

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 оステненных лугов долины озера Фыркал (3.9 ± 0.458) и облесенных суходольных склонов в долине озера Агасыр (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 экотопически максимально сходными (лесными) ценопопуляциями *L. sibirica*, а наибольшее генетическое расстояние (0.077), напротив, диагностировано между экотопически контрастными (болотной и оステнной) 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 лесообразующих видов boreально-зональной зоны Евразии. На территории России леса с участием лиственницы (*Larix* Mill.) занимают около 264 млн га, или 38% всей лесопокрытой площади. В пределах области своего распространения лиственница сибирская образует широкий спектр морфологической изменчивости, проявляющейся 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* горнотаежного, 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 K. Isoda и A. 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 электрофорограммы. 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 цетил-триметиламмониумбромида (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 ингибиованную для “горячего старта” Таq-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-бортного 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 НрАII.

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 MICRO-CHECKER [17]. Для построения филогенетического дерева использовались пакеты adegenet и poppr в R, построение производилось методом невзвешенных парногрупповых средних (UPGMA). Филогенетическое дерево было сгенерировано на основе стандартного генетического расстояния М. Няя [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 редких); лиственничное редколесье, остеиненное в пойме р. Карыш (KR) – 38 (8 редких). У ценопопуляции из долины р. Тунгужуль (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 фитоценотические условия, таксационные характеристики насаждений
TNZh 54°16' с. ш., 89°38' в. д.	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 толстокорымыми стволами и др.
KR 54°24' с. ш., 89°59' в. д.	Лиственничное редколесье (6–17 экз./га) оstepненно-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: кривостволовыми, мелкосуковатыми, нередко суховершинными; в группах преобладают прямостволовые, сильно сбежистые, крупносуковатые, низкорослые деревья с этажно-асимметричными, либо уплощенными, флагообразными и иными формами крон
AG-s 54°58' с. ш., 89°15' в. д.	Редкостойный лиственничник (40–60 экз./га) на сухих и свежих минеральных почвах по южному склону в долине оз. Агасыр – 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
AG-b 54°58' с. ш., 89°16' в. д.	Болотный лиственничник с елью на пятнисто-мерзлотных, среднемощных (до 120 см), избыточно влажных торфяных почвах эутрофного ряда водно-минерального питания в долине оз. Агасыр – 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)
FRK 54°30' с. ш., 89°46' в. д.	Лиственничное редколесье паркового типа (8–9 экз./га), низкоросло-разнотравное с кустарниками на оstepненных 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

локус *bcLK232*, в котором выявлено восемь аллелей. Локус *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. Агасыр и FRK (3.9 ± 0.458) – оstepненных 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

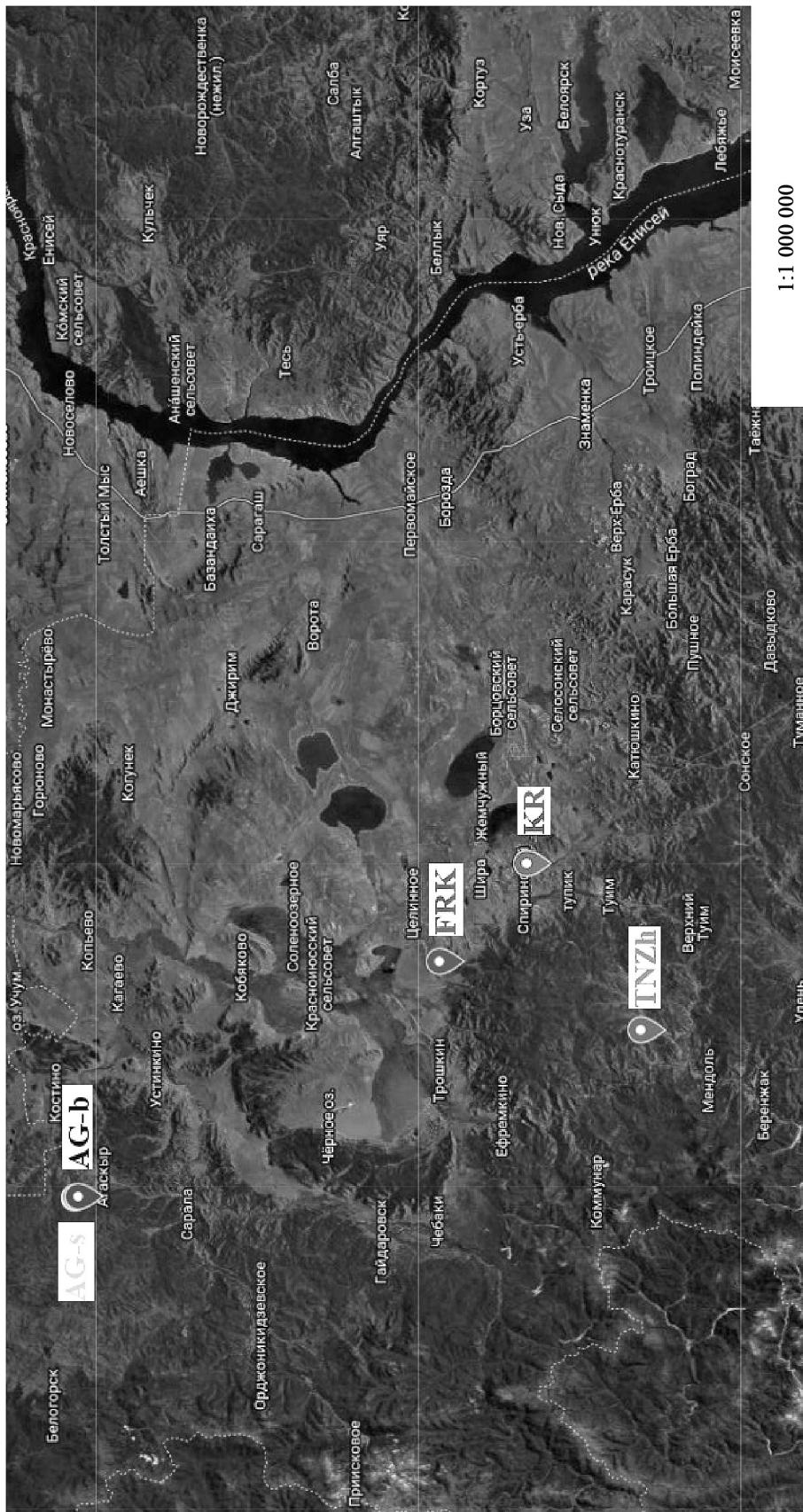


Рис. 1. Карта расположения изученных ценопопуляций *L. sibirica* в Ширинском и Орджоникидзевском районах Республики Хакасия (кодировка ценополуляционных выборок соответствует табл. 1).

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: TGTTGCTGGGTGTTAGA R: GGGTAATAGTCCAGTCTTG	142–178	[14]
<i>bcLK224</i>	$(AG)_{17}$	F: GGAGAGGCCACTACTATTATTAC R: ATGCCTTCCTTCATTCCCTCT	152–168	
<i>bcLK066</i>	$(TG)_{12}$	F: GCAACCGACAATGATTACATAG R: CCTAAAATGAACTTTGCTCAAT	155–172	
<i>Ls_954234</i>	$(ATT)_{15}$	F: TGGCGTTGGCTAAGTTGTAAC R: GGTTGATTATGTGTGTATGTGG	171–204	
<i>Ls_752897</i>	$(AAG)_{15}$	F: GCAGATGTTGATACAGTGGAGG R: CAGCTTCATTCGTGGCTAAT	216–264	
<i>Ls_417667</i>	$(AAT)_{16}$	F: CAGAGGATCTCATTCTGTTGA R: CTCGAAGGCCAATTAGGATAAA	207–243	
<i>Ls_2672894</i>	$(TTTG)_{11}$	F: CAAAGGATGGAATGTGTCTCAA R: GTTGGTATGGTTCCCAGAGTG	152–164	
<i>Ls_2552367</i>	$(CTAT)_{10}$	F: AAAGGTGCAATCACGTAAAGAC R: ATCGAAGCGGAAAATGTGTA	184–196	
<i>Ls_1008427</i>	$(ATAG)_{13}$	F: CACCCCTATCCCACAAATCTTA R: ATTTATCTTGGCCCTCATGC	152–174	
<i>Ls_305132</i>	$(GTCGGA)_{7}$	F: GCAGAGGCCGTTATTGATCTAT R: CCCTCGTTCCCTCTGACTA	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 наблюданной 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 вариабельные 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 распределется 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	<i>N</i>	χ^2	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
<i>bcLK232</i>	8	$63.751 (1.32 \cdot 10^{-4})^{***}$	0.020	0.109	0.091
<i>bcLK224</i>	4	$49.813 (5.125 \cdot 10^{-9})^{***}$	0.053	0.117	0.068
<i>bcLK066</i>	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; ± — стандартная ошибка.

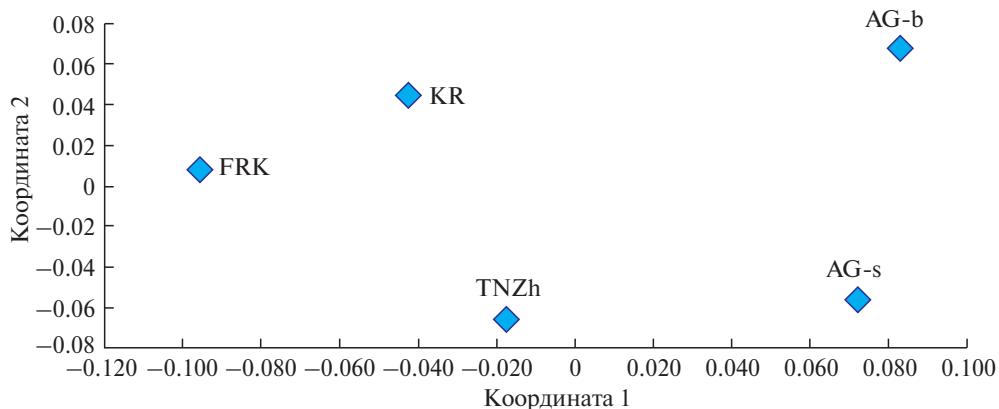


Рис. 2. Проекция изученных ценопопуляционных выборок *L. sibirica* на плоскости двух координат по данным PCA-анализа матрицы генетических расстояний (кодировка ценопопуляционных выборок соответствует табл. 1).

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 экотипически максимально сходными (лесными) ценопопуляциями TNZh и AG-s (табл. 5). Наибольшее генетическое расстояние (0.077), напротив, было диагностировано между экотипически контрастными ценопопуляциями – болотной AG-b и оステпенной FRK.

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

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

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

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 бутстрепа 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) экотипически 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

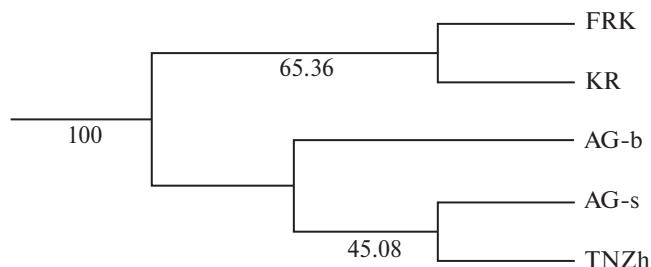


Рис. 3. Филогенетическое дерево пяти ценопопуляций *L. sibirica* (кодировка ценопопуляционных выборок соответствует табл. 1).

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 внутрипопуляционная 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 помочь в обработке полученных данных.

Работа выполнена в рамках Государственно-го 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. Милитина, Новосибирск: ГЕО, 2010. 159 с.
2. Орешкова Н.В., Белоконь 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., Унженина 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 obovata* 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 шишечек 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

- шестинуклеотидными) 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., Белоконь 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., Белоконь М.М., Жамъянсурен С. Генетическое разнообразие, популяционная структура и дифференциация лиственниц сибирской, Гмелина и Каяндеры 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 ecotypically most similar (forest) coenopopulations of *L. sibirica*, and the largest genetic distance (0.077), on the contrary, was identified between ecotypically contrasting (swamp and steppe) coenopopulations.

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