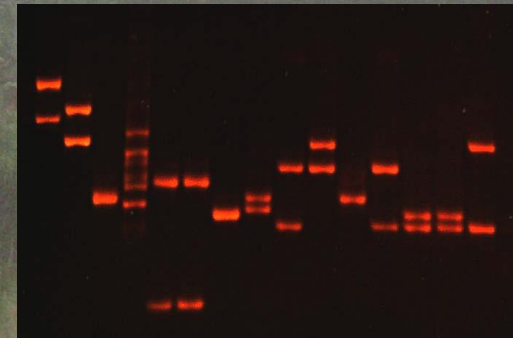


Исследовательский проект 8. Изучение, сохранение и рациональное использование лесных генетических ресурсов России (темы 8.1-8.6)

Политов Д.В.

*Лаборатория популяционной генетики
Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН,
Москва*

Москва, КПНИ-Лес, 02 февраля 2017



Актуальность проекта

- В настоящее время не разработана **концепция охраны и неистощительного использования лесных генофондов**.
- Важнейшим условием поддержания **устойчивости** лесных экосистем к внешним (климатическим, антропогенным) воздействиям является **сохранение и воспроизводство биоразнообразия**, одной из ключевых составляющих которого является **внутривидовое генетическое разнообразие** основных лесообразующих видов древесных растений.
- Для сохранения генетического потенциала видов-лесообразователей необходимо применять не только классические методы *in situ* и *ex situ*, которые по своей природе являются «статическими», но и **«динамические»** методы, гарантирующие решение задачи непосредственно в процессе лесопользования и лесовосстановления.
- Леса России, благодаря их обширному распространению в разных природно-климатических условиях, являются прекрасным объектом для исследования **сопряжённой изменчивости между изменчивостью генетических маркеров** (в первую очередь **молекулярных**) и **адаптивно значимыми признаками фенотипа**.
- Леса России представляют ценность в качестве «резервного хранилища» **генетического разнообразия** (ГР), необходимого для полноценного **воспроизводства генофонда** лесов не только России, но и сопредельных государств, где большая часть лесов имеет искусственное происхождение с обедненным ГР.
- Проект поможет решить задачи оптимизации **лесосеменного районирования, контроля незаконного оборота** продукции лесного комплекса (в том числе на международном уровне)
- **Инвентаризация и паспортизация** селекционных объектов и отдельных генотипов, **сертификация** партий семян и т.д. Мобилизация и внедрение селекционных достижений и получение новых перспективных сортов и генотипов лесных пород
- Давно назрела необходимость сформулировать **генетические правила рубок и лесовосстановления**

Проект 8. Темы 8.1-8.6

Исполнители (принимавшие участие в обсуждении):

ИОГен РАН - Москва

ИЦ КНЦ СО РАН (ИЛ СО РАН, ЗСО ИЛ СО РАН) - Красноярск

ИМКЭС СО РАН - Томск

ИЭРиЖ УрО РАН - Екатеринбург

Бот.сад УрО РАН - Екатеринбург

ЦСБС СО РАН - Новосибирск

СИФИБР СО РАН - Иркутск

ФИБХ РАН - Пущино

Научные темы

- 8.1 Разработка национальной концепции сохранения, использования и воспроизводства лесных генетических ресурсов
- 8.2 Разработка методов молекулярно-генетического маркирования лесных ресурсов России
- 8.3 Генетические подходы к совершенствованию принципов лесосеменного районирования
- 8.4 Генетические основы лесопользования
- 8.5 Сукцессионная динамика и рациональное использование лесных популяционных генофондов
- 8.6 Эпигенетические основы адаптации и продуктивности лесных древесных растений

Научная тема 8.1. Разработка национальной концепции сохранения, использования и воспроизводства лесных генетических ресурсов

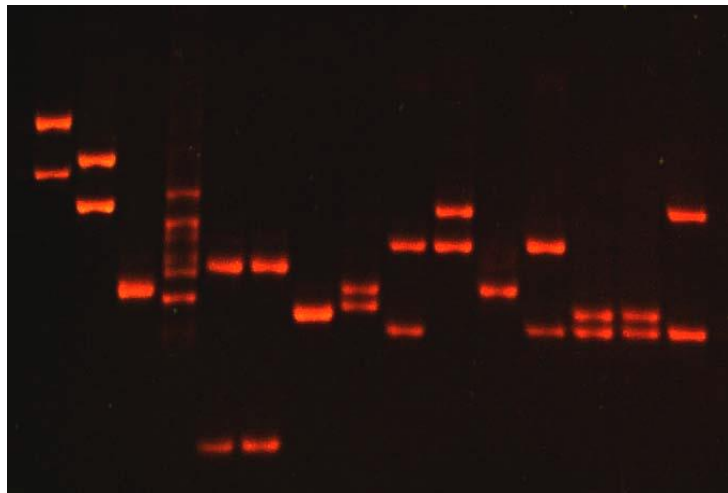
(С.Н. Горошкевич, В.В. Тараканов, К.В. Крутовский, Д.В. Политов)

- Для большей части используемых человеком растений действует простое правило: дикие виды растут в природе и сами отвечают за свою устойчивость, производные от диких видов сорта выращиваются в культуре и за их устойчивость отвечает человек.
- Лесные деревья считаются исключением из этого правила: им не дают самим отвечать за свою **устойчивость** и при этом **не вводят в культуру**.
- Центральная идея программы – ликвидировать эту порочную практику: четко разделить леса на естественные и прочие.

Естественные леса	Все остальные леса	
	Производные от естественных «целевые» леса	Плантации
Оптимальная генетическая структура	Обедненная генетическая структура	

Научная тема 8.2. Разработка методов молекулярно-генетического маркирования лесных ресурсов России

Молекулярно-генетические маркеры (МГМ) – основа молекулярной идентификации, диагностики и паспортизации лесных генетических ресурсов



Идентификация:

- видов и таксонов более высокого ранга
- межвидовых и внутривидовых гибридов
- подвидов и рас
- локальных популяций и субпопуляций
- экотипов
- сортов, элитных и прочих индивидуальных генотипов
- гибридов

Важной задачей является **разработка, подбор и тестирование** МГМ для конкретных видов, уровней таксономической и популяционной иерархии и конкретных задач

8.2.1 Молекулярное маркирование ценных генотипов древесных растений

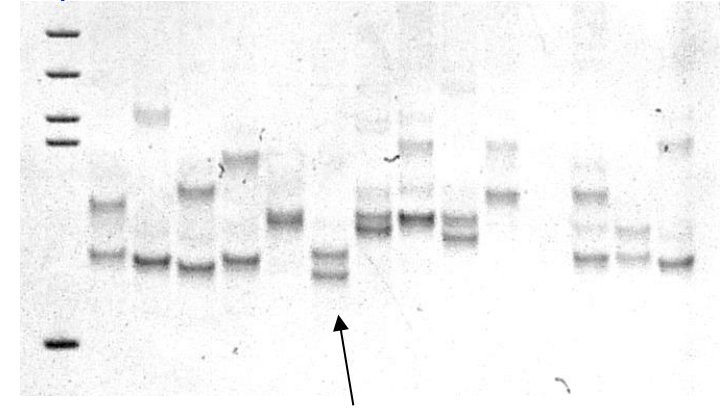
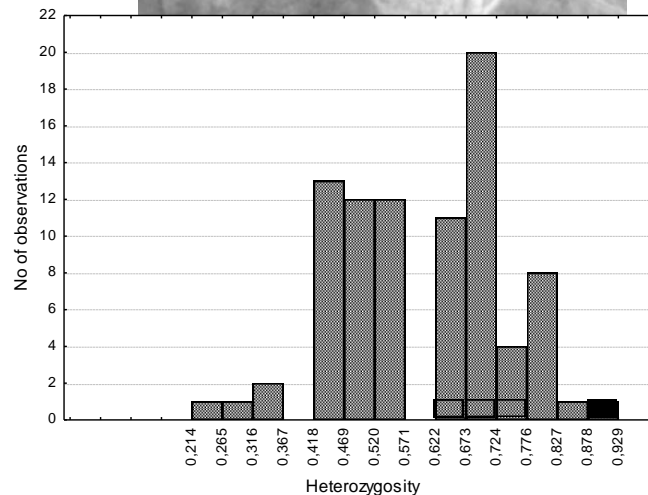
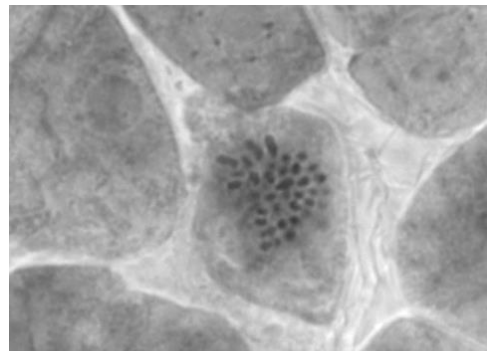
Разработка методов идентификация и паспортизация селекционных достижений на индивидуальном уровне:

элитных и прочих индивидуальных генотипов,

Особенно важно для генотипов, размножаемых вегетативно, в т.ч. микроклонально

Основной метод – микросателлитный анализ

Подбор и тестирование
ПЦР-праймеров
Отработка режимов ПЦР
Мультиплексирование



8.2.2 Молекулярно-генетическая идентификация видов и межвидовых гибридов древесных растений

Разработка методов молекулярно-генетической идентификации видов:

Для многих родов древесных растений смыкается с задачей популяционной дифференциации

Проблемные таксоны:

лиственницы, ивы, тополя, березы, ели ...

Основные методы:

- секвенирование или ПЦР-ПДРФ анализ фрагментов ядерного генома и органельных (мт и хп) субгеномов
- SNP

ДНК

из древесины



The leader in applied forestry genetics for conservation and sustainable timber trade.

We bridge the gap between cutting edge genetics, forest management and timber supply chain issues.

В отличие от тропиков в бореальной зоне нужно идентифицировать **небольшое число видов**, но популяции могут представлять огромные ареалы => нужны усилия, чтобы показать устойчивость диагностических маркеров

Sponsor a tree species



We are launching a sponsorship programme to link private sector, community groups and the scientific community to drive the campaign for tree barcoding. The DNA barcoding movement is the largest biodiversity genomics initiative ever undertaken – all data created goes into the public domain.

Find out more about how you can participate as a citizen scientist, sponsor or advertiser please [click here](#).

Australian Illegal Logging Prohibition Bill

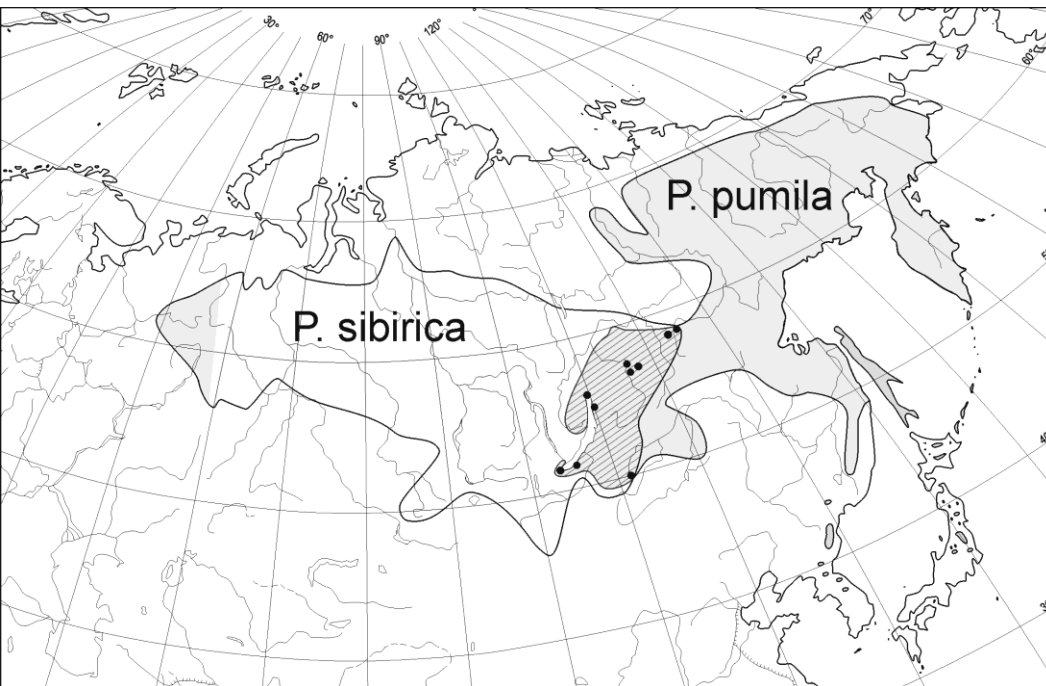


The long awaited Australian legislation to prevent illegal wood products being sold in Australia is still being held up in the Committee process.

To find out about the arguments for and against – as well as to see our submission [click here](#).

Научная тема 8.2. Молекулярно-генетическая идентификация видов и межвидовых гибридов древесных растений – ИМКЭС СО РАН

Дифференциация видов и гибридов основана на исследовании трех геномов – хлоропластного, митохондриального и ядерного – наследуемых от отца, матери и обоих родителей, соответственно. Молекулярно-генетические данные идеально дополняют морфологические исследования, проведенные в полевых условиях. Для выявления древних событий межвидового генетического обмена служат единственным надежным источником информации.

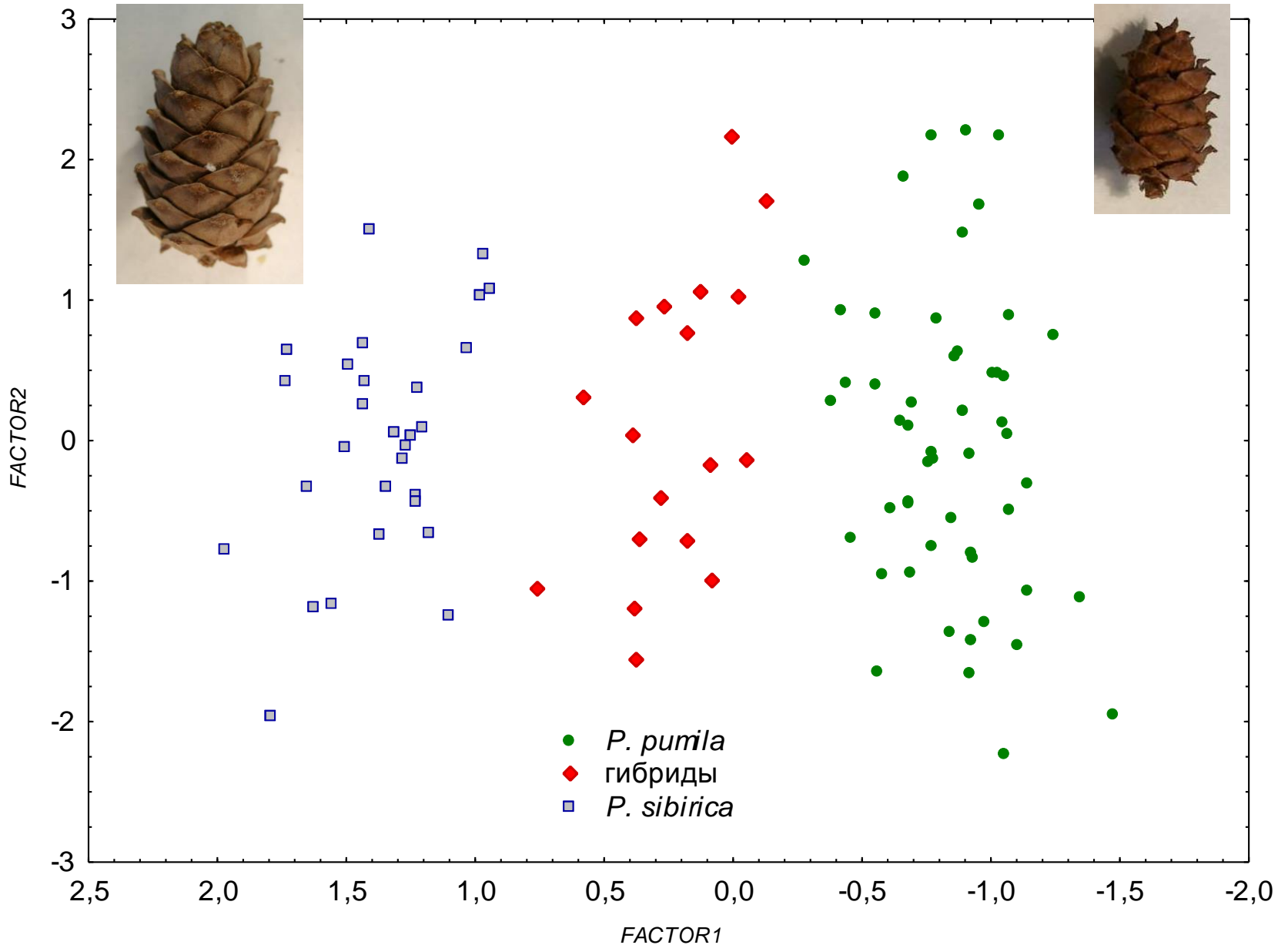


Ареалы кедрового стланика и сибирского кедра. Точками показаны экспедиции, проведенные в области перекрывания ареалов



Гибрид кедрового стланика и сибирского кедра. Куанда, урочище Кедровая Падь

Межвидовая гибридизация *P. sibirica* x *P. pumila* (РСА по аллозимным генотипам)



8.2.3 Молекулярно-генетическая идентификация популяций и анализ внутривидовой генетической структуры древесных растений

- Оценка степени генетической дифференциации
- Анализ современной геногеографической картины (распространение аллелей и гаплотипов)
- Реконструкция филогеографических паттернов («внутривидовая филогения»)



ТЕОРИЯ

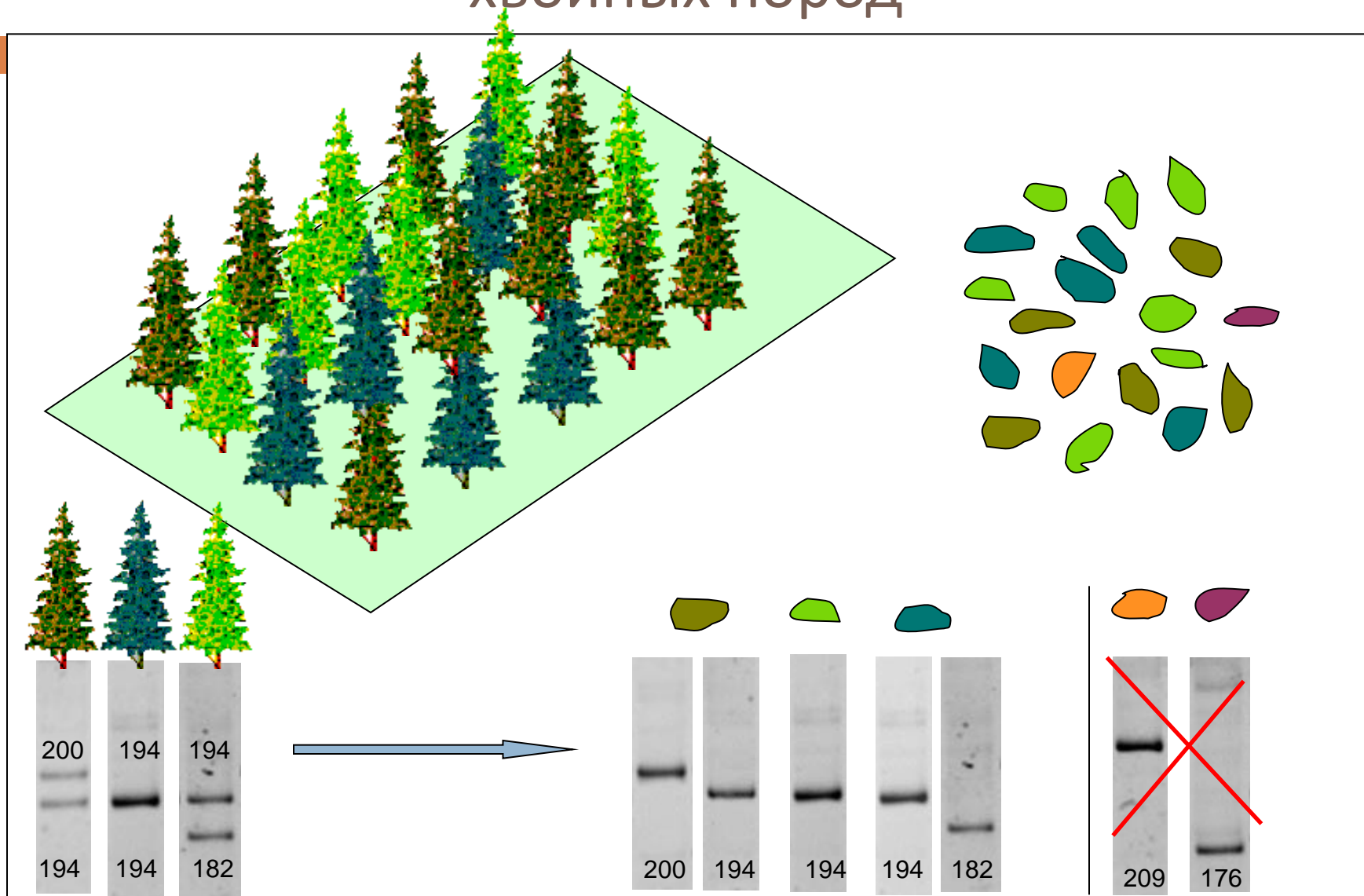
- Интенсивность и механизмы миграции
- Локальная адаптация и отбор



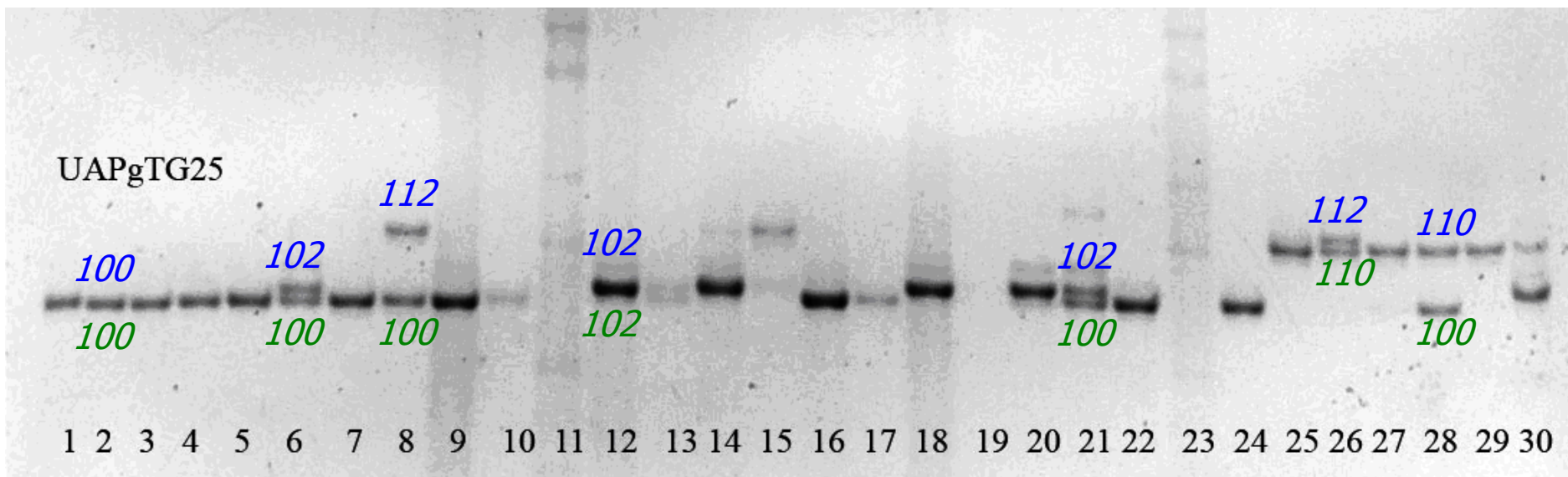
ПРАКТИКА

- Генетическая идентификация
- Разработка стратегий сохранения и рациональной эксплуатации генофондов

Паспортизация ЛСП и сертификация семян хвойных пород



МИКРОСАТЕЛЛИТНЫЕ ЛОКУСЫ ДЛЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПАСПОРТИЗАЦИИ И СЕРТИФИКАЦИИ ЕЛИ



ТЕСТОВАЯ ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СЕРТИФИКАЦИЯ ПАРТИИ СЕМЯН С ПОМОЩЬЮ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ

Тестовая генетическая сертификация партии семян на соответствие клоновой лесосеменной плантации

Генотип дерева №	Локус	Локус	Локус	клон 1	клон 1	клон 2	клон 2	клон 3	клон 3		
	1	2	3	аллель 1	аллель 2	аллель 1	аллель 2	аллель 1	аллель 2		
клон 1	86 90	98 94	106 104								
клон 2	84 86	96 98	104 108								
клон 3	88 90	98 94	102 108								
Генотип зародыша №	М О	М О	М О	М О		М О		М О		ММ (семена)	ОО (пыльца)
зародыш 1	92 86	96 96	106 102	ЛОЖЬ	ИСТИНА	ИСТИНА	ИСТИНА	ИСТИНА	ИСТИНА	ЛОЖЬ	ИСТИНА
зародыш 2	94 94	94 94	104 104	ЛОЖЬ	ЛОЖЬ	ИСТИНА	ИСТИНА	ИСТИНА	ИСТИНА	ЛОЖЬ	ЛОЖЬ
зародыш 3	86 92	96 94	106 104	ИСТИНА	ЛОЖЬ	ИСТИНА	ИСТИНА	ИСТИНА	ИСТИНА	ИСТИНА	ЛОЖЬ
зародыш 4	86 92	102 94	104 108	ИСТИНА	ЛОЖЬ	ИСТИНА	ИСТИНА	ИСТИНА	ИСТИНА	ИСТИНА	ЛОЖЬ
зародыш 5	90 94	94 98	108 106	ИСТИНА	ЛОЖЬ	ИСТИНА	ИСТИНА	ИСТИНА	ИСТИНА	ИСТИНА	ЛОЖЬ
зародыш 6	94 92	96 92	108 100	ЛОЖЬ	ЛОЖЬ	ИСТИНА	ЛОЖЬ	ИСТИНА	ИСТИНА	ЛОЖЬ	ЛОЖЬ
зародыш 7	92 96	100 98	108 104	ЛОЖЬ	ЛОЖЬ	ЛОЖЬ	ИСТИНА	ИСТИНА	ИСТИНА	ЛОЖЬ	ЛОЖЬ
зародыш 8	90 90	96 102	102 108	ИСТИНА	ИСТИНА	ИСТИНА	ИСТИНА	ИСТИНА	ИСТИНА	ИСТИНА	ИСТИНА
Результаты сертификации										ЛОЖЬ	ЛОЖЬ
Процент засора										50.0%	75.0%

Подходы и параметры (количественная оценка состояния генетического разнообразия и выявление факторов его динамики) – скрининг и мониторинг ГР

Оценка уровней и структуры внутри- и межпопуляционной генетической дифференциации

Геногеография

Филогеография (внутривидовая филогения)

F_{ST} доля межпопуляционной изменчивости в общей изменчивости (Wright 1978, Nei 1977, Weir & Cockerham 1984), AMOVA

D_N генетическое расстояние Нея (Nei 1972)

UPGMA кластеризация методом невзвешенных парно-групповых средних

NJ кластеризация методом присоединения ближайшего соседа

MDS неметрическое многомерное шкалирование

PCA анализ главных компонент

Анализ соответствий

Анализ многолокусных генотипов (*STRUCTURE*)

Байесовские подходы

Геногеографическое картирование

Уровни генетической подразделенности в популяциях хвойных Палеарктики

F_{ST} (аллозимы)

Pinus
1.3-9.8%

Регион	Род	Вид	Маркеры	Показатель	N_p	N_{ind}	$N_{ind}C$	N_i	F_{ST}	Источник
Урал	Pinus	sylvestris	аллозимы	F_{ST}	1	758	68,9	13	0,021	Шигапов и др., 1997
Урал	Pinus	sylvestris	аллозимы	F_{ST}	8	348		18	0,029	Янбаев, 2002
В. Европа, Сибирь	Pinus	sylvestris	аллозимы	F_{ST}	2					
В. Европа, Сибирь	Pinus	sylvestris	аллозимы	F_{ST}	6	770	29,6	21	0,028	Гончаренко, Силин, 1997
В. Европа, Сибирь	Pinus	sylvestris	аллозимы	G_{ST}	2					
В. Европа, Сибирь	Pinus	sylvestris	аллозимы	G_{ST}	6	770	29,6	21	0,034	Гончаренко, Силин, 1997
Зауралье	Pinus	sylvestris	аллозимы	F_{ST}	5	157	31,4	15	0,016	Белоконь и др., 1998
Приморье	Pinus	sylvestris	аллозимы	F_{ST}	4			24	0,064	Potenko 2003
В. Русской равнины	Pinus	sylvestris	аллозимы	F_{ST}	4	200	50,0	13	0,024	Филиппова и др., 2006
З. Сибирь - Тургай	Pinus	sylvestris	аллозимы	F_{ST}	1					
Зауралье	Pinus	sylvestris	аллозимы	F_{ST}	0	500	50,0	13	0,024	Филиппова и др., 2006
Горный Урал	Pinus	sylvestris	аллозимы	F_{ST}	8	400	50,0	13	0,013	Филиппова и др., 2006
Горный Урал и смежные территории	Pinus	sylvestris	аллозимы	F_{ST}	1					
Горный Урал и смежные территории	Pinus	sylvestris	аллозимы	F_{ST}	1	550	50,0	13	0,031	Филиппова и др., 2006
Горный Урал и смежные территории	Pinus	sylvestris	аллозимы	F_{ST}	3	165				
Горный Урал и смежные территории	Pinus	sylvestris	аллозимы	F_{ST}	3	0	50,0	13	0,029	Филиппова и др., 2006
Россия	Pinus	sylvestris	аллозимы	F_{ST}	2					
Россия	Pinus	sylvestris	аллозимы	F_{ST}	4	811	30,9	13	0,081	Семерилов, 1991
З. Сибирь, болото-суходол	Pinus	sylvestris	аллозимы	F_{ST}	1					
З. Сибирь, болото-суходол	Pinus	sylvestris	аллозимы	F_{ST}	4	602	43,0	14	0,030	Санников, Петрова, 2003
В. Европа, болото-суходол	Pinus	sylvestris	аллозимы	F_{ST}	1					
В. Европа, болото-суходол	Pinus	sylvestris	аллозимы	F_{ST}	0	365	36,5	14	0,040	Санников, Петрова, 2003
Украинские Карпаты, горные-предгорные	Pinus	sylvestris	аллозимы	F_{ST}	1					
Украинские Карпаты, горные-предгорные	Pinus	sylvestris	аллозимы	F_{ST}	0	409	40,9	14	0,072	Санников, Петрова, 2003
Северный Кавказ, разновысотные	Pinus	sylvestris	аллозимы	F_{ST}	1					
Северный Кавказ, разновысотные	Pinus	sylvestris	аллозимы	F_{ST}	5	203	40,6	13	0,022	Санников, Петрова, 2003
З. Сибирь, суходольные	Pinus	sylvestris	аллозимы	F_{ST}	1					
З. Сибирь, суходольные	Pinus	sylvestris	аллозимы	F_{ST}	0	447	44,7	14	0,028	Санников, Петрова, 2003
З. Сибирь, болотные	Pinus	sylvestris	аллозимы	F_{ST}	8	240	30	16	0,028	Ларионова, Экарт 2010
Приморье	Pinus	funebri	аллозимы	F_{ST}	5			24	0,098	Potenko 2003
Приморье	Pinus	densiflora	аллозимы	F_{ST}	3			24	0,030	Potenko 2003
Сибирь	Pinus	sibirica	аллозимы	F_{ST}	9	107	11,9	20	0,040	Гончаренко, Силин, 1997
Сибирь	Pinus	sibirica	аллозимы	F_{ST}	9	107	11,9	20	0,042	Гончаренко, Силин, 1997
Томская обл., Алтай, З. Саян	Pinus	sibirica	аллозимы	G_{ST}	1					
Томская обл., Алтай, З. Саян	Pinus	sibirica	аллозимы	F_{ST}	1			15	0,025	Политов и др., 1992; Политов, 2007
Байкальский регион	Pinus	sibirica	аллозимы	F_{ST}	2					
Байкальский регион	Pinus	sibirica	аллозимы	F_{ST}	0			22	0,044	Политов, 1998; 2007

Уровни генетической подразделенности в популяциях хвойных Палеарктики

Picea
2.9-9.5%

Сибирь	Pinus	sibirica	ядерные микросателлиты	F _{ST}	6				5	0,085	Mudrik et al., 2010
Д. Восток	Pinus	koraiensis	аллозимы	F _{ST}	7	889	52,3	23		0,018	Великов, Потенко, 2006
Д. Восток	Pinus	koraiensis	аллозимы	G _{ST}	7	889	52,3	23		0,021	Великов, Потенко, 2006
Д. Восток РФ, Китай, Корея	Pinus	koraiensis	аллозимы	F _{ST}	4			23		0,018	Белоконь, 2007, Политов, 2007
Сахалин, Чукотка	Pinus	pumila	аллозимы	F _{ST}	5	63	12,6	22		0,043	Goncharenko et al., 1993
Сахалин, Чукотка, Итуруп	Pinus	pumila	аллозимы	F _{ST}	5	78	15,6	20		0,049	Гончаренко, Силин, 1997
Сахалин, Чукотка, Итуруп	Pinus	pumila	аллозимы	G _{ST}	5	78	15,6	20		0,051	Гончаренко, Силин, 1997
Байкальский регион	Pinus	pumila	аллозимы	F _{ST}	2			32		0,073	Малюченко и др., 1998
Ареал в пределах РФ	Pinus	pumila	аллозимы	F _{ST}	9			28		0,080	Политов, 2007
Приморье, Камчатка, Прибайкалье	Pinus	pumila	аллозимы	F _{ST}	3	75	25,0	16		0,050	Наконечная и др., 2010
В. Сибирь и Д. Восток	Picea	jezoensis	аллозимы	F _{ST}	5	94	18,8	25		0,030	Гончаренко, Падутов, 1999
Ц., З. и В. Европа, Урал, Сибирь	Picea	obovata	аллозимы	F _{ST}	0	n/a		25		0,095	Krutovskii, Bergmann, 1995
Ц., З. и В. Европа, Урал, Сибирь	Picea	abies & obovata	аллозимы	F _{ST}	1					0,080	Политов, Крутовский, 1998; Политов, 2007
В. Европа, Урал, Сибирь	Picea	abies & obovata	nSSR	F _{ST}	5			4		0,122	Мудрик и др., 2010; Жулина и др., 2012
В. Европа	Picea	obovata	аллозимы	F _{ST}	5	281	56,5	12		0,081	Наквасина и др., 2008
Ц., З. и В. Европа, Урал, Сибирь	Picea	obovata	аллозимы	F _{ST}	4	518	37,0	14		0,039	Янбаев, 2002; Янбаев и др., 1997
Ср. Сибирь	Picea	obovata	аллозимы	F _{ST}	3			22		0,029	Ларионова и др., 2007
З. и Ср. Сибирь	Picea	obovata	аллозимы	F _{ST}	4			25		0,052	Гончаренко, Падутов, 1999
З. и Ср. Сибирь	Picea	obovata	аллозимы	G _{ST}	4			25		0,061	Гончаренко, Падутов, 1999
В. Сибирь и Д. Восток	Picea	jezoensis	аллозимы	G _{ST}	5	94	18,8	25		0,032	Гончаренко, Падутов, 1999
В. Сибирь и Д. Восток	Picea	jezoensis	аллозимы	F _{ST}	9	282	35,3	20		0,024	Potenko & Knysh 2003
В. Сибирь, Д. Восток, Камчатка	Picea	jezoensis & kamchatkensis	аллозимы	F _{ST}	2	377	31,4	20		0,076	Potenko 2007
Сахалин	Picea	glehnii	аллозимы	F _{ST}	3	35	11,7	25		0,029	Гончаренко, Падутов, 1999
Сахалин	Picea	glehnii	аллозимы	G _{ST}	3	35	11,7	25		0,030	Гончаренко, Падутов, 1999
З. Саян	Abies	sibirica	аллозимы	F _{ST}	3			19		0,042	Ларионова, Экарт, 2005

Уровни генетической подразделенности в популяциях хвойных Палеарктики

Abies
1.5-10.2%

Larix
3.8-20.2%

Ср. Сибирь	Abies	sibirica	аллозимы	F _{ST}	9			7	0,052	Ларионова и др., 2007
Томская обл.	Abies	sibirica	аллозимы	F _{ST}	5			20	0,015	Ларионова, Экарт, 2012
Урал, Сибирь	Abies	sibirica	аллозимы	F _{ST}	2	111		3	0,102	Семерикова, Семериков, 2006
Урал, Сибирь	Abies	sibirica	аллозимы	F _{ST}	3	183				
Урал, Сибирь	Abies	sibirica	аллозимы	F _{ST}	8	2	48,2	3	0,087	Semerikova et al., 2011
Урал, Сибирь	Abies	sibirica	хп-микросателлиты	R _{ST}	3			2	0,081	Semerikova et al., 2011
Урал, Сибирь	Abies	sibirica	хп-микросателлиты	R _{ST}	2	41				
Урал, Сибирь	Abies	sibirica	хп-микросателлиты	AMOVA	2			2	0,037	Семерикова, Семериков, 2007
Сахалин, Кунашир	Abies	sachalinensis	аллозимы	F _{ST}	9					
Сахалин, Кунашир	Abies	sachalinensis	аллозимы	F _{ST}	1					
Сахалин, Кунашир	Abies	sachalinensis	аллозимы	F _{ST}	2	342	27,0	8	0,090	Semerikova et al., 2011
Сахалин, Кунашир	Abies	sachalinensis	хп-микросателлиты	R _{ST}	1			2	0,029	Semerikova et al., 2011
Сахалин, Кунашир	Abies	sachalinensis	хп-микросателлиты	R _{ST}	1	305	27,7			
Сахалин, Кунашир	Abies	sachalinensis	хп-микросателлиты	AMOVA	7			2	0,017	Семерикова, Семериков, 2007
Д. Восток	Abies	nephrolepis	аллозимы	F _{ST}	2					
Д. Восток	Abies	nephrolepis	аллозимы	F _{ST}	5	167	33,4	6	0,039	Semerikova et al., 2011
Д. Восток	Abies	nephrolepis	хп-микросателлиты	R _{ST}	4	142	35,5	2	0,090	Semerikova et al., 2011
Д. Восток	Abies	nephrolepis	хп-микросателлиты	R _{ST}	4	142	35,5	2	0,090	Semerikova et al., 2011
Д. Восток	Abies	nephrolepis	хп-микросателлиты	AMOVA	3				0,148	Семерикова, Семериков, 2007
Сибирь	Abies	sibirica	AFLP	F _{ST}	2			11		
Сибирь	Abies	sibirica	AFLP	F _{ST}	0			7	0,140	Семерикова, Семериков, 2011
Сибирь, Д. Восток	Abies	sibirica, nephrolepis, sachalinensis	AFLP	F _{ST}	2			7	0,530	Семерикова, Семериков, 2011
Сибирь, Д. Восток	Abies	sibirica, nephrolepis, sachalinensis	AFLP	F _{ST}	3					
Урал	Larix	sukaczewii	аллозимы	F _{ST}	1					
Урал	Larix	sukaczewii	аллозимы	F _{ST}	2	452	37,7	13	0,064	Янбаев, 2002
Урал	Larix	sukaczewii	аллозимы	F _{ST}	2					
Урал	Larix	sukaczewii	аллозимы	F _{ST}	0	570	28,5	10	0,064	Путенихин и др., 2004
Ср. Сибирь	Larix	sibirica	аллозимы	F _{ST}	6			14	0,076	Ларионова и др., 2007
Красноярский край, Таймыр	Larix	sibirica	аллозимы	F _{ST}	7			15	0,070	Ларионова, Орешкова, 2010
Сибирь	Larix	sibirica	Аллозимы	F _{ST}	1					
Сибирь	Larix	sibirica	Аллозимы	F _{ST}	5			12	0,079	Semerikov et al., 1999
Красноярский край, Тыва	Larix	sibirica	Аллозимы	F _{ST}	8	233	29,1	15	0,038	Орешкова, 2010
Читинская обл., Эвенкия	Larix	gmelinii	Аллозимы	F _{ST}	4	106	26,5	17	0,079	Oreshkova et al., 2006
В. Сибирь	Larix	gmelinii	Аллозимы	F _{ST}	6			11	0,021	Semerikov et al., 1999
Читинская обл.	Larix	gmelinii	Аллозимы	F _{ST}	3			15	0,020	Ларионова, Орешкова, 2010
Якутия, Магаданская обл.	Larix	cajanderi	Аллозимы	F _{ST}	5			14	0,152	Ларионова, Орешкова, 2010
С.-В. Азия	Larix	spp.	Аллозимы	F _{ST}	5				0,202	Semerikov et al., 1999

Уровни генетической подразделенности в популяциях хвойных Палеарктики

Larix

Quercus
Populus
Betula
Acer
3.5-15%

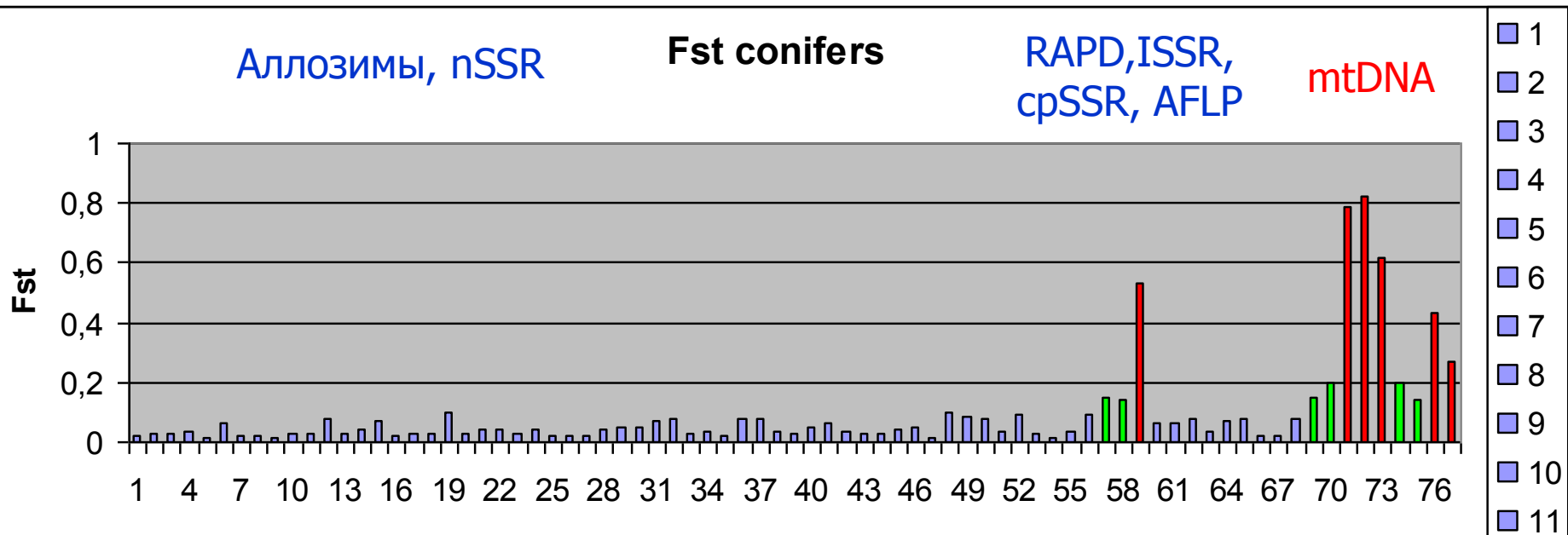
Д. Восток	Larix	spp.	мтДНК	F_{ST}	5				1	0,786	Полежаева, 2010			
Д. Восток	Larix	spp.	мтДНК	N_{ST}	4				1	0,823	Полежаева, 2010			
Д. Восток	Larix	spp.	мтДНК	AMOVA	5				1	0,620	Полежаева, 2010			
Д. Восток	Larix	популяции	мтДНК	AMOVA	4				1	0,200	Полежаева, 2010			
Д. Восток	Larix	spp.	Хп-микросателлиты	F_{ST}					1	0,144	Полежаева, 2010			
Д. Восток	Larix	spp.	Хп-микросателлиты	R_{ST}					1	0,432	Полежаева, 2010			
Приморье	Larix	olgensis	RAPD	G_{ST}	1					0,270	Журавлёв и др., 2010			
Евр. Россия	Quercus	robur	RAPD	F_{ST}	2				48	0,098	Яковлев, Клейншмит, 2002			
Ю. Урал	Quercus	robur	Аллозимы	F_{ST}	1				5	0,097	Габитова 2012			
Ю. Урал	Quercus	robur	ISSR	F_{ST}	5				67	0,530	Габитова 2012			
Приморье	Quercus	dentata	аллозимы	F_{ST}	6				13	0,018	Potenko et al., 2007			
Приморье	Quercus	mongolica	аллозимы	F_{ST}	4				13	0,023	Potenko et al., 2007			
Приморье	Quercus	mongolica & dentata	аллозимы	F_{ST}	7				13	0,035	Potenko et al., 2007			
Урал	Populus	tremula	аллозимы	F_{ST}	1				9	416	46,2	19	0,147	Янбаев, 2002
Урал	Populus	nigra	аллозимы	F_{ST}	2				2	136	68,0	14	0,032	Янбаев, 2002
Урал	Betula	pendula	аллозимы	F_{ST}	4				4	921	38,4	17	0,051	Янбаев, 2002
Урал	Acer	platanooides	аллозимы	F_{ST}	2				8	959	34,3	16	0,045	Янбаев, 2002
Урал	Acer	negundo	аллозимы	F_{ST}	4				4	150	37,5	6		Янбаев, 2002

Примечания.

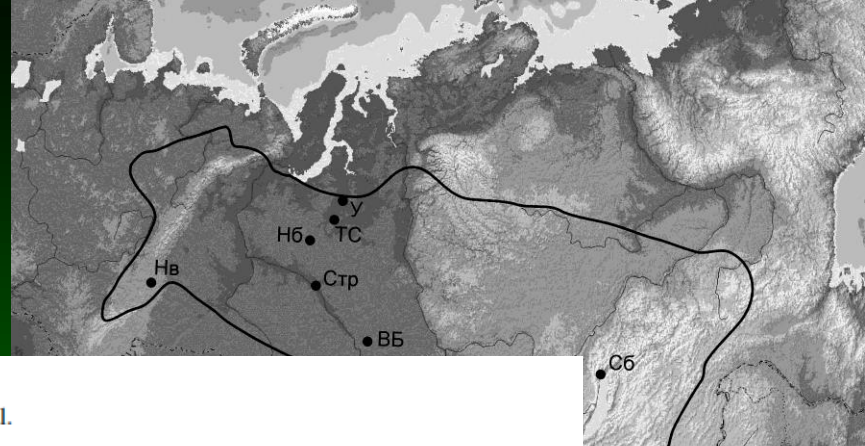
N_p	число исследованных популяций
N_{ind}	число исследованных особей
$N_{ind\text{cp}}$	число исследованных особей в среднем на выборку
N_l	число исследованных локусов
F_{ST}	доля межпопуляционной изменчивости в общей изменчивости (Wright, 1973)
G_{ST}	доля межпопуляционной изменчивости в общей изменчивости (Nei, 1973)
R_{ST}	доля межпопуляционной изменчивости в общей изменчивости по микросателлитам
N_{ST}	доля межпопуляционной изменчивости в общей изменчивости с учетом родства гаплотипов
AMOVA	доля межпопуляционной изменчивости в общей изменчивости (анализ молекулярной дисперсии)

Эмпирические данные

- Диапазон значений F_{ST} для популяций хвойных:



Генетическая дифференциация популяций сибирской кедровой сосны *Pinus sibirica*



478

PETROVA et al.

Allozyly

544

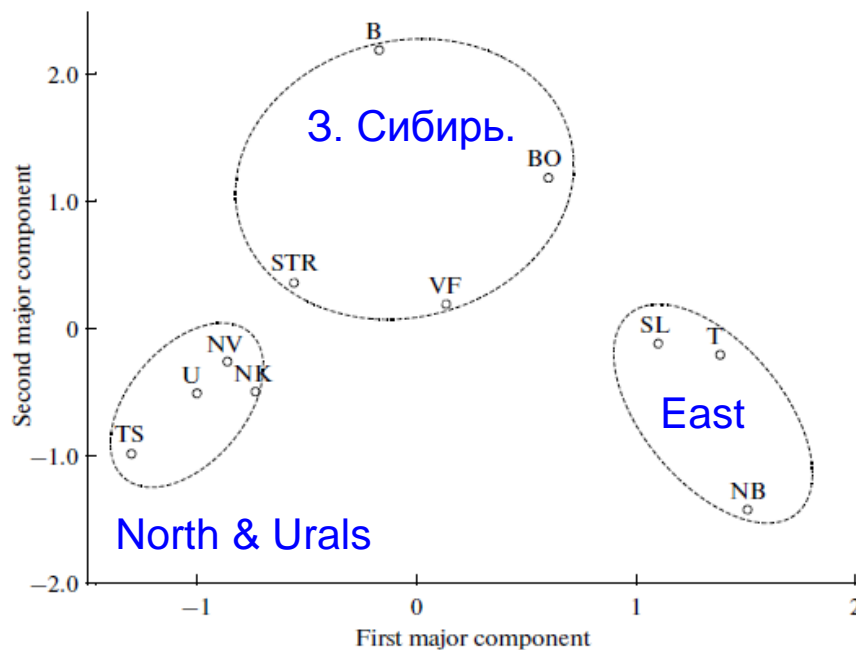
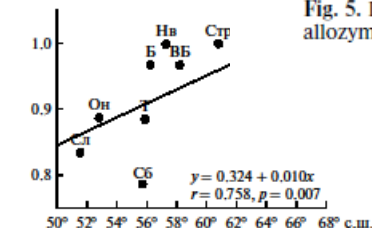
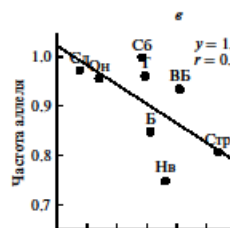
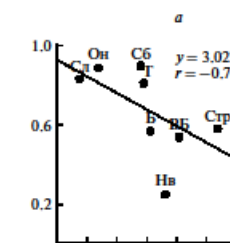
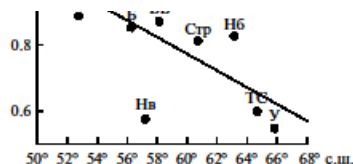
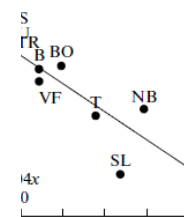


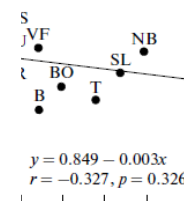
Fig. 5. Distribution of the ecotypes in the planes of the first two principal components, obtained in a multivariate analysis of the allozyme polymorphism frequencies.



Longitude



(d)



(f)

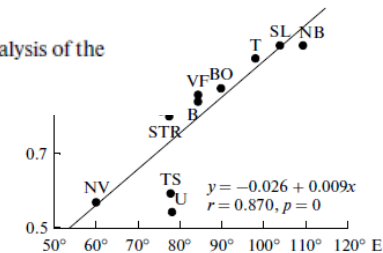
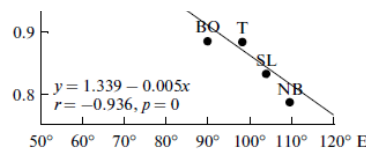
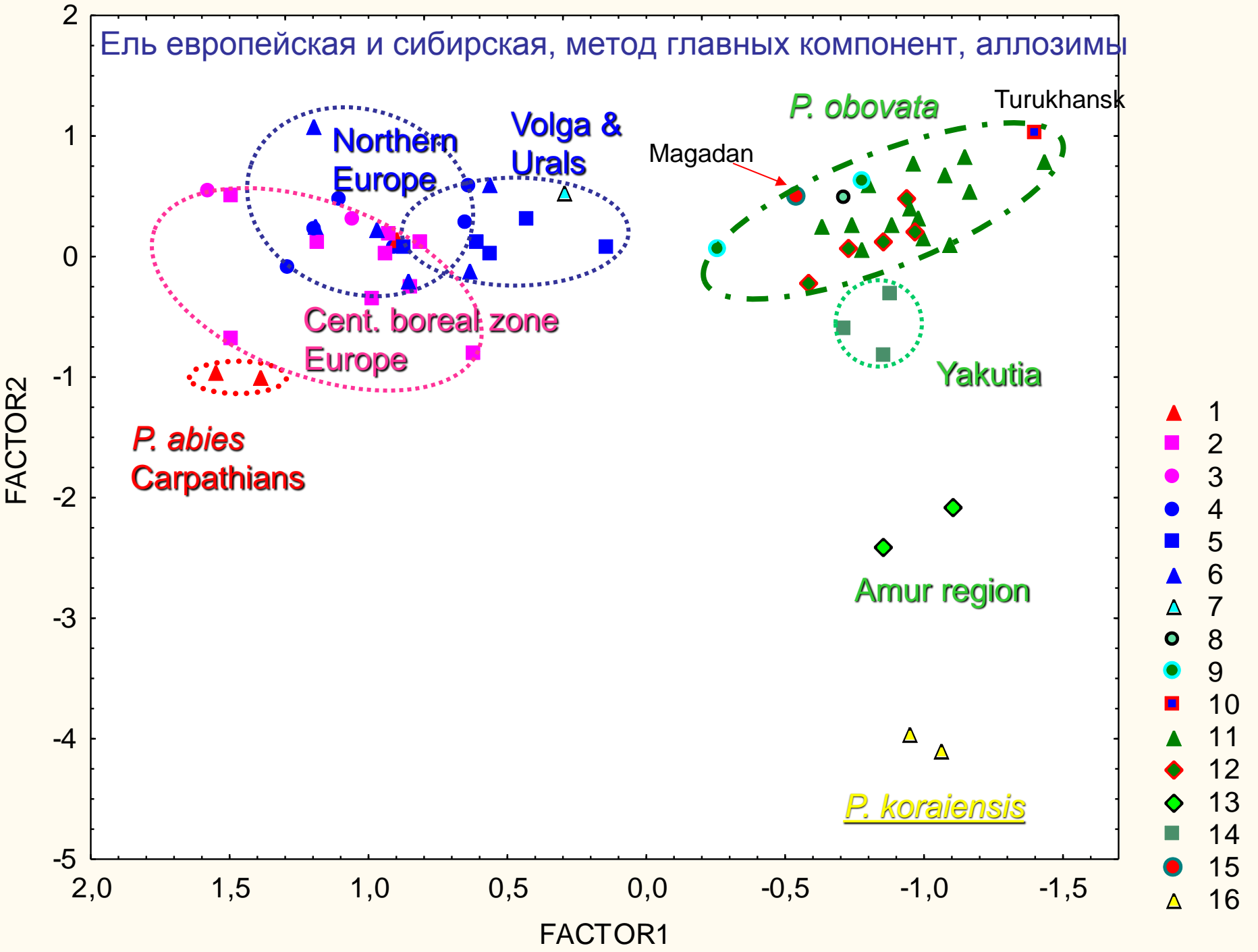


Рис. 2. Связь частот наиболее часто встречающихся аллелей некоторых полиморфных локусов с географической широтой мест произрастания экотипов кедров сибирского. Для рис. 2 и 3 а - *Fest-2*¹⁰⁰, б - *Mdh-2*¹⁰⁰, в - *Pgm-1*¹⁰⁰, г - *Skdh-1*¹⁰⁰, д - *Sod-3*¹⁰⁰, е - *Sod-4*¹⁰⁰. На графиках приведены уравнения линейной регрессии, значения коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r) и уровни их значимости (P).

Fig. 3. Relations between the highest allele frequencies of the polymorphic allozyme loci and geographic longitudes of the cedar habitats: (A) *Fest-2b*; (B) *Mdh-2*; (C) *Pgm-1*; (D) *Skdh-1*; (E) *Sod-3*; (F) *Sod-4*. Ecotype abbreviations are as in Tables 1 and 3. Graphs represent linear regression functions. Spearman's rank correlation (r). Levels of significance (P).

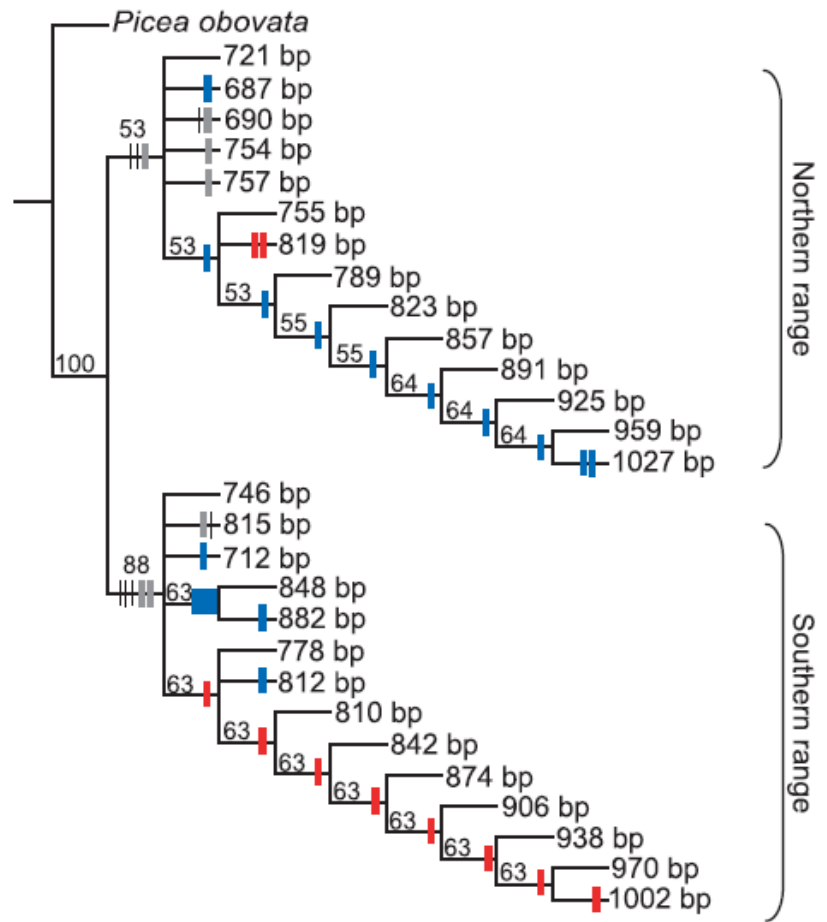
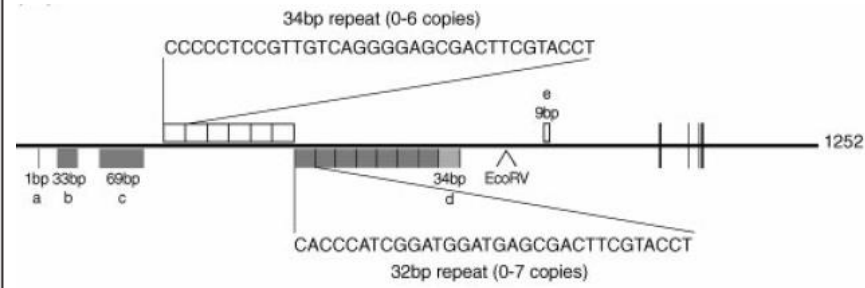
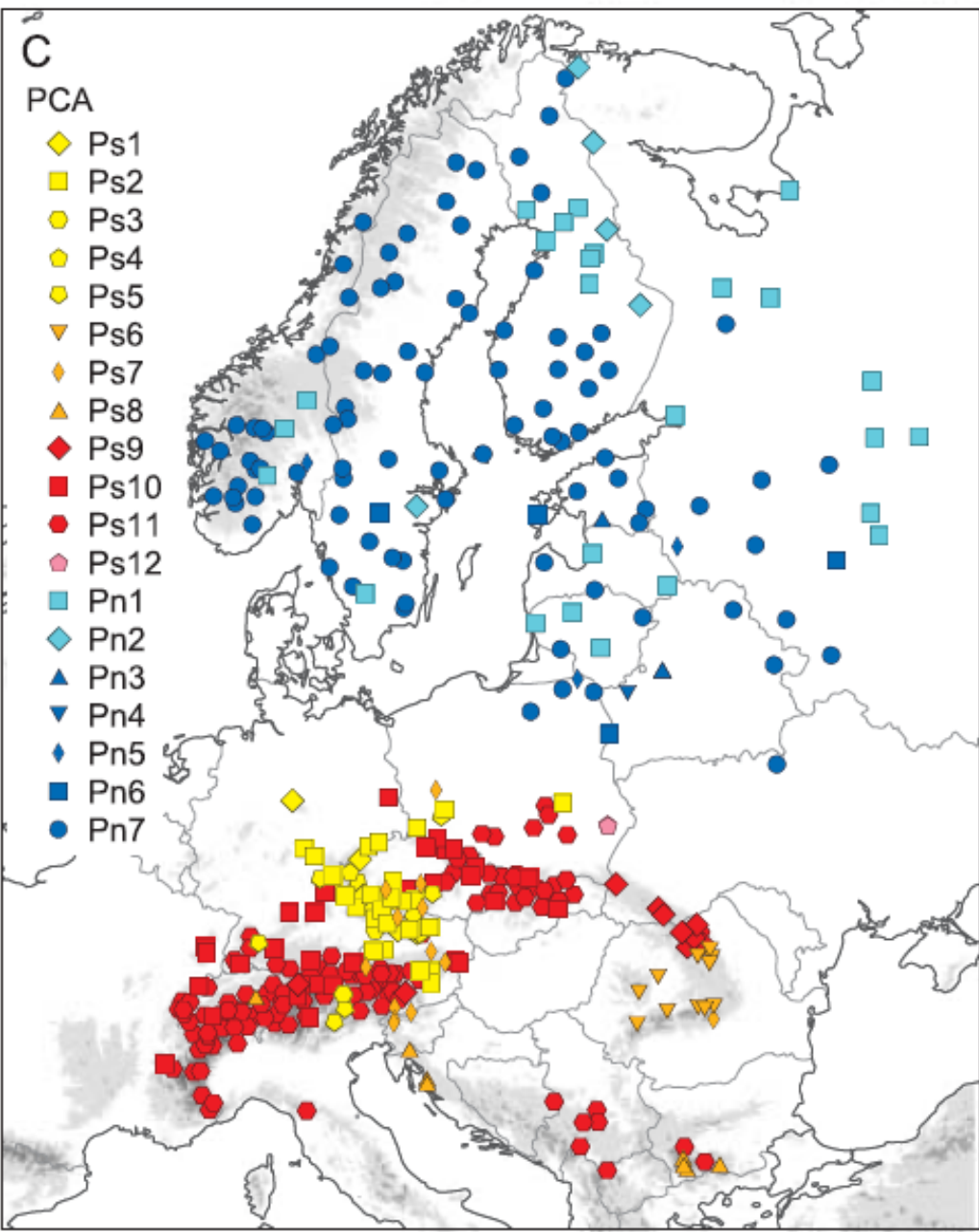
Ель европейская и сибирская, метод главных компонент, аллозимы



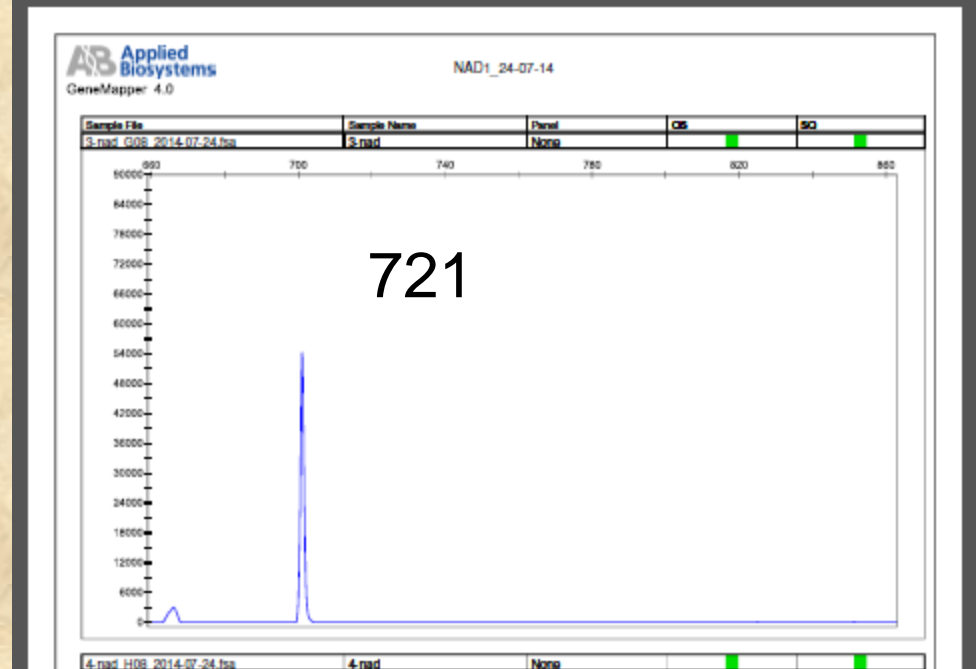
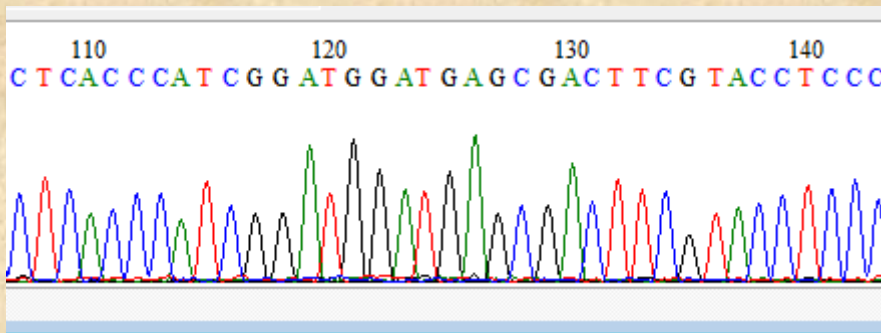
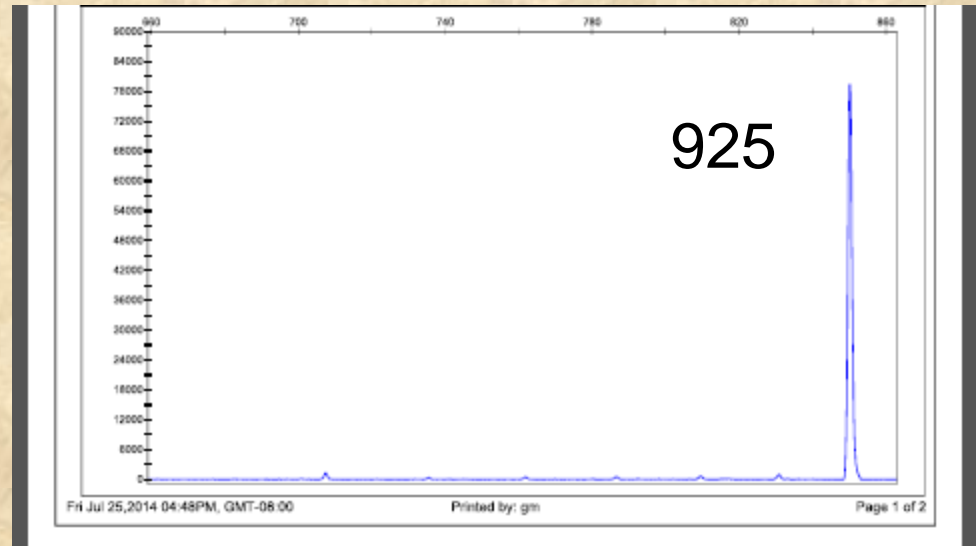
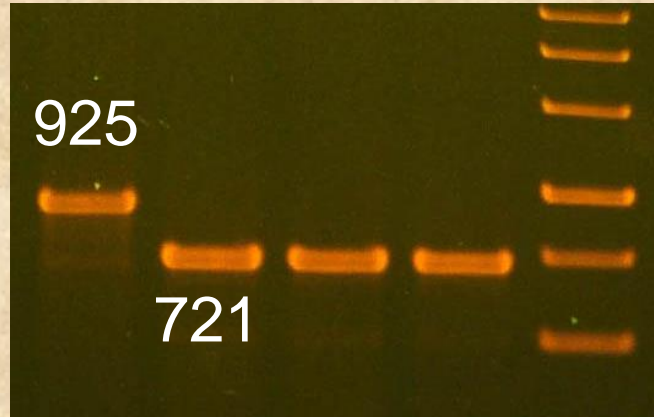
C

PCA

- ◆ Ps1
- Ps2
- Ps3
- ◆ Ps4
- Ps5
- ▼ Ps6
- ◆ Ps7
- ▲ Ps8
- ◆ Ps9
- Ps10
- Ps11
- Ps12
- Pn1
- ◆ Pn2
- ▲ Pn3
- ▼ Pn4
- ◆ Pn5
- Pn6
- Pn7



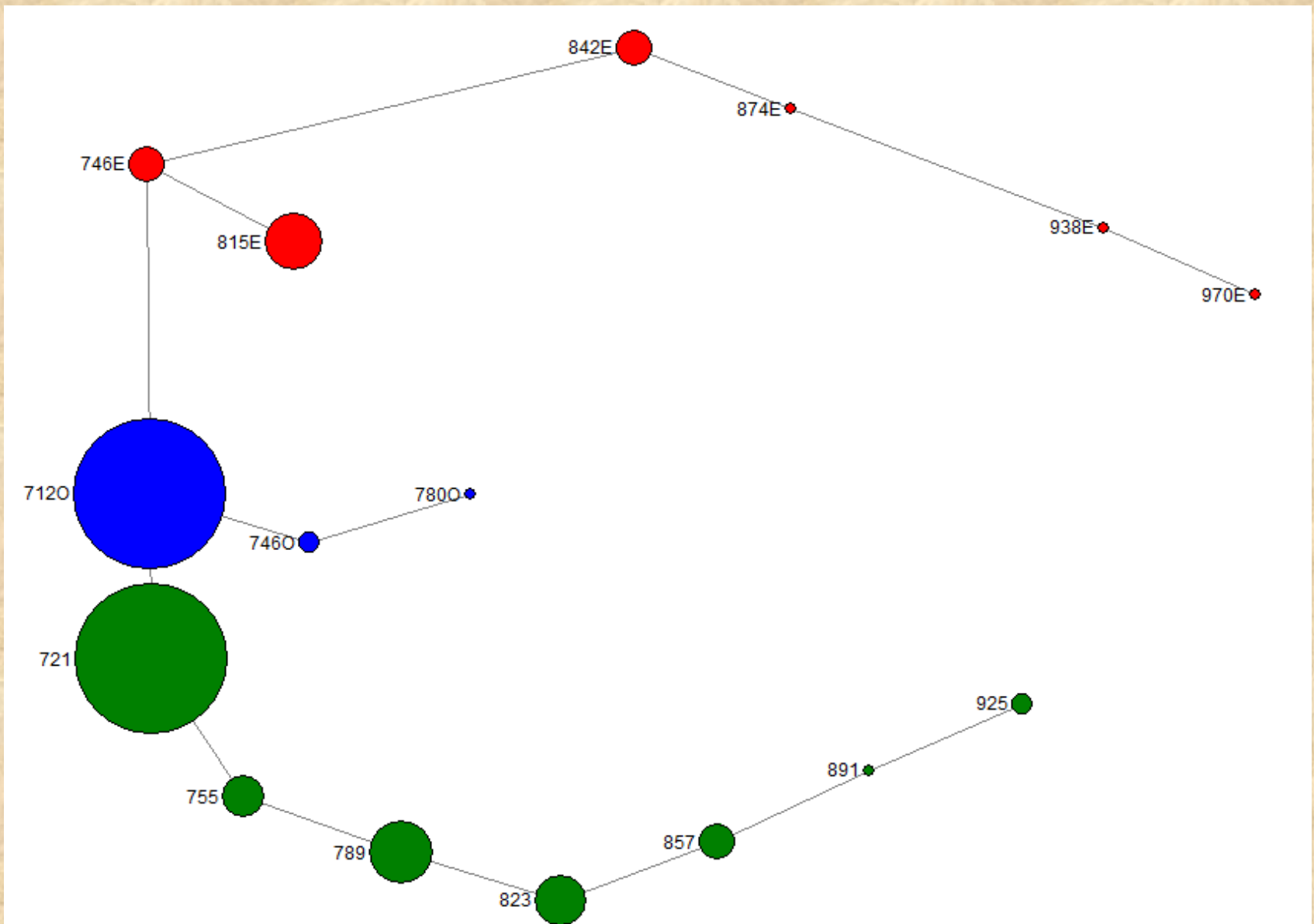
Анализ изменчивости второго интрона гена *nad 1* у ели



Изученные выборки ели комплекса *Picea abies* – *P. obovata*

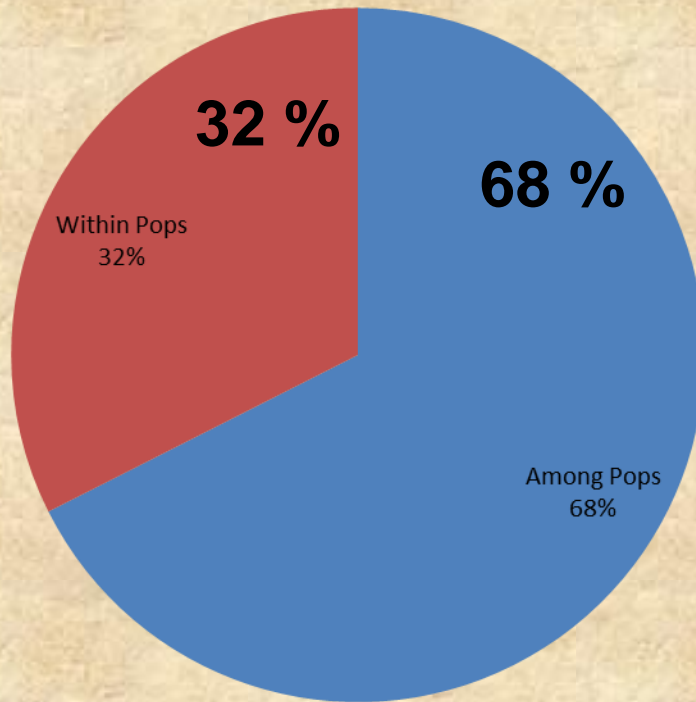


Медианная сеть гаплотипов второго интрона гена *nad1* в популяциях ели комплекса *Picea abies* – *P. obovata*



Анализ молекулярной дисперсии (AMOVA) у елей комплекса *Picea abies* – *P. obovata*

Percentages of Molecular Variance



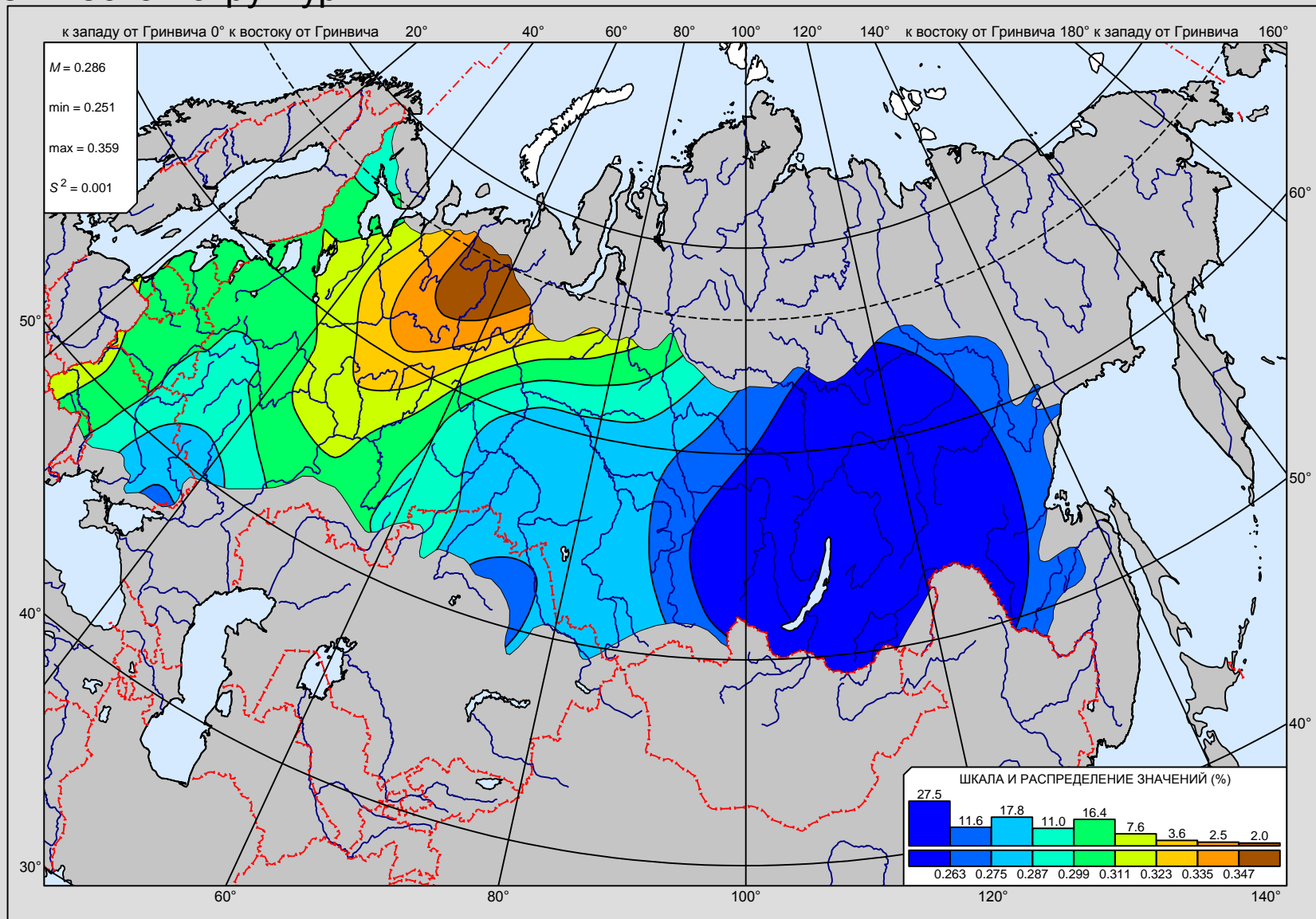
аллозимы: **Fst = 9.9 %**
(Krutovskii, Bergmann, 1995)

микросателлиты: **Fst = 2.9 %**
(Tollefsrud et al., 2009)

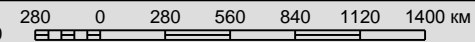
Fst = 9.7 %
(Мудрик и др., 2008)

8.2.4 Разработка методов цифровой картографии для геногеографического анализа и визуализации внутривидовой генетической структуры

УРОВЕНЬ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ

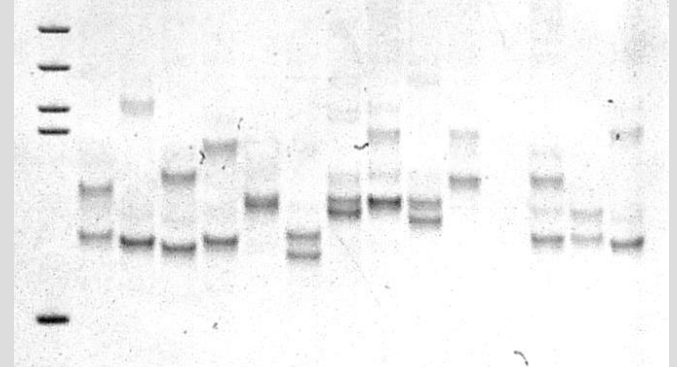


МАСШТАБ 1 : 28 000 000



8.2.5 Разработка методов молекулярно-генетического контроля незаконного оборота древесины и других лесных продуктов

Генетическая идентификация индивидуумов и групп индивидуумов – простая задача. Привязка к определенной части ареала – сложная задача. Чем больше выборка, тем проще. Нужны БД генетической изменчивости).



Научная тема 8.3

Генетические подходы к совершенствованию принципов лесосеменного районирования



Рис. 3. Схема лесосеменного районирования или обыкновенной, сибирской, Шренка и тяньшанской:
 — граница лесосеменного района (цифрами обозначен номер);
 - - - граница лесосеменного подрайона (буквами обозначен литер)

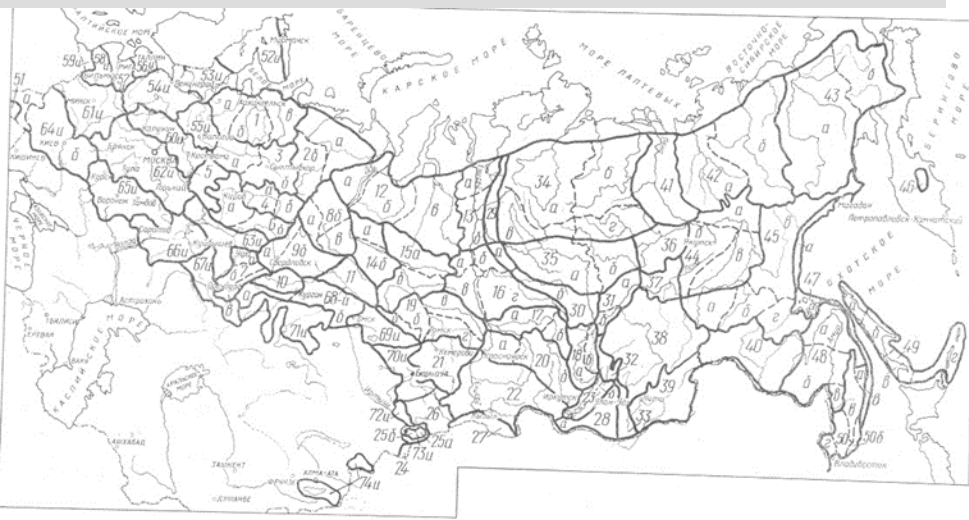


Рис. 5. Схема лесосеменного районирования лиственницы Сукачева, сибирской, Чекановского, Гмелина, Каялдера, охотской, амурской, курильской, Комарова, Любарского, европейской, японской, польской:
 — граница лесосеменного района (цифрами обозначен номер);
 - - - граница лесосеменного подрайона (буквами обозначен литер)



8.3 Генетические подходы к совершенствованию принципов лесосеменного районирования

Совершенствование лесосеменного районирования основных лесообразующих видов России на естественной ландшафтно-географической основе с учётом результатов анализа пространственной популяционно-генетической структуры видов

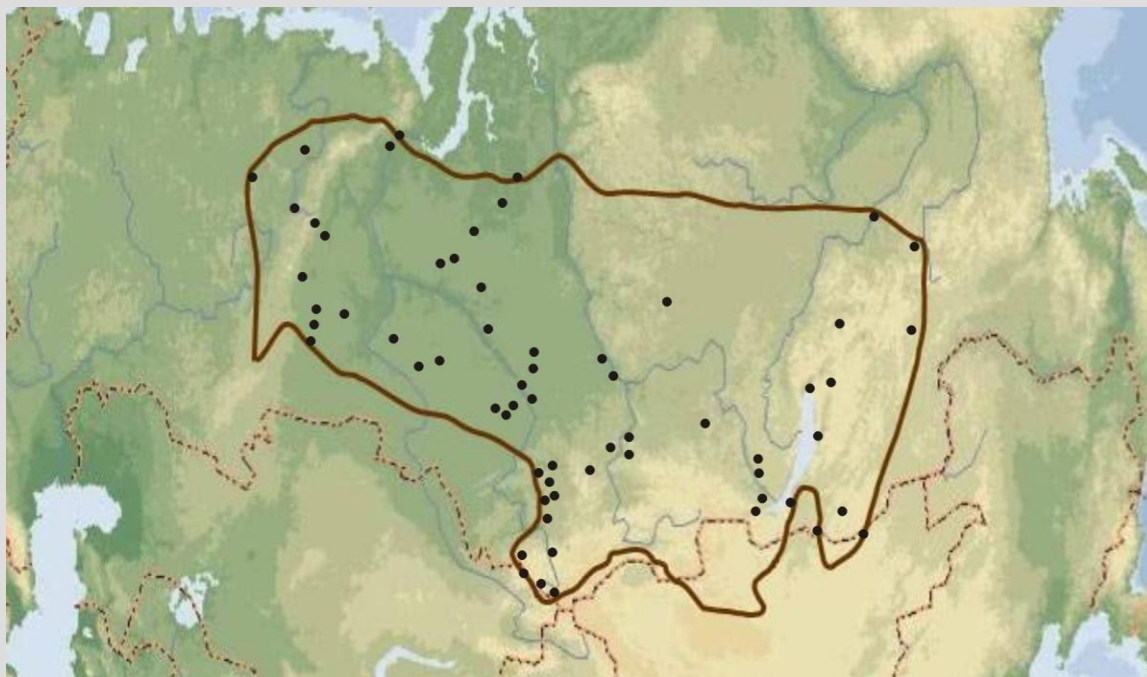
Задачи:

1. Проведение комплексного исследования лесорастительных условий произрастания хвойных видов на территории России методами ГИС, выявление эколого-географической структуры ареалов видов на исследуемой территории;
2. Проведение сопряженного эколого-генетического анализа изменчивости популяций хвойных видов и условий их произрастания;
3. Сбор недостающих данных по генетической изменчивости популяций из малоизученных районов Сибири, существенно отличающихся по условиям произрастания и уклоняющихся от предполагаемых математических моделей эколого-генетической структуры видов;
4. Изучение влияния экологических условий произрастания популяций на внутривидовую генетическую структуру, установление пороговых значений экологических факторов (и их сочетаний) для изменения частот генетических маркеров видов, с использованием результатов лабораторных испытаний семенных потомств популяционных выборок деревьев из контрастных местообитаний (в климатических камерах);
5. Заключительная оценка возможности использования ГИС с целью установления популяционно-географической структуры видов, составление географических карт с вероятными географическими границами популяций видов хвойных, разработка Рекомендаций по территориальному планированию рубок и лесовосстановительных работ, и сохранению популяционной структуры видов

Научная тема 8.3 Генетические подходы к совершенствованию принципов лесосеменного районирования

Оценка степени генетической дифференциации между популяциями кедра сибирского, отнесёнными к различным лесосеменным районам

Ареал кедра сибирского. Точками отмечены места сбора материала. Вегетативное потомство из этих мест есть в уникальной коллекции клонов испытательных культур 5-хвойных сосен ИМКЭС СО РАН.



- *Морфологические исследования:* закономерности генотипической и модификационной внутривидовой изменчивости по морфологическим признакам на примере кедра сибирского, выявление адаптивных признаков.
- *Молекулярно-генетические исследования:* разработка молекулярно-генетических маркеров для оценки внутривидовой дифференциации.

Научная тема 8.4 Генетические основы лесопользования и лесовосстановления

- Главный способ сохранения лесных генетических ресурсов – это их непрерывное «динамическое» сохранение при лесозэксплуатации и лесовосстановлении.
- Сохранить генетические ресурсы *in situ* можно только через сохранение экосистем с их природной пространственно-временной организацией. Это достигается природно-сообразным лесным хозяйством, где рубка заменяет собой пожар, болезни и вредителей как факторы природной динамики экосистем.
- Генрезерватов по определению не может быть много, они не репрезентативны, фрагментированы, поэтому создают лишь иллюзию решения проблемы. Они изымают лесные ресурсы из оборота, мешают сукцессии и ротации поколений.
- При правильной организации лесного хозяйства все естественные леса могут и должны быть одним большим распределенным генрезерватом.

8.4. Разработка генетических правил рубок: этапы исследований

(на примере популяций *Pinus sylvestris* в борах Западной Сибири)

Цель: Изучение влияния разных видов рубок древостоев на генетическое разнообразие вида и разработка способов заготовки древесины, минимизирующих «эрозию» генофондов и не нарушающие популяционную структуру видов.

Задачи:

- Подбор нейтральных и селективных ДНК-маркеров. Подбор опытных и контрольных насаждений.
- Оценка генетических последствий «отрицательной селекции» при рубках ухода
- Оценка генетических последствий рубок главного пользования (узколесосечных, широколесосечных, выборочных и др.)
- Закладка пробной площади с подеревной таксацией, ДНК-генотипированием и детальным картированием размещения около 200 деревьев с целью экспериментов по моделированию влияния различных видов рубок на генетическую структуру.
- Построение математических моделей для выявления факторов минимизации отрицательных генетических последствий рубок
- Сопоставление результатов натуральных и компьютерных экспериментов
- Разработка генетических правил рубок главного и промежуточного пользования в лесах России



Научная тема 8.4. Разработка генетических правил лесовосстановления: этапы и методы

(на примере популяций *Pinus sylvestris* в борах Западной Сибири)

Цели: Сравнить генетическую структуру естественных и искусственных насаждений сосны и разработать способы лесовосстановления, позволяющие сохранить генетическое разнообразие основных лесообразующих хвойных видов.

Задачи:

- Подбор нейтральных и селективных ДНК-маркеров для исследований (включая исследования по настоящему проекту, рассмотренные выше). Подбор объектов исследования.
- Сравнение генетических особенностей исходных насаждений (контроль), предварительного и последующего поколений возобновления
- Анализ воздействия на генетическую структуру популяций методов содействия естественному возобновлению.
- Сравнительный анализ особенностей генетической структуры «популяций» сеянцев в стандартных питомниках, обычных лесных культур и естественных древостоев
- Анализ воздействия на генетическую структуру популяций методов селекции (сравнение лесосеменных плантаций, улучшенных культур и естественных насаждений)
- Разработка генетических правил лесовосстановления в лесах России



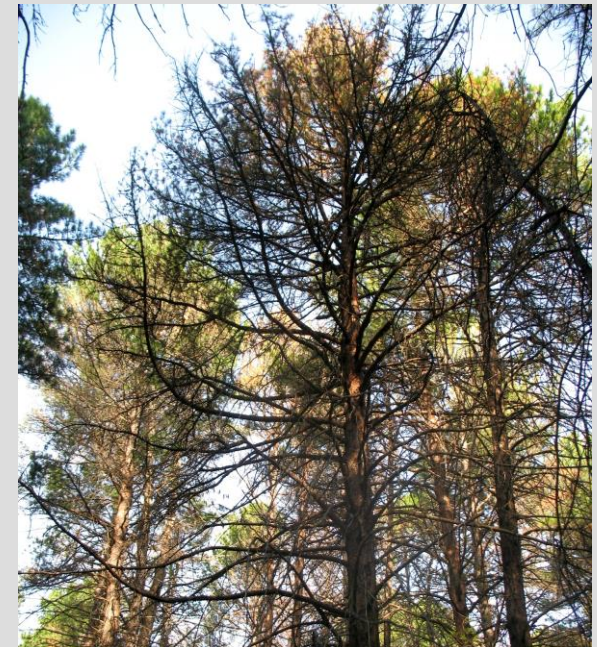
Анализ последствий вмешательства в ход восстановительно-возрастной динамики лесов на примере припоселковых кедровников – ИМКЭС СО РАН



- Они деградируют в 2 раза быстрее, чем естественные.
- Почему? Гипотеза: потому, что человек ухаживал за кедром и тем самым помог выжить "дефективным" генотипам, которые в природе были бы обречены на элиминацию.

Перспективная задача:

сравнительный анализ генетического разнообразия в природных и припоселковых кедровниках;
обоснование целесообразности создания насаждений такого типа плантационным способом на основе продуктивных и устойчивых сортов-клонов.

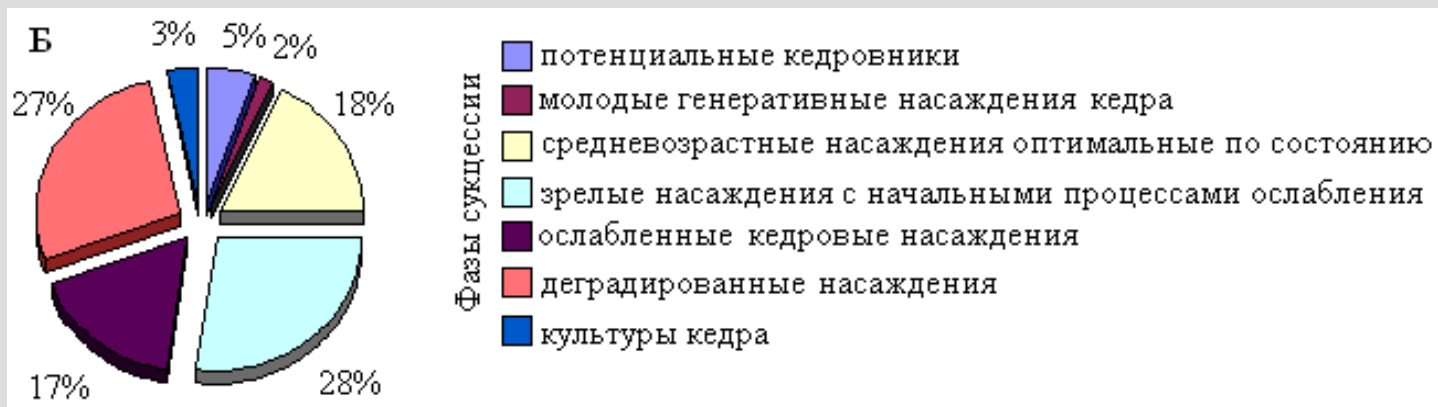
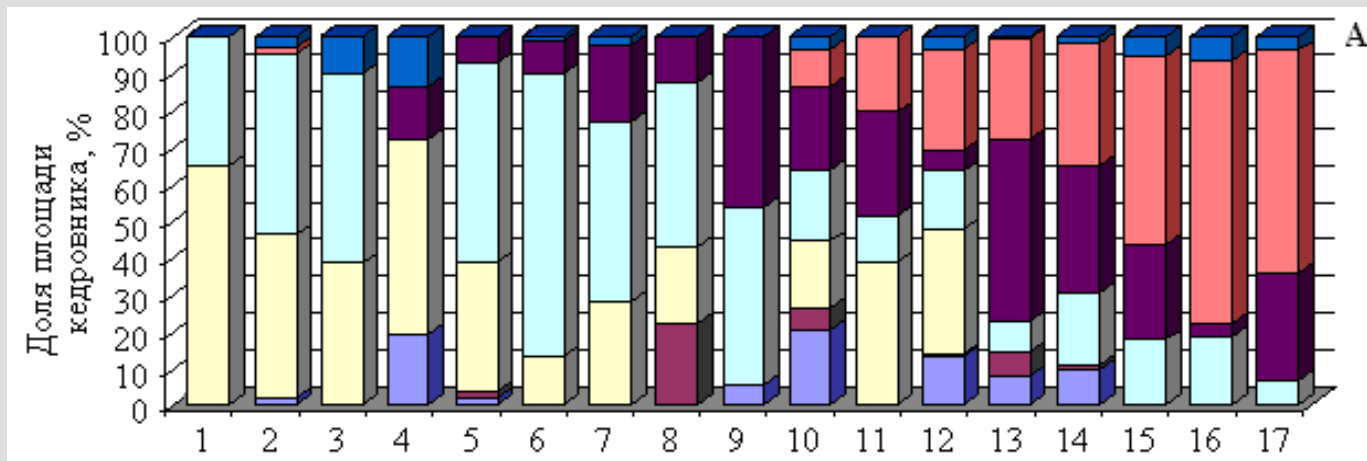


Научная тема 8.5 Сукцессионная динамика и рациональное использование лесных популяционных генофондов

8.5.1 Разработка методов оценки трансформации популяционно-генетического и экосистемного биоразнообразия при антропогенных и инвазионных зоогенных сукцессиях темнохвойных лесов Западной Сибири (ИМКЭС СО Р



Оценка сукцессионного разнообразия монодоминантных кедровых лесов – припоселковых кедровников Западной Сибири как результат комплексного воздействия природных и антропогенных факторов



А – сукцессионные спектры 17 припоселковых кедровников на юге Томской области.

Б – интегральная сукцессионная структура припоселковых кедровников на юге Томской области.

Перспективная задача – установить природу внутри- и межпопуляционного разнообразия припоселковых кедровников: соотношение экологических и генетических факторов; дать рекомендации по созданию устойчивых припоселковых кедровников новой генерации

8.5.2. Продуктивность, биоразнообразие и генетический потенциал «техногенных» лесов Сибири: этапы и методы исследований (на примере «техногенных лесов» в зоне деятельности нефтекомплекса Зап.Сибири)

Цель: Сравнение видового разнообразия и генетической структуры естественных и «техногенных» лесов, оценка перспектив их развития и влияния на фоновые естественные экосистемы

Задачи:

- Эколого-лесоводственная характеристика лесов, возникших на техногенно трансформированных территориях в зоне нефтекомплекса Западной Сибири. Подбор опытных и контрольных насаждений для исследований
- Оценка видового разнообразия, таксационной структуры, эдафических условий и генетико-селекционного потенциала «техногенных» лесов
- Оценка видового разнообразия и генетического потенциала «фоновых» естественных лесов
- Прогноз развития и влияния на фоновые естественные экосистемы «техногенных» лесов Сибири: лесоводственные, экологические и генетические аспекты

Методы

- ГИС, лесотаксационные, почвенно-аналитические, геоботанические, фенологические и молекулярно-генетические, физиологические и токсикологические (оценка устойчивости к отходам бурения и нефти)



8.5.3 Разработка программы по ускоренному выведению сортов ценных пород лесных древесных растений – ИМКЭС СО РАН

2017-2021 гг. Разработка программы по ускоренному выведению сортов ценных пород лесных древесных растений

Выявление генетических маркеров продуктивности и поиск эффективных методов селекции, например, поиск мутаций в природе: мутационных ведьминых метел, особей с ускоренным циклом развития. Создание на их основе сортов-линий и сортов-клонов, обладающих уникальными свойствами.

Мутационные ведьмины метлы у разных видов хвойных

Будущие сорта-клоны с уникальными декоративными свойствами и обильным плодоношением на основе мутационных ведьминых метел



11.5.3. Разработка программы по ускоренному выведению сортов ценных пород лесных древесных растений (на примере клоновых и семейственных плантаций хвойных пород в Сибири)

Цель: Ускорение и повышение эффективности селекции хвойных видов на разные целевые признаки (продуктивность, устойчивость, семенная продуктивность, декоративность), выведение сортов-популяций с учетом возможности сохранения высокого уровня их генетического разнообразия

Задачи:

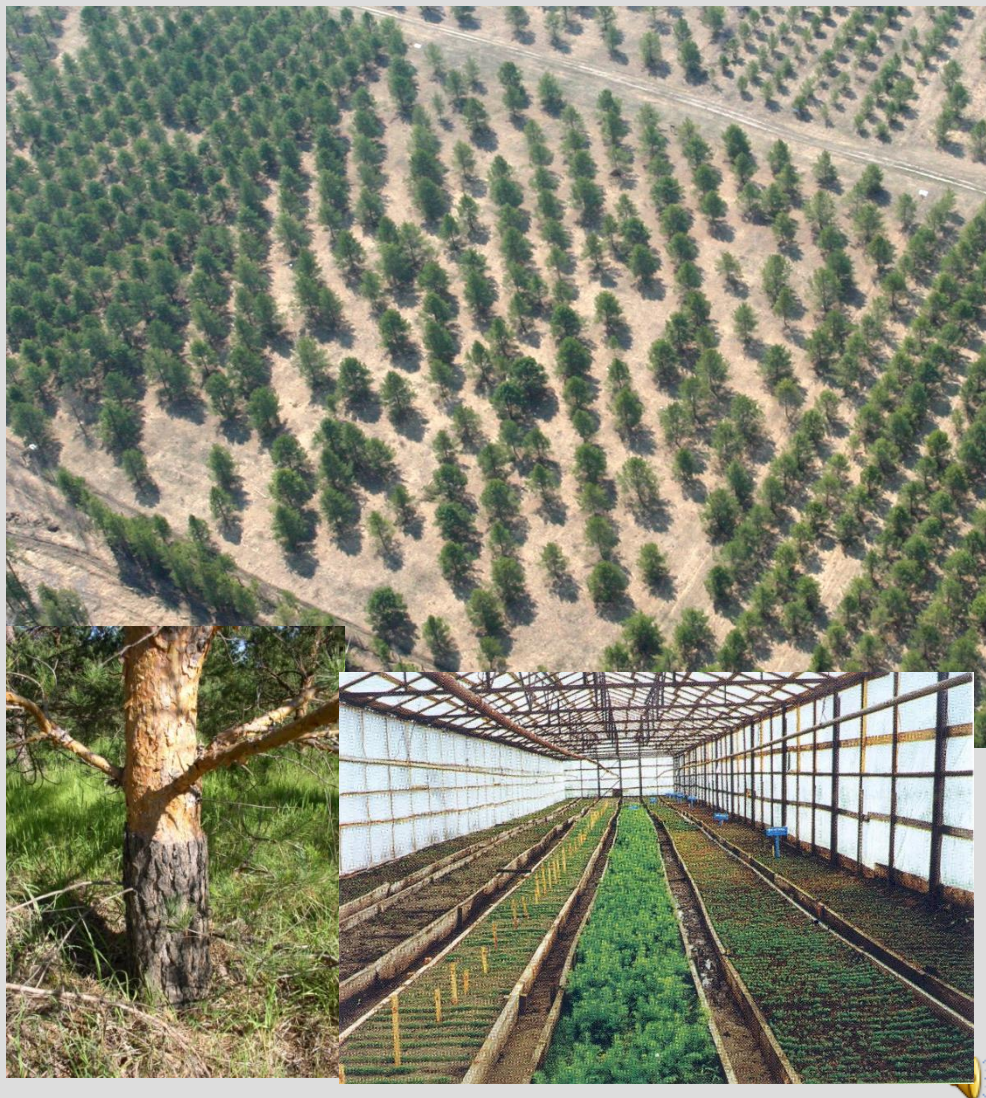
- Анализ отечественного и зарубежного опыта ускоренного выведения сортов ценных пород лесных древесных растений
- Выявление генетических маркеров продуктивности/устойчивости и ретроспективный анализ эффективности применения методов молекулярной генетики в селекции древесных растений
- Выявление «фоновых признаков» и ретроспективный анализ эффективности применения методов идентификации генотипов по фенотипам в лесной селекции
- Изучение эффективности методов ранней диагностики при отборе на различные целевые признаки. Аналитическая оценка эффективности «популяционной селекции» на базе плюс-насаждений
- Проведение лабораторных испытаний (в климатических камерах) семенных потомств плюсовых деревьев, в т. ч. для выявления фоновых признаков и функциональных генов устойчивости, изучения взаимодействия «генотип-среда»
- Разработка программы по ускоренному выведению сортов ценных пород лесных древесных растений

Методы

- Методы генетики количественных признаков; метод «Фоновых признаков» акад. Драгавцева; анализ связи между ДНК-маркерами и признаками интенсивности роста и устойчивости; дендрохронологические; физиологические; биохимические.
- Выявление генетически лучших, средних и худших по росту и устойчивости клонов и семей в насаждениях разного возраста, получение и анализ их 1-2-летних потомств; сравнение выделенных категорий по признакам различной природы с целью ретроспективной оценки эффективности отбора по различным методикам и на различные целевые признаки



Объекты исследований в Зап. Сибири: клоновые лесосеменные
плантации сосны обыкновенной в Озерском лесничестве Алтайского
края (~140 га)



Объекты исследований в Зап. Сибири: клоновые лесосеменные
плантации кедров сибирского в Бердском лесхозе Новосибирской области
(~70 га)



Испытательные культуры сосны в Легостаевском лесничестве
Бердского лесхоза (возраст 20 лет)



Объекты исследований в Зап. Сибири: плюсовое насаждение сосны обыкновенной в Ларичихинском лесхозе Алтайского края (~15 га)



Объекты исследований в Западной Сибири: «техногенные леса», возникшие на обваловках и днищах шламовых амбаров в ХМАО

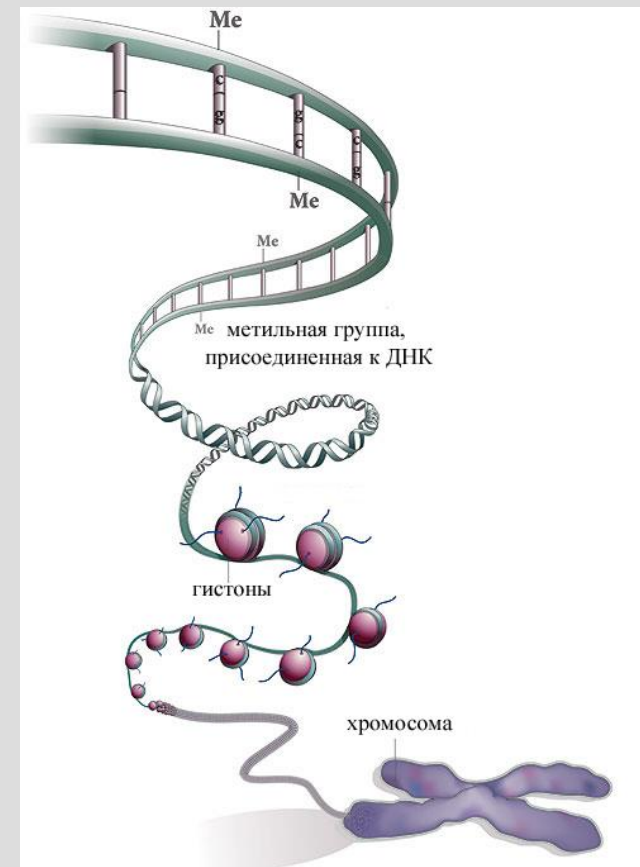


Научная тема 8.6 Эпигенетические основы адаптации и продуктивности лесных древесных растений

Эпигенетика и эпигеномика

- область генетики или геномики, изучающая механизмы формирования фенотипа в процессе индивидуального развития и функционирования во взаимодействии с внутренней и внешней средой, в основе которых лежат обратимые химические модификации нуклеотидов и гистонов, приводящие к изменению активности гена без изменений в его кодирующей последовательности
- эпигенетические модификации обычно обратимы, но некоторые из них могут стабильно наследоваться в поколениях даже после исчезновения фактора, вызвавшего эти модификации

Метилирование ДНК Модификации гистонов



8.6.1 Разработка эпигенетических маркёров стрессоустойчивости к климатическим факторам

Эпигенетика и эпигеномика

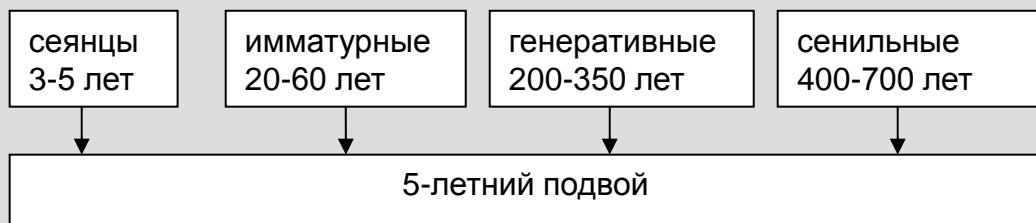
Эпигенетическая регуляция дифференциальной активности генов генов лежит в основе:

- онтогенеза (индивидуального развития)
- быстрой адаптации к изменяющимся факторам среды
- сезонных и циркадных изменений
- фенотипической пластичности (особенно ярко выраженной и долгоживущих древесных)
- импринтинга (эпигенетическая «память»)

8.6.2 Поиск стабильных, наследуемых эпигенетических модификаций, связанных с фенотипической пластичностью и устойчивой адаптацией лесных древесных растений – ИМКЭС СО РАН

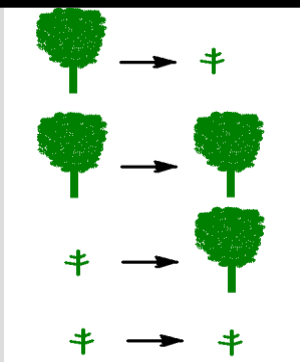
Ожидаемые результаты. Изучение динамики эпигенетических модификаций на индивидуальном и популяционном уровне для обнаружения стабильных, наследуемых эпигенетических модификаций. Изучение механизмов эпигенетической

памяти.
Созданы экспериментальные объекты (на примере сосны кедровой сибирской *Pinus sibirica* Du Tour)



Опыт 1. Вегетативное потомство деревьев различного онтогенетического состояния привито на однородный подвой

Опыт 2. Реципрокные прививки контрастного разновозрастного материала (200 и 7 лет). Будут анализироваться 4 варианта опыта.



Зрелые привои на молодых подвоях

Зрелые привои на зрелых подвоях

Молодые привои на зрелых подвоях

Молодые привои на молодых подвоях

С помощью сравнения групп между собой будет определено, в какой степени перемещенный растительный материал способен сохранять возрастные особенности материнского дерева и каковы молекулярные основы циклофизиса.

На всех группах объектов будет проведен сопряженный анализ изменений: морфологических (на уровне листа, побега, системы ветвления и кроны), физиологических (водного режима и энергопреобразующих процессов), - генетических (путем секвенирования транскрипта растительных тканей будет описана дифференциальная экспрессия генов у всех объектов)

Перспективы сохранения лесных генофондов

- Развитие методов молекулярного маркирования осуществляется на основе высоких технологий, что предъявляет особые требования для оборудования лабораторий, инфраструктуры, уровня подготовки персонала.
- Следует найти компромисс между экономической целесообразностью и эффективностью (информативностью на единицу вложенных ресурсов) применяемых маркеров
- Следует найти компромисс между стандартизацией маркёров и анализом лесных объектов по утверждённым методикам и непрерывным обновлением методической базы
- Ожидается взрыв в появлении новых маркеров и новых классов маркером на основе методов высокопроизводительного секвенирования → интеграция новых перспективных маркеров
- Интеграция фенотипических, генетических и эпигенетических подходов

□ СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!