунгужуль (правый приток р. Белый Июс). 600–640 м над ур. моря. Возраст деревьев – 180–360 лет, высота – 18–34 м, диаметр – 58–92 см. Большое разнообразие крупномерных морфотипов деревьев: низкоросло-кряжистые крупносуковатые; с уплощенно-шатровыми, широко раскидистыми, куполообразными и даже сдвоенными формами крон; сильно сбежистыми, многосучковатыми и толстокорыми стволами и др.</p>
<p>KR 54°24' с. ш., 89°59' в. д.</p>	<p>Лиственничное редколесье (6–17 экз./га) остепненно-разнотравное на сухих примитивных почвах разрушающихся глыбистых останцев, их каменистых россыпей скального обрамления поймы р. Карыш (бассейн оз. Итколь). 500–520 м над ур. моря. Возраст деревьев – 90–140 лет, высота – 5–8 м, диаметр – 13–16 см. Одиночно стоящие деревья представлены различными формами: кривоствольными, мелкосучковатыми, нередко суховершинными; в группах преобладают прямоствольные, сильно сбежистые, крупносуковатые, низкорослые деревья с этажно-асимметричными, либо уплощенными, флагообразными и иными формами крон</p>
<p>AG-s 54°58' с. ш., 89°15' в. д.</p>	<p>Редкостойный лиственничник (40–60 экз./га) на сухих и свежих минеральных почвах по южному склону в долине оз. Агаскыр – бассейн р. Печище (левый приток р. Черный Июс). 540–555 м над ур. моря. Возраст деревьев – 130–185 лет, высота – 19–23 м, диаметр – 44–56 см. Большую часть крупномерных деревьев характеризуют низкие, раскидистые, суковатые кроны однобоко-шатровой формы, возможно, сформировавшиеся под влиянием системного ветрового воздействия</p>
<p>AG-b 54°58' с. ш., 89°16' в. д.</p>	<p>Болотный лиственничник с елью на пятнисто-мерзлотных, среднемощных (до 120 см), избыточно влажных торфяных почвах эвтрофного ряда водно-минерального питания в долине оз. Агаскыр – бассейн р. Печище (левый приток р. Черный Июс). 540 м над ур. моря. Выборка сформирована тонкомерным подростом (2–2.5 тыс. экз./га, возраст – 50–70 лет, высота – 4–6 м, диаметр – 8–11 см)</p>
<p>FRK 54°30' с. ш., 89°46' в. д.</p>	<p>Лиственничное редколесье паркового типа (8–9 экз./га), низкоросло-разнотравное с кустарниками на остепненных лугах южной оконечности долины оз. Фыркал (правобережная пойма р. Белый Июс). 540 м над ур. моря. Возраст деревьев – 160–200 лет, высота – 12–14 м, диаметр – 50–60 см. Низкорослые, поодиночке рассеянные деревья с сильно сбежистыми стволами и крупными скелетными ветвями, формирующие флагообразные, зонтиковидные, конусообразные, асимметрично-шатровые, разветвленные, щитовидные и другие формы крон</p>

локус *bcLK232*, в котором выявлено восемь аллелей. Лocus *Ls_2672894* в ценопопуляции FRK оказался мономорфным.

Анализ генетического разнообразия *L. sibirica* в исследованных насаждениях Республики Хакасия показал (табл. 3), что наиболее высокие значения среднего числа аллелей на локус были выявлены в выборках AG-s (3.9 ± 0.348) — облесенных

суходольных склонов в долине оз. Агаскыр и FRK (3.9 ± 0.458) — остепненных лугов долины оз. Фыркал, а эффективного числа аллелей на локус — в выборке AG-s (2.302 ± 0.283). Самые большие показатели наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности также выявлены в лесной выборке AG-s ($H_o = 0.487 \pm 0.074$, $H_e = 0.492 \pm 0.070$). В трех (AG-s, AG-b, FRK) из пяти выборок *L. sibirica* выявлен дефицит гетерозиготных генотипов. Высокое

Таблица 2. Отобранные ядерные микросателлитные локусы для *L. sibirica*

Локус	Мотив	Последовательности праймеров	Длина фрагмента, п.н.	Источник литературы
<i>bcLK232</i>	(AG) ₁₉	F: TGTTGCTGGGTTGTTGTTAGA R: GGGTAATAGTTCAGTCTTTG	142–178	[14]
<i>bcLK224</i>	(AG) ₁₇	F: GGAGAGGCCACTACTATTATTAC R: ATGCGTTCCTTCATTCTCT	152–168	
<i>bcLK066</i>	(TG) ₁₂	F: GCAACCGACAATGATTACATAG R: CCTAAACTGAACCTTGCTCAAT	155–172	
<i>Ls_954234</i>	(ATT) ₁₅	F: TGGCGTTTGGCTAAGTTGTAA R: GGTTGATTATGTGTGTGTATGTGG	171–204	[13]
<i>Ls_752897</i>	(AAG) ₁₅	F: GCAGATGTTGATACAGTGGAGG R: CAGCTTCATTTCTGTTGCTAAT	216–264	
<i>Ls_417667</i>	(AAT) ₁₆	F: CAGAGGATCTCATTCTGTTGA R: CTCGAAGGCCAATTAGGATAAA	207–243	
<i>Ls_2672894</i>	(TTTG) ₁₁	F: CAAAGGATGGAATGTGTCTCAA R: GTTGGTATGGTTTCCCAGAGTG	152–164	
<i>Ls_2552367</i>	(CTAT) ₁₀	F: AAAGGTGCAATCACGTAAAGAC R: ATCGAAGCGGAAAATGTGTA	184–196	
<i>Ls_1008427</i>	(ATAG) ₁₃	F: CACCCCTATCCCACAAATCTTA R: ATTTATCTTTGGCCCTCATGC	152–174	
<i>Ls_305132</i>	(GTCGGA) ₇	F: GCAGAGCCGTTATTCGATCTAT R: CCCTCGTTTCCTCTCTGACTA	210–240	

Таблица 3. Показатели генетической изменчивости, рассчитанные для пяти выборок *L. sibirica* по результатам SSR-анализа

Ценопопуляционные выборки	N_A	N_E	H_O	H_E	F
TNZh	3.3 ± 0.260	2.03 ± 0.224	0.487 ± 0.060	0.454 ± 0.058	-0.083 ± 0.053
KR	3.8 ± 0.416	2.04 ± 0.172	0.467 ± 0.056	0.469 ± 0.056	-0.008 ± 0.055
AG-s	3.9 ± 0.348	2.30 ± 0.283	0.487 ± 0.074	0.492 ± 0.070	0.012 ± 0.053
AG-b	3.6 ± 0.340	1.87 ± 0.174	0.390 ± 0.057	0.419 ± 0.059	0.054 ± 0.043
FRK	3.9 ± 0.458	2.21 ± 0.248	0.473 ± 0.073	0.483 ± 0.068	0.030 ± 0.047
В среднем для всех исследованных ценопопуляций	3.7 ± 0.162	2.09 ± 0.098	0.461 ± 0.028	0.463 ± 0.027	0.0004 ± 0.023

Примечание. N_A – среднее число аллелей на локус, N_E – эффективное число аллелей на локус, H_O – наблюдаемая гетерозиготность, H_E – ожидаемая гетерозиготность, F – индекс фиксации; \pm – стандартная ошибка.

значение индекса фиксации Райта найдено для популяции AG-b на торфянистых почвах заболоченной долины оз. Агаскыр (0.054 ± 0.043).

Анализ данных по генетическому полиморфизму исследованных выборок показал, что в целом значения наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности ($H_O = 0.461$, $H_E = 0.463$) сопоставимы

с аналогичными показателями, приведенными для *L. sibirica* из других местопроизрастаний [3, 20–22]. Однако выявленное пониженное аллельное разнообразие ($N_A = 3.7$; $N_E = 2.09$), возможно, связано с небольшими размерами и орографической изоляцией между собой хотя и территориально близких,

но растущих в контрастных экотопах ценопопуляций *L. sibirica*.

Стоит также отметить, что повышенные значения основных показателей генетической изменчивости, полученные другими авторами, связаны еще и с разными наборами микросателлитных локусов, используемых в исследованиях. Для анализа популяционно-генетической изменчивости лиственницы сибирской ранее в основном использовались наиболее высоко варьируемые динуклеотидные микросателлитные локусы [3, 20–22]. В настоящей работе мы также использовали динуклеотидные локусы, но основная доля приходилась на три-, тетра- и гексануклеотидные локусы (7 из 10 локусов).

В трех (AG-s, AG-b, FRK) из пяти выборок *L. sibirica* выявлен дефицит гетерозиготных генотипов, наибольший наблюдается в популяции из болотного лиственничника долины оз. Агаскыр ($F = 0.054$). Это указывает на вероятное близкородственное скрещивание в популяции, сформированной на момент отбора образцов главным образом молодыми деревьями — потомством небольшого числа деревьев, сохранившихся после интенсивных рубок, которые проводились в лиственничниках Хакасии в середине XX в. Ближе всего к равновесному состоянию ($F = -0.008$) находится популяция из долины р. Карыш — антропогенно наименее нарушенное насаждение лиственницы в данном исследовании. Дефицит гетерозиготных генотипов ранее также был выявлен при

изучении генетического разнообразия природных популяций лиственницы сибирской с Урала [3, 22].

Анализ популяционной структуры и степени генетической подразделенности ценопопуляций лиственницы сибирской (табл. 4) [23] показал, что в изучаемых выборках наблюдается 0.8%-ный избыток гетерозиготных генотипов относительно популяции ($F_{IS} = -0.008 \pm 0.031$) и 3.4%-ный дефицит гетерозиготных генотипов ($F_{IT} = 0.034 \pm 0.034$) относительно вида. Полокусные значения показывают, что наиболее значимый дефицит гетерозигот наблюдается в локусах *Ls_1008427* и *Ls_954234*. Коэффициент инбридинга популяции относительно вида в целом (F_{ST}), отражающий степень подразделенности популяций, варьирует от 0.013 (*Ls_2672894*) до 0.091 (*bcLK232*), составляя в среднем 0.043 ± 0.007 . Это свидетельствует о том, что только около 4.3% выявленной генетической изменчивости у изученных выборок лиственницы сибирской распределяется между популяциями. Внутри популяций сосредоточено около 95.7% всего генетического разнообразия. Наибольший вклад в дифференциацию изученных популяций вносят локусы *bcLK232* и *bcLK224* (см. табл. 4).

Анализ гетерогенности аллельных частот с помощью критерия χ^2 показал, что у одного (*Ls_2672894*) из десяти исследованных локусов наблюдаемые различия статистически недостоверны. У остальных локусов различия по частотам аллелей высоко достоверны ($P < 0.001$) (см. табл. 4).

Таблица 4. Значение показателей F -статистик Райта для *L. sibirica*

Локус	N	χ^2	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
bcLK232	8	63.751 ($1.32 \cdot 10^{-4}$)***	0.020	0.109	0.091
bcLK224	4	49.813 ($5.125 \cdot 10^{-9}$)***	0.053	0.117	0.068
bcLK066	4	58.437 ($9.344 \cdot 10^{-11}$)***	-0.093	-0.048	0.041
<i>Ls_954234</i>	5	157.324 ($1.155 \cdot 10^{-28}$)***	0.092	0.118	0.028
<i>Ls_752897</i>	5	50.711 ($1.974 \cdot 10^{-7}$)***	-0.043	0.000	0.041
<i>Ls_417667</i>	3	94.971 ($1.873 \cdot 10^{-20}$)***	-0.191	-0.170	0.018
<i>Ls_2672894</i>	2	0.086 (0.770) ^{ns}	-0.037	-0.024	0.013
<i>Ls_2552367</i>	5	150.415 ($3.063 \cdot 10^{-8}$)***	-0.005	0.039	0.044
<i>Ls_1008427</i>	5	56.307 ($1.798 \cdot 10^{-8}$)***	0.156	0.201	0.053
<i>Ls_305132</i>	4	63.819 ($7.514 \cdot 10^{-12}$)***	-0.027	0.002	0.029
Среднее			-0.008 ± 0.031	0.034 ± 0.034	0.043 ± 0.007

Примечание. N — число аллелей; χ^2 — тест на гетерогенность, уровень значимости ns — not significant, *** — $P < 0.001$; F_{IS} — коэффициент инбридинга особи относительно популяции; F_{IT} — коэффициент инбридинга особи относительно вида; F_{ST} — коэффициент межпопуляционной дифференциации; \pm — стандартная ошибка.

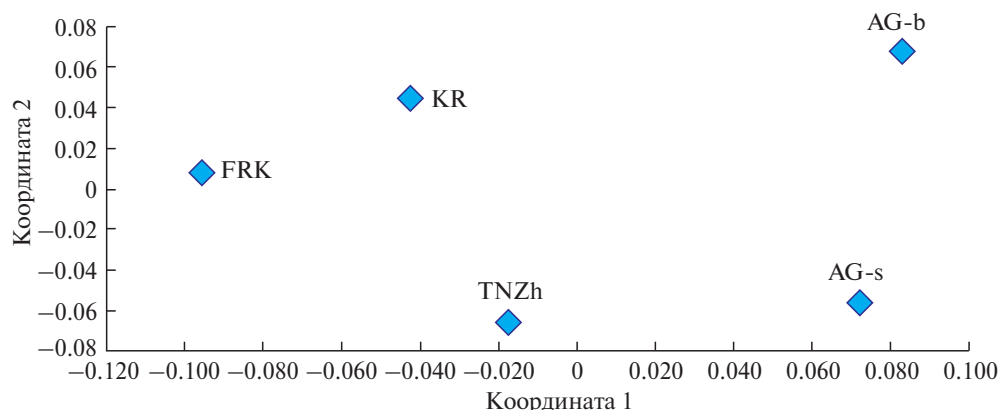


Рис. 2. Проекция изученных ценопопуляционных выборок *L. sibirica* на плоскости двух координат по данным РСА-анализа матрицы генетических расстояний (кодировка ценопопуляционных выборок соответствует табл. 1).

Результаты теста распределения генетической изменчивости (AMOVA) с учетом иерархических уровней показали, что наибольшее генетическое разнообразие было найдено внутри особей (94 из 100%). Генетическое разнообразие между особями, составляющее 2 и 4%, приходится на межпопуляционную составляющую.

Оценка генетической дифференциации между исследованными популяциями лиственницы сибирской была проведена с использованием стандартного генетического расстояния (D_N) М. Нея [18] на основании частот аллелей десяти микросателлитных локусов. Наименьшее генетическое расстояние (0.036) было выявлено между экологически максимально сходными (лесными) ценопопуляциями TNZh и AG-s (табл. 5). Наибольшее генетическое расстояние (0.077), напротив, было диагностировано между экологически контрастными ценопопуляциями – болотной AG-b и остепненной FRK.

Выявленный уровень генетической дифференциации в пяти выборках лиственницы сибирской наглядно показывает расположение ценопопуляций на плоскости двух координат (рис. 2).

Результаты теста Мантелы ($R = 0.479$, $P = 0.100$) свидетельствуют об отсутствии корреляции между матрицами генетического и географического расстояния в исследованном регионе [24].

Филогенетическое дерево для пяти выборок лиственницы сибирской из разных экотопов Республики Хакасия, построенное методом невзвешенных парногрупповых средних (UPGMA), сгенерированное на основе стандартного генетического расстояния М. Нея [18] с оценкой бутстреп-поддержки узлов ветвления, иллюстрирует группировку ценопопуляций (рис. 3).

На дендрограмме четко выделяются две группы с бутстреп-поддержкой в 100%. В первую со значением бутстреп-поддержки 65.36 вошли выборки из долины р. Карыш (KR) и из долины оз. Фыркал (FRK) ($F_{ST} = 0.019$, $D_N = 0.042$). Данные ценопопуляции – ландшафтные изоляты на крайнем пределе распространения древесной растительности в Ширинской степи – максимально близки между собой по экологическим условиям и таксационным характеристикам относительно других выборок. Второй кластер объединил лесные выборки лиственницы из восточных отрогов Кузнецкого Алатау: долин р. Тунжугуль и оз. Агаскыр ($F_{ST} = 0.024$, $D_N = 0.046$). Образующие данные выборки ценопопуляции лиственницы (болотный и суходольный лиственничники) экологически поливариантны по условиям водно-минерального питания, почвенным характеристикам и фитоценотической структуре. Весьма вероятно, что совокупность этих факторов определяет крайне низкие для данного кластера значения бутстреп-поддержки, а

Таблица 5. Попарные генетические расстояния Нея для ценопопуляционных выборок *L. sibirica*

Ценопопуляционные выборки	TNZh	KR	AG-s	AG-b	FRK
TNZh	0.000				
KR	0.038				
AG-s	0.036	0.060			
AG-b	0.061	0.052	0.041		
FRK	0.046	0.042	0.072	0.077	0.000

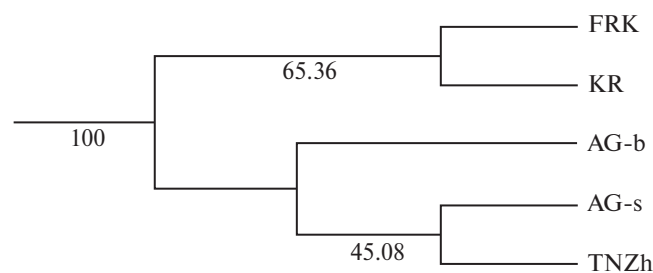


Рис. 3. Филогенетическое дерево пяти ценопопуляций *L. sibirica* (кодировка ценопопуляционных выборок соответствует табл. 1).

следовательно, и сомнительную достоверность его топологии.

В целом на основании данного филогенетического дерева с низкими значениями бутстрепа внутри полученных кластеров — “степного” и “лесного” — можно сказать о том, что ценопопуляции лиственницы в пределах каждого из этих двух контрастных экотопов Республики Хакасия генетически неоднородны и слабо дифференцированы. Вероятными причинами этого являются внутривидовая гетерогенность условий произрастания и слабая репродуктивная изоляция территориально смежных в пределах той или иной межгорной долины ценопопуляций лиственницы сибирской.

Авторы благодарят Яну Викторовну Стенину, выпускницу магистерской программы “Геномика и биоинформатика” кафедры геномики и биоинформатики ИФБ и БТ СФУ, за участие в лабораторных исследованиях и помощь в обработке полученных данных.

Работа выполнена в рамках Государственного задания ФИЦ КНЦ СО РАН по теме “Биоразнообразие лесов Сибири: эколого-динамический, генетико-селекционный, физико-химический и ресурсно-технологический аспекты” № FWES-2024-0028.

Эта статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или животных.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Биоразнообразие лиственниц Азиатской России / Под ред. С. П. Ефремова, Л. И. Милютин, Новосибирск: ГЕО, 2010. 159 с.
2. Орешкова Н.В., Белоконов М.М. Генетическая дифференциация популяций лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) по микросателлитным локусам // Вестник Красноярского гос. аграрного ун-та. 2012. № 2. С. 111–116.
3. Васильева Ю.С., Сбоева Я.В., Чертов Н.В., Жуланов А.А. Оценка состояния генофонда западной расы лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) Урала на основании полиморфизма микросателлитных маркеров // Бюлл. науки и практики. 2019. Т. 5. № 12. С. 98–110. <https://doi.org/10.33619/2414-2948/49/11>
4. Шейкина О.В., Демаков Ю.П., Гладков Ю.Ф., Унженкина О.В. Генетическая изменчивость и дифференциация суходольной и болотной ценопопуляций сосны обыкновенной в Республике Марий Эл // Науч. журн. КубГАУ. 2013. № 94 (10). С. 1–12.
5. Орешкова Н.В., Седельникова Т.С., Пименов А.В., Ефремов С.П. Генетическая структура и дифференциация болотных и суходольных популяций сосны кедровой сибирской (*Pinus sibirica* Du Tour) по ядерным микросателлитным локусам // Генетика. 2014. Т. 50. № 9. С. 1059–1066. <https://doi.org/10.7868/S0016675814090100>
6. Oreshkova N.V., Sedel'nikova T.S., Efremov S.P., Pimenov A.V. Genetic Polymorphism of Siberian Stone Pine (*Pinus sibirica* Du Tour) in Kuznetsk Alatau // Contemporary Problems Ecology. 2020. V. 13. № 6. P. 569–576. <https://doi.org/10.1134/S1995425520060116>
7. Oreshkova N.V., Sedel'nikova T.S., Pimenov A.V. Genetic diversity of coenopopulations of *Larix sibirica* Ledeb. and *Picea obovate* Ledeb. in Taimyr // Contemporary Problems Ecology. 2023. V. 16. № 5. P. 612–619. <https://doi.org/10.1134/S1995425523050098>
8. Санников С.Н., Шавнин С.А., Санникова Н.С., Петрова И.В. Эколого-генетические принципы выделения и классификации лесных генетических резерватов // Экология. 2015. № 1. С. 3–8. <https://doi.org/10.7868/S0367059715010151>
9. Куминова А.В., Зверева Г.А., Маскаев Ю.М. и др. Растительный покров Хакасии. Новосибирск, 1976. 423 с.
10. Седельникова Т.С., Пименов А.В. Числа хромосом форм *Larix sibirica* (Pinaceae) в Ширинской степи Республики Хакасия // Бот. журн. 2017. Т. 102. № 5. С. 693–697. <https://doi.org/10.1134/S0006813617050118>
11. Седельникова Т.С., Аверьянов А.С., Пименов А.В. Особенности пыльцы внутривидовых форм лиственницы сибирской в контрастных экотопах Южной Сибири // Лесоведение. 2021. № 3. С. 265–277. <https://doi.org/10.31857/S0024114821030104>
12. Аверьянов А.С., Барченков А.П., Пименов А.В., Седельникова Т.С. Морфологические признаки шишек лиственницы сибирской на юге Сибири // Сиб. лесной журн. 2024. № 1. С. 13–20. <https://doi.org/10.15372/SJFS20240102>
13. Орешкова Н.В., Бондар Е.И., Путинцева Ю.А. и др. Разработка ядерных микросателлитных маркеров с длинными (трех-, четырех-, пяти- и

- шести нуклеотидными) мотивами для трех видов лиственницы на основе полногеномного *de novo* секвенирования лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) // Генетика. 2019. Т. 55. № 4. С. 418–425.
<https://doi.org/10.1134/S001667581904009X>
14. Isoda K., Watanabe A. Isolation and characterization of microsatellite loci from *Larix kaempferi* // Mol. Ecol. Notes. 2006. V. 6. № 3. P. 664–666.
<https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2006.01291.x>
15. Doyle J.J., Doyle J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue // Focus. 1990. V. 12. № 1. P. 13–15.
16. Peakall R.O.D., Smouse P.E. GENALEX 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // Mol. Ecol. Notes. 2006. V. 6. № 1. P. 288–295.
<https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x>
17. Van Oosterhout C., Hutchinson W.F., Wills D.P.M., Shipley P. MICRO-CHECKER: Software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data // Mol. Ecol. Notes. 2004. V. 4. № 3. P. 535–538.
<https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00684.x>
18. Nei M. Genetic distance between populations // Am. Naturalist. 1972. V. 106. P. 283–291.
<https://doi.org/10.1086/282771>
19. Letunic I., Bork P. Interactive Tree Of Life (iTOL): An online tool for phylogenetic tree display and annotation // Bioinformatics. 2007. V. 23. № 1. P. 127–128.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btl529>
20. Орешкова Н.В., Белоконов М.М. Оценка генетической изменчивости лиственницы сибирской с использованием микросателлитного анализа // Вестник МГУЛ – Лесной вестник. 2012. № 1 (84). С. 118–122.
21. Орешкова Н.В., Белоконов М.М., Жамъянсурен С. Генетическое разнообразие, популяционная структура и дифференциация лиственниц сибирской, Гмелина и Каяндера по данным SSR-маркеров // Генетика. 2013. Т. 49. № 2. С. 204–213.
<https://doi.org/10.7868/S0016675812120090>
22. Chertov N., Vasilyeva Yu., Zhulanov A. et al. Genetic structure and geographical differentiation of *Larix sibirica* Ledeb. in the Urals // Forest. 2021. V. 12. № 1401.
<https://doi.org/10.3390/f12101401>
23. Wright S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating // Evolution. 1965. V. 19. № 3. P. 395–420.
<https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1965.tb01731.x>
24. Mantel N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach // Cancer Research. 1967. V. 27. № 2. P. 209–220.

Genetic Polymorphism of Siberian Larch (*Larix sibirica* Ledeb.) in Contrasting Ecotopes of the Republic of Khakassia

N. V. Oreshkova^{1, 2, 3, *}, A. V. Pimenov¹, T. S. Sedel'nikova¹, S. P. Efremov¹

¹*Sukachev Institute of Forest — a separate division of the Federal Research Center “Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences”, Krasnoyarsk, 660036 Russia*

²*Federal Research Center “Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences”, Krasnoyarsk, 660036 Russia*

³*Siberian Federal University, Krasnoyarsk, 660041 Russia*

**e-mail: oreshkova@ksc.krasn.ru*

Using microsatellite markers (SSR), the genetic polymorphism of five coenopopulations of Siberian larch (*L. sibirica*) growing in the Republic of Khakassia was assessed. The highest values of the average number of alleles per locus were found in coenopopulations of *L. sibirica* from the steppe meadows of the valley of Lake Fyrkal (3.9 ± 0.458) and forested upland slopes in the valley of Lake Agaskyr (3.9 ± 0.348). The latter cenopopulation is also characterized by the maximum value of the effective number of alleles per locus (2.302 ± 0.283) and the highest rates of observed and expected heterozygosity ($H_O = 0.487 \pm 0.074$, $H_E = 0.492 \pm 0.070$). Analysis of the population structure indicates a 0.8% excess of heterozygous genotypes relative to the population ($F_{IS} = -0.008 \pm 0.031$) and a 3.4% deficiency of heterozygous genotypes ($F_{IT} = 0.034 \pm 0.034$) relative to the species. The differentiation of the studied cenopopulations of *L. sibirica* by SSR markers is 4.3% ($F_{ST} = 0.043$). The smallest genetic distance (0.036) was detected between ecotopically most similar (forest) coenopopulations of *L. sibirica*, and the largest genetic distance (0.077), on the contrary, was identified between ecotopically contrasting (swamp and steppe) coenopopulations.

Keywords: genetic polymorphism, heterozygosity, conifers, microsatellite markers, larch, *Larix*.