

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ГЕНОФОНДОВ ПОПУЛЯЦИЙ ЗАПАДНОЙ РАСЫ ЛИСТВЕННИЦЫ СИБИРСКОЙ *LARIX SIBIRICA* LEDEB. (*L. SUKACZEWII*) НА СРЕДНЕМ И СЕВЕРНОМ УРАЛЕ

Нечаева Ю.С., Жуланов А.А., Красильников В.П., Боронникова С.В.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», Пермь, e-mail: yulianecheava@mail.ru

Дана характеристика генофондов девяти популяций западной расы лиственницы сибирской *L. sibirica* Среднего и Северного Урала на основании анализа полиморфизма двух типов молекулярных маркеров (ISSR и SNP). Обнаружено, что в совокупности изученные популяции характеризуются высоким уровнем генетического разнообразия: доля полиморфных локусов (P_{95}) составила 0,951, ожидаемая гетерозиготность (H_E) в суммарной выборке – 0,202, а гаплотипическое разнообразие (H_d), определенное на основании полиморфизма SNP-маркеров – 0,896. Наибольшими значениями показателей генетического разнообразия характеризовались популяции *Ls5* и *Ls9*, а наименьшими – *Ls7*. При оценке уникальности генофонда использовали коэффициент генетической оригинальности (КГО), анализ которого позволил выявить популяции с типичными и специфичными для региона генофондами. Для комплексной оценки состояния генофондов популяций все установленные показатели генетического разнообразия переведены в разработанную на примере изученных природных популяций *L. sibirica* шкалу оценки состояния генофондов. Установлено, что в удовлетворительном состоянии находятся генофонды восьми изученных популяций, а в одной популяции (*Ls7*) отмечены признаки обеднения генофонда. Даны рекомендации по отбору популяций в качестве объектов сохранения генофондов *L. sibirica* на Среднем и Северном Урале.

Ключевые слова: полиморфизм ДНК, генетическое разнообразие, ISSR-маркеры, SNP-маркеры, генофонд популяции, *Larix sibirica* Ledeb.

ESTIMATE OF POPULATION'S GENE POOL OF WESTERN RACE OF SIBERIAN LARCH *LARIX SIBIRICA* LEDEB. (*L. SUKACZEWII*) IN THE MIDDLE AND NORTHERN URALS

Nechaeva Yu.S., Julanov A.A., Krasilnikov V.P., Boronnikova S.V.

Perm State University, Perm, e-mail: yulianecheava@mail.ru

The characteristic of the gene pools of nine populations of the western race of Siberian larch *L. sibirica* Middle and Northern Urals, based on the analysis of polymorphism of two types of molecular markers (ISSR and SNP). It was found that the total populations is characterized by a high level of genetic diversity: the percent of polymorphic loci (P_{95}) was 0.951, the expected heterozygosity (H_E) in the total sample – 0.202, and the haplotype diversity (H_d), calculated on the basis of polymorphism SNP-markers – 0.896. The highest values of indicators of genetic diversity of a have population *Ls5* and *Ls9*, and the least – *Ls7*. In estimating the uniqueness of gene pool, we used the factor of genetic originality (FGO), the analysis of which revealed a population with typical and specific gene pools for the study region. For a complex estimate of the status of populations gene pools all set of genetic diversity indicators were arranged in scale estimate of the state of gene pools on the example of studying natural populations of *L. sibirica*. It was found that in a acceptable status from all the studied populations gene pools, the one population (*Ls7*) has signs of depletion of the gene pool. We provides recommendations for the selection of populations as objects of the gene pools conservation *L. sibirica* in the Middle and Northern Urals.

Keywords: DNA polymorphism, genetic diversity, ISSR-markers, SNP- markers, gene pools of populations, *Larix sibirica* Ledeb.

Оценка современного состояния биологического разнообразия лесных фитоценозов и их ресурсов играет важную роль в формировании как фундаментальных основ изучения и сохранения растительных ресурсов, так и прикладных аспектов их рационального использования в хозяйственно-экономических интересах страны. На основе оценки характера изменчивости и популяционной структуры можно наметить общие пути

сохранения генофонда вида в регионе на популяционной основе, отобрать локальные популяций для сохранения и воспроизводства вида. Однако популяционный подход остается наименее разработанным в области сохранения биоразнообразия растений [7]. Изучение генофондов ресурсных видов растений с использованием молекулярных маркеров ДНК основано на анализе количественных характеристик генетического разнообразия популяций [3]. Для характеристики генетического разнообразия гетерогенных природных популяций растений необходим молекулярно-генетический анализ их генофондов с использованием, как минимум, двух типов высоко полиморфных молекулярных маркеров [2]. Эти маркеры должны давать возможность анализа полиморфизма различных структурных элементов генома. Так, ISSR-маркеры выявляют полиморфизм участков ДНК, заключенных между тандемно повторяющимися элементами – микросателлитами [10], и приобрели большую популярность для изучения генетического разнообразия ресурсных травянистых [1] и древесных видов растений [8]. Другой тип молекулярных маркеров (SNP-маркеры) выявляют нуклеотидный полиморфизм в локусах структурных генов. В совокупности два типа молекулярных маркеров позволяют проанализировать большую часть генома изучаемого вида, дать разностороннюю характеристику изучаемых генофондов и выявить их специфические особенности. Большую актуальность приобретает изучение генофондов ресурсных видов растений, занимающих обширные ареалы и имеющих хозяйственное значение, таких как виды рода *Larix* Mill., которые являются самыми распространенными древесными видами растений России и играют большую водоохранную и почвозащитную роль, особенно в северных и горных лесах. На Урале род *Larix* представлен западной расой лиственницы сибирской или л. Сукачева (*Larix sukaczewii* Dyl.). В связи с этим изучение генофондов популяций *L. sibirica* Северного и Среднего Урала на основе анализа полиморфизма двух типов ДНК-маркеров и разработка методики оценки состояния генофондов этого вида являются актуальной задачей для сохранения популяций лесных древесных видов, продуктивных и устойчивых к действию различных факторов среды.

Таким образом, **цель данного исследования** – дать характеристику и оценку состояния генофондов популяций западной расы лиственницы сибирской Северного и Среднего Урала на основании анализа полиморфизма двух типов молекулярных маркеров.

Материал и методы исследования

В качестве объектов исследований избраны девять природных популяций западной расы лиственницы сибирской, произрастающих на Среднем и Северном Урале, восемь из которых располагаются в Пермском крае: в государственном заповеднике «Вишерский» (*Ls1*, *Ls2*), около г. Красновишерск (*Ls3*); в Чердынском (*Ls4*), в Гаинском (*Ls5*), в

Добрянском (*Ls7*), в Суксунском (*Ls8*) районах, а также две популяции находятся в Свердловской области: вблизи г. Качканар (*Ls6*) и пос. Билимбай (*Ls9*).

Для проведения молекулярно-генетического анализа в каждой из популяций собрана хвоя – индивидуально с 28–30 деревьев. Для выделения ДНК использовали методику С. Роджерса [9] с небольшими модификациями. Для полимеразной цепной реакции ISSR-методом реакционная смесь объемом 25 мкл содержала: 2 единицы *Taq*-полимеразы; 2,5 мкл 10х буфера + $MgCl_2$ («Силекс М», Россия); 25 пМ праймера («Синтол», Россия); 0,25 мМ dNTP («Fermentas», Литва); 5 мкл ДНК. Амплификацию ДНК проводили по стандартной для ISSR-метода программе с пятью ISSR-праймерами: M3 – $(AC)_8CT$, X10 – $(AGC)_6C$, X11 – $(AGC)_6G$, ISSR-8 – $(GAG)_6C$, CR-215 – $(CA)_6GT$. Продукты амплификации разделяли электрофорезом в 1,7 % агарозном геле в 1х TBE буфере, окрашивали бромистым этидием. Фотографирование и определения длины фрагментов ДНК проводили с помощью системы гель-документации GelDoc и программы Quantity One («Bio-Rad», USA). Для выявления SNP-маркеров в геноме *L. sibirica* отобраны три локуса потенциально адаптивно-значимых генов: *4CL1-363*, *sSPcDFD040B03103-274*, *ABA-WDS*, амплификацию и секвенирование последовательностей данных локусов проводили в соответствии с рекомендациями, приведенными в литературных источниках [5].

Компьютерный анализ полиморфизма ДНК проведен с помощью общепринятых компьютерных программ POPGENE 1.31 и специализированного макроса GenAlEx6 для MS-Excel с определением доли (P_{95}) полиморфных локусов, абсолютного (n_a) числа аллелей, эффективного (n_e) числа аллелей, ожидаемой (H_E) гетерозиготности, информационного (I) Индекса Шеннона. Для выявления структуры внутривидового разнообразия применяли показатели внутривидового разнообразия (μ) и доли редких морф (h) [4]. Редактирование секвенированных последовательностей проводили в программе Sequence Scannerv1.0, местоположение полиморфных позиций определяли посредством выравнивания последовательностей в компьютерной программе BioEdit v7.2.5. В программе DNASP v5 были реконструированы гаплотипы и на основе сравнения их нуклеотидных последовательностей рассчитаны общее гаплотипическое разнообразие (H_d) и нуклеотидное разнообразие (π), оценивающее среднее число парных различий на сайт. Оценка состояния генофондов популяций проведена в соответствии с методикой С. В. Боронниковой [2]. Выявление специфических особенностей генофондов было проведено по модифицированной для дикорастущих древесных видов растений методике подсчета коэффициента генетической оригинальности – КГО [6].

Результаты и их обсуждение

ISSR-маркеры в зависимости от праймера у *L. sibirica* выявляли от 17 до 34 ISSR-маркеров и всего в девяти популяциях было детектировано 123 ISSR-маркера, из которых 117 были полиморфными, то есть в совокупности изученные популяции характеризуются высокой долей полиморфных локусов ($P_{95}=0,951$). В отдельных популяциях этот показатель варьировал в пределах от 0,741 в популяции *Ls7* до 0,871 в популяции *Ls9* (табл. 1). Другой из основных показателей генетической изменчивости – ожидаемая гетерозиготность (H_E). Она в суммарной выборке составила 0,202. Этот показатель выше в популяции *Ls9* ($H_E=0,246$), а самое низкое его значение ($H_E=0,171$) отмечено в популяции *Ls7*. Для анализа генетического разнообразия на популяционном уровне был применен индекс разнообразия Шеннона. Он также выявил наибольшее разнообразие в популяции *Ls9* ($I=0,369$), а наименьшее ($I=0,258$) – в популяции *Ls7* (табл. 1). В дополнение к показателям, полученным на основании полиморфизма ISSR-маркеров, проведена характеристика генетического разнообразия изученных популяций на основе анализа гаплотипического разнообразия трех локусов потенциально адаптивно-значимых генов *L. sibirica*. Наибольшим гаплотипическим разнообразием характеризуется популяция *Ls9* ($H_d=0,911$), а самое низкое значение этого показателя ($H_d=0,636$) выявлено в популяции *Ls8*. (табл. 1).

Большое значение для характеристики генофондов имеют показатели внутривнутрипопуляционного разнообразия, анализ которого с применением показателя μ установил, что из 9 изученных популяций большей равномерностью распределения частот аллелей характеризуются популяции *Ls5* и *Ls9* ($\mu=1,747$ и 1,738 соответственно), а наименьшей ($\mu=1,626$) – популяция *Ls7* (табл. 2). Показатель доля редких морф (h) оценивает структуру внутривнутрипопуляционного разнообразия. По мнению Л. А. Животовского (1980), чем меньше значения h порогового 0,3, тем более сбалансированной структурой разнообразия характеризуются популяции. У всех изученных популяций показатель h имеет значения меньше 0,3 (табл. 1), наиболее сбалансированной структурой разнообразия характеризуется популяция *Ls5* ($h = 0,113$), а наименее ($h=0,187$) популяция *Ls7* (табл. 1). Для сравнения данных о внутривнутрипопуляционном разнообразии, полученных с помощью двух типов ДНК-маркеров, проведен расчет показателя h на основании полиморфизма локуса *4CL1-363*. В качестве морф рассматривалось число гаплотипов в популяции. В результате получены аналогичные ISSR-маркерам закономерности в распределении и структуре внутривнутрипопуляционного разнообразия изученных популяций *L. sibirica*. Наиболее сбалансированной структурой нуклеотидного разнообразия характеризуются популяции *Ls5* и *Ls2* ($h=0,078$ и 0,075 соответственно), а наименее сбалансированной по данному типу маркеров ($h=0,258$) оказалась популяция *Ls8* (табл. 1).

Для характеристики своеобразия генофондов большое значение имеет число уникальных аллелей (*Un*). Уникальные аллели, присутствующие только в одной из популяций и встречающиеся с заметной частотой (более 1 %) характеризуют уникальность генофонда на популяционном уровне. С использованием ISSR-метода анализа полиморфизма ДНК в популяциях *Ls3*, *Ls5*, *Ls9* выявлено по одному уникальному, а в популяции *Ls6* – 2 уникальных ISSR-маркера. Информативными для выявления уникальных аллелей были и SNP-маркеры. Уникальные SNPs обнаружены в восьми популяциях *L. sibirica*: в популяции *Ls3* найдены 2 уникальных SNPs, а в популяции *Ls7* – 5, в остальных выявлено по 1 уникальному SNP-маркеру. В среднем с наибольшей частотой SNPs встречались в популяции *Ls5* (0,450), а с меньшей (0,130) – в популяции *Ls4* (табл. 1).

Установленные при молекулярно-генетическом анализе параметры генетического разнообразия *L. sibirica* разделены на четыре группы (табл. 1). К первой (1) группе относятся «Основные показатели генетического разнообразия», вторую группу (2) параметров генетического разнообразия составляют показатели внутривнутрипопуляционного разнообразия, третья группа (3) характеризует генетическую структуру и дифференциацию популяций (табл. 1). Важной группой параметров генетического разнообразия является четвертая (4), так как характеризует «специфику» генофонда. Высокие значения КГО популяции свидетельствуют о повышенном присутствии редких для региона исследований аллелей и соответственно специфичности ее генофонда, а популяции с минимальным значением КГО имеют минимальные частоты и число редких аллелей. Такие популяции характеризуются наиболее типичным или базовым генофондом [6]. При характеристике специфичности генофондов необходимо учитывать не только значения КГО, но также присутствие и число уникальных аллелей в популяции, так как наличие таких аллелей может указывать на особенности структуры генетического разнообразия популяций. Наибольшие значения КГО имеет популяция *Ls5* (КГО=1,171), кроме того в ней обнаружены уникальные аллели, выявленные с помощью как ISSR-, так и SNP-маркеров (табл. 1). Эта популяция является самой западной и располагается на большом расстоянии от других изученных популяций, вероятно в связи с этим в ней сосредоточены нетипичные для региона исследований аллели, что может быть обусловлено историей расселения вида в регионе и формированием его ареала из различных популяционных систем. Вторым по величине КГО и, соответственно, нетипичными аллелями обладает девятая популяция *L. sibirica* (КГО=0,939). Она расположена в предгорной области восточного макро-склона вблизи границы Среднего и Южного Урала и является самой южной из изученных популяций. В ней также обнаружены уникальные аллели, выявленные с помощью обоих типов ДНК-маркеров.

Оценка состояния генофондов популяций *L. sibirica*

Популяция	1. Основные показатели генетического разнообразия		2. Внутрипопуляционное разнообразие			3. Генетическая структура и дифференциация		4. Специфика генофондов	
	P_{95}	H_E	I	μ	Hd	h_{ISSR}	h_{SNP}	$Un_{ISSR/SNP}$	$KГО$
<i>Ls1</i>	0,772	0,172	0,271	1,639	0,872	0,181	0,154	0/1	0,935
<i>Ls2</i>	0,806	0,182	0,287	1,664	0,871	0,168	0,075	0/1	0,925
<i>Ls3</i>	0,806	0,189	0,298	1,698	0,887	0,151	0,111	1/2	0,760
<i>Ls4</i>	0,821	0,225	0,313	1,703	0,857	0,148	0,117	0/0	0,587
<i>Ls5</i>	0,871	0,223	0,338	1,774	0,836	0,113	0,078	1/1	1,171
<i>Ls6</i>	0,816	0,213	0,328	1,714	0,859	0,143	0,091	2/1	0,776
<i>Ls7</i>	0,741	0,168	0,258	1,626	0,883	0,187	0,160	0/5	0,703
<i>Ls8</i>	0,768	0,200	0,305	1,664	0,636	0,168	0,258	0/1	0,930
<i>Ls9</i>	0,872	0,242	0,369	1,738	0,911	0,131	0,126	1/1	0,939

Примечание: P_{95} – доля полиморфных локусов; H_E – ожидаемая гетерозиготность; I – информационный индекс Шеннона; μ – показатель внутрипопуляционного разнообразия; Hd – общее гаплотипическое разнообразие; h_{ISSR} – доля редких морф, рассчитанная на основании ISSR-маркирования; h_{SNP} – доля редких морф, рассчитанная на основании SNP-маркирования; $Un_{ISSR/SNP}$ – число уникальных аллелей, выявленных с помощью ISSR- и SNP-маркеров; КГО – коэффициент генетической оригинальности.

Наименьшее значение КГО имеет четвертая популяция (КГО=0,587), располагающаяся на севере Пермского края почти в центре района среднетаежных лесов, занимающих здесь огромные территории с непрерывным ареалом и практически не затронутые человеческой деятельностью (табл. 1). Вероятно, вследствие этого популяция ***Ls4*** характеризуется наиболее типичным генофондом. Уникальные маркеры в данной популяции не обнаружены. Таким образом, для ранжирования генофондов по степени специфичности предлагаются следующие интервалы: с КГО от 0,580 до 0,930 – типичный; с КГО от 0,930 и выше – специфичный, но при этом необходимо также учитывать наличие уникальных аллелей. Так, в популяции ***Ls7*** с КГО=0,703 выявлено наибольшее число (5) уникальных (то есть специфичных) аллелей, выявленных с помощью SNP-маркеров, поэтому генофонд данной популяции может быть отнесен к специфичным (табл. 1).

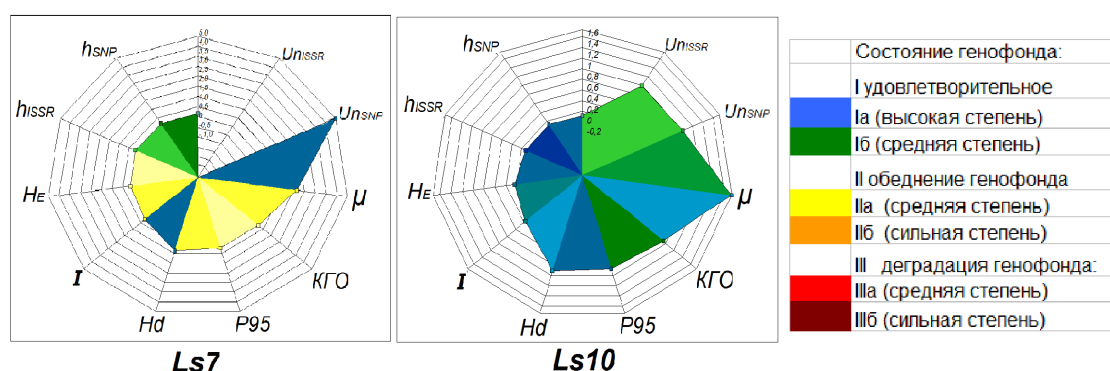
Для оценки состояния генофондов популяций все избранные показатели генетического разнообразия переведены в разработанную на примере изученных природных популяций *L. sibirica* шкалу оценки состояния генофондов. На основании данной шкалы установлено, что в высокой степени удовлетворительное состояние (Ia) характерно для генофондов популяций ***Ls5*** и ***Ls9*** (табл. 2); в средней степени удовлетворительном (Iб) состоянии находятся генофонды шести популяций *L. sibirica* (табл. 2), а в одной популяции наблюдается тенденция к обеднению генофонда (***Ls7***), его состояние оценено как средняя степень обеднения – IIa (табл. 2, рисунок).

Шкала оценки состояния генофондов популяций *L. sibirica*

Состояние генофонда	P_{95}	H_E	I	μ	H_d	$h_{ISSR/SNP}$	Un^I	КГО
I Удовлетворительное	>0,750	>0,170	>0,300	>1,650	>0,750	<0,200	>3	>0,900
Ia высокая степень	>0,820	>0,220	>0,350	>1,700	>0,870	<0,150		>1,100
Iб средняя степень	0,750-0,820	0,170-0,220	0,300-0,350	1,650-1,700	0,750-0,870	0,200-0,150		0,900-1,100
II Обеднение генофонда	0,550-0,750	0,100-0,170	0,200-0,300	1,500-1,650	0,550-0,750	0,300-0,200	1-2	0,500-0,900
IIa средняя степень	0,650-0,750	0,130-0,170	0,250-0,300	1,550-1,650	0,650-0,750	0,250-0,200		0,700-0,900
IIб сильная степень	0,550-0,650	0,100-0,130	0,200-0,250	1,500-1,550	0,550-0,650	0,300-0,250		0,500-0,700
III Дегенерация генофонда	<0,550	<0,100	<0,250	<1,500	<0,550	>0,300	<1	<0,500
IIIa средняя степень	0,450-0,550	0,050-0,100	0,200-0,250	1,300-1,500	0,450-0,550	0,350-0,300		0,400-0,500
IIIб сильная степень	<0,450	<0,050	<0,200	<1,500	<0,450	>0,350		<0,400

Примечание: P_{95} – доля полиморфных локусов; H_E – ожидаемая гетерозиготность; I – информационный индекс Шеннона; H_d – общее гаплотипическое разнообразие; μ – показатель внутривидового разнообразия; $h_{ISSR/SNP}$ – доля редких морф, рассчитанная на основании ISSR- и SNP-маркирования; Un^I – общее число уникальных аллелей, выявленных с помощью ISSR- и SNP-маркеров; КГО – коэффициент генетической оригинальности.

С целью сохранения генофонда ценного ресурсного вида растений *L. sibirica* рекомендуется отбирать как популяции с типичными (базовыми) генофондами, так и популяции, обладающие специфическими особенностями генофондов, являющиеся резервом генетической изменчивости.



Оценка состояния генофондов на примере двух популяций *L. sibirica*; P_{95} , H_E , I , H_d , μ , h_{ISSR} , h_{SNP} , Un_{ISSR} , Un_{SNP} , КГО – показатели генетического разнообразия; справа – шкала оценки состояния генофондов

Для отбора в качестве объектов сохранения могут быть рекомендованы популяции со специфическими генофондами, обладающие высоким уровнем генетического разнообразия.

Например, такие как популяции *Ls5* и *Ls10*, характеризующиеся высокими значениями КГО и наибольшими показателями генетического разнообразия. Кроме того, популяция *Ls7*, для которой характерно в целом обедненное состояние генофонда, имеет наибольшее число уникальных SNPs-маркеров и высокий показатель гаплотипического разнообразия, поэтому может быть рекомендована для отбора в качестве резерва генетической изменчивости на нуклеотидном уровне при сохранении генофонда вида (рисунок). Для сохранения базовых генофондов лиственницы сибирской предлагается популяция *Ls4*, для которой характерно в целом в средней степени удовлетворительное состояние генофонда, отсутствие уникальных маркеров и сбалансированная генетическая структура. Так же типичным генофондом обладает популяция *Ls2*. Данная популяция характеризуется высоким уровнем генетической изменчивости и внутривидового разнообразия, доля редких морф ($h_{ISSR}=0,168$; $h_{SNP}=0,075$) свидетельствует о практически ненарушенной генетической структуре. Она находится на территории заповедника «Вишерский» на высоте около 800 метров над уровнем моря и поэтому может быть использована для сохранения генофонда *L. sibirica* в горах.

Заключение

Таким образом, на основании данных о генетическом разнообразии, полученных с помощью двух типов молекулярных маркеров, установлено, что в удовлетворительном состоянии находятся генофонды восьми изученных популяций, а в одной популяции (*Ls7*) отмечены признаки обеднения генофонда. Наибольшие значения коэффициента генетической оригинальности (КГО) как интегрального показателя популяционного разнообразия установлены в популяциях *Ls5* и *Ls10*. Для отбора в качестве объектов сохранения генофондов рекомендуются популяции с типичными и специфическими генофондами. Изучение генетической изменчивости природных популяций древесных растений и оценка состояния их генофондов могут быть использованы для составления генетически обоснованных программ по сохранению, восстановлению и рациональному использованию лесных генетических ресурсов.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке программы «УМНИК» Фонда содействия развития малых форм предприятий в научно-технической сфере (2013–2015 гг.).

Список литературы

1. Боронникова С.В. Исследование генетической изменчивости популяций редкого вида Урала *Adenophora lilifolia* (L.) A.DC. на основании анализа полиморфизма ISSR-маркеров // Генетика. – 2009. – Т. 45, № 5. – С.652–655. (Boronnikova S.V. Genetic Variation in Ural

Populations of the Rare Plant Species *Adenophora lilifolia* (L.) DC. inferred from ISSR-markers // Russian Journal of Genetics. – 2009. – Vol. 45, №5. – P. 573-576.

2. Боронникова С. В. Молекулярно-генетический анализ и оценка состояния генофондов ресурсных видов растений Пермского края: монография. – Пермь: Перм. гос. нац. исслед. ун-т, 2013. – 223 с.

3. Боронникова С.В. Популяционно-генетический мониторинг генофондов редких ресурсных видов растений Пермского края // Флора Урала в пределах бывшей Пермской губернии и ее охрана: материалы межрегиональной конференции, посвященной 140-летию со дня рождения П.В. Сюзева. – Пермь, 2007. – С. 37-43.

4. Животовский Л.А. Показатель внутривидового разнообразия // Журн. общ. биологии. – 1980. – Т. 41, № 6. – С. 828-836.

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

6. Потокина Е. К., Александрова Т.Г. Методы классификации внутривидового разнообразия по результатам молекулярного маркирования // Фундаментальные и прикладные проблемы ботаники в начале XXI века: Материалы Всероссийской конф. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2008. – Ч. 3. – С. 62-65.

7. Путенихин В. П. Фенотипическая структура популяций дуба черешчатого в Башкирском Предуралье как основа сохранения генофонда вида в регионе // Изв. Самар. науч. центра РАН. – 2013. – Т.15, № 3 (4). – С. 1410-1412.

8. Светлакова Т.Н. Эколого-генетический анализ популяционной структуры *Populus tremula* L. в Пермском крае // Экологическая генетика. – 2012. – Вып.3. – С. 43-47.

9. Rogers S.O., Bendich A.J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // Plant Molecular Biology. – 1985. – Vol. 1, no. 19. – P. 69-76.

10. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification // Genomics. – 1994. – V.20. – P. 76–183.