

УДК 577.21:582.475.2
AGRIS F30

https://doi.org/10.33619/2414-2948/77/02

АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ *Larix sibirica* Ledeb. И *Pinus sylvestris* L., ПЕРСПЕКТИВНЫХ В КАЧЕСТВЕ ИСТОЧНИКОВ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

©**Чертков Н. В.**, ORCID: 0000-0003-0250-220X, Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия, super.gall@mail.ru

©**Боронникова С. В.**, ORCID: 0000-0002-5498-8160, д-р биол. наук, Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия, SVBoronnikova@yandex.ru

©**Каган Д. И.**, ORCID: 0000-0001-8381-5237, канд. биол. наук, Институт леса НАН Беларуси, г. Гомель, Беларусь, quercus-belarus@mail.ru

ANALYSIS OF THE GENETIC DIVERSITY OF *Larix sibirica* LEDEB. AND *Pinus sylvestris* L., PROMISING AS SOURCES OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES OF PLANT ORIGIN

©**Chertov N.**, ORCID: 0000-0003-0250-220X, Perm State University, Perm, Russia, super.gall@mail.ru

©**Boronnikova S.**, ORCID: 0000-0002-5498-8160, Dr. habil., Perm State University, Perm, Russia, SVBoronnikova@yandex.ru

©**Kagan D.**, ORCID: 0000-0001-8381-5237, Ph.D., Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus, Gomel, Belarus, quercus-belarus@mail.ru

Аннотация. Изученные деревья хвойных видов растений характеризуются высокими показателями генетического разнообразия (*P. sylvestris*: P_{95} — 0,914; n_a — 1,914; n_e — 1,356; H_E — 0,230; I — 0,369; *L. sibirica*: P_{95} — 0,988; n_a — 1,989; n_e — 1,272; H_E — 0,192; I — 0,327). В образцах смолы сосны обыкновенной обнаружено 7 кислот, а в образцах смолы лиственницы сибирской — 4, среди них абиединовая и дегидроабиединовая кислоты. Содержание абиединовой кислоты в образцах сосны обыкновенной варьировалось от 3,78% до 13,69%, а дегидроабиединовой кислоты — от 10,26% до 33,80%. У лиственницы сибирской содержание абиединовой кислоты выше (от 5,07% до 29,85%), а дегидроабиединовой кислоты ниже (от 1,49% до 8,18%). Выявлена корреляция между генетическим разнообразием изучаемых образцов сосны обыкновенной и лиственницы сибирской и содержанием в них абиединовой и дегидроабиединовой кислот.

Abstract. The studied trees of coniferous plant species are characterized by high rates of genetic diversity (*P. sylvestris*: P_{95} — 0,914; n_a — 1.914; n_e — 1.356; H_E — 0.230; I — 0.369; *L. sibirica*: P_{95} — 0.988; n_a — 1.989; n_e — 1.272; H_E — 0.192; I — 0.327). The 7 acids were found in samples of Scots pine resin, and 4 acids were found in samples of Siberian larch resin, among them abietic and dehydroabietic acids. The content of abietic acid in samples of Scots pine varied from 3.78% to 13.69%, and dehydroabietic acid — from 10.26% to 33.80%. In Siberian larch, the content of abietic acid is higher (from 5.07% to 29.85%), and dehydroabietic acid is lower (from

1.49% to 8.18%). A correlation was found between the genetic diversity of the studied samples of Scots pine and Siberian larch and the content of abietic and dehydroabietic acids in them.

Ключевые слова: ISSR-PCR, смоляные кислоты, абиебиновая кислота, дегидроабиебиновая кислота, *Pinus sylvestris* L., *Larix sibirica* Ledeb.

Keywords: ISSR-PCR, resin acids, abietic acid, dehydroabietic acid, *Pinus sylvestris* L., *Larix sibirica* Ledeb.

Введение

Новые открытия в области медицины постоянно увеличивают потребность человечества в новых лекарственных препаратах различной природы, в том числе растительного происхождения, отличающиеся относительно малой токсичностью, возможностью длительного приема, легкой усвояемостью, широким спектром терапевтического действия [1]. Растения являются источником большого числа разнообразных биологически активных веществ (БАВ), таких как витамины, алкалоиды, гликозиды, дубильные вещества, полисахариды, флавоноиды, смолы, органические кислоты, фитонциды и другие. Получение различных БАВ из видов хвойных растений является экономически перспективным, поскольку древесные хвойные растения широко распространены, запас хвойных пород в России составляет около 71,3 млрд м³ (<https://roslesinforg.ru/services/gil/>). Важным аргументом в пользу получения БАВ из хвойных пород деревьев также является экологичность такого решения, поскольку в процессе лесозаготовки образуется много неиспользуемых отходов.

Одним из перспективных источников БАВ являются смоляные кислоты. Наиболее перспективной является абиебиновая кислота, так как она обладает противомикробной, противовоспалительной, противосудорожной активностями и ускоряет заживление ран [2–5]. Кроме этого, абиебиновая кислота способна подавлять рост клеток не мелкоклеточного рака легкого путем блокирования передачи сигналов ИКК β /NF- κ B [6]; а также может использоваться при лечении аллергических реакций, ингибируя 5-липоксигеназу [7].

Роль генетического разнообразия в синтезе смоляных кислот у сосны обыкновенной и лиственницы сибирской, обладающих абиебиновой кислотой с противомикробной активностью, на популяционном уровне в Пермском крае ранее не изучалась.

Материал и методы исследования

Проанализировано 15 образцов смолы сосны обыкновенной и 15 образцов смолы лиственницы сибирской из различных мест произрастания Среднего Урала (Рисунок 1): из горной части Среднего Урала (гора Карабаш и Аракульский шихан), из равнинной части Среднего Урала (Очерский и Пермский районы Пермского края).

Содержание смоляных кислот определяли с помощью газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ-МС). Смоляные кислоты подвергались дериватизации гидроксидом тетраметиламмония с целью перевода их в метиловые эфиры. Предварительно готовили растворитель с внутренним стандартом — метанол, содержащий 2 мг/мл дифенила, путем растворения навески дифенила 100 мг в мерной колбе на 50 мл в метаноле.

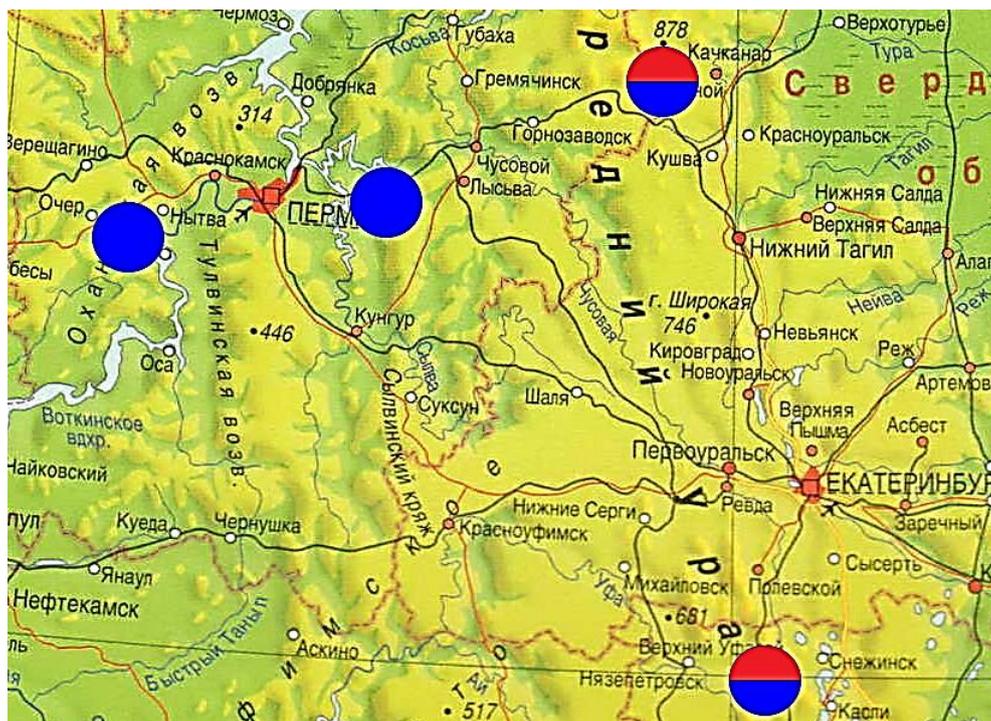


Рисунок 1. Карта-схема расположения мест сбора образцов лиственницы сибирской и сосны обыкновенной; синим цветом обозначены места сбора образцов сосны обыкновенной, красным — лиственницы сибирской; двумя цветами отмечены места сбора образцов обоих видов

Навеску (~50 мг) образцов точной массы помещали в пробирку типа Eppendorf, прибавляли 800 мкл растворителя, а затем 400 мкл раствора тетраметиламмоний гидроксида (25% водн.). Пробирку закрывали и помещали на 30 мин в ультразвуковую ванну до полного диспергирования образцов. Полученную суспензию центрифугировали при 14000 об/мин в течение 2 мин. Для хроматографического исследования использовали супернатант.

Анализ подготовленных образцов проводили на газовом хроматографе Agilent7890B с масс-спектрометрическим детектором 5977A MSD. Колонка — капиллярная HP-1MS, 30 м * 0,25 мм. Газ носитель — гелий, поток 1 мл/мин. Температура испарителя 300°C. Температурный градиент: 200 °C — 2 мин, 5 °C/мин — до 270 °C, 270 °C — 0,5 мин. Объем вводимой пробы — 0,05 мкл. Способ введения — с делением потока 25:1. Диапазон сканирования масс 16–800. В интервал времени 0–1,5 мин детектор отключали. Идентификация соединений осуществлялась по коммерческой библиотеке масс-спектров NIST.

Содержание абиединовой кислоты определяли по калибровочному графику. Калибровочный график построен по данным, полученным при анализе 4 образцов чистой абиединовой кислоты таким же методом. Калибровочные образцы подготовлены в аналогичных условиях, вместо навесок образцов вводили навески чистой абиединовой кислоты.

Для выделения ДНК использовали СТАВ-метод [8], модифицированный добавлением в качестве сорбента PVPP (polyvinylpyrrolidone). Навеска растительного материала составляла 20 мг. Концентрацию и спектральную характеристику ДНК определяли на приборе Spectrofotometr™ NanoDrop2000 (Thermo scientific, США). Для проведения ПЦР концентрацию ДНК каждой пробы выравнивали до 10 нг/мкл. Молекулярно-генетический анализ проведен с использованием ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) метода анализа полиморфизма ДНК [9] с использованием последовательностей 5 ISSR-праймеров

(Таблица 1), наиболее эффективных в геноме данного вида по результатам предыдущих исследований.

Таблица 1

ХАРАКТЕРИСТИКА ISSR-ПРАЙМЕРОВ

Праймер	Нуклеотидная последовательность, (5'→3')	$T_{отж.}$, °C
<i>Larix sibirica</i> Ledeb.		
CR-215	CTC-TCT-CTC-TCT-CTC-TTG	56
ISSR-8	GAG-GAG-GAG-GAG-GAG-GAG-C	56
X10	AGC-AGC-AGC-AGC-AGC-AGC-C	64
X11	AGC-AGC-AGC-AGC-AGC-AGC-G	64
M3	ACA-CAC-ACA-CAC-ACA-CCT	54
<i>Pinus sylvestris</i> L.		
ISSR-1	ACA-CAC-ACA-CAC-ACA-CT	56
CR-215	CTC-TCT-CTC-TCT-CTC-TTG	56
CR-212	CAC-ACA-CAC-ACA-GT	56
M27	GAG-AGA-GAG-AGA-GAG-AC	52
X10	AGC-AGC-AGC-AGC-AGC-AGC-C	64

Примечание: $T_{отж.}$ — температура отжига праймера

Реакционная смесь объемом 25 мкл для полимеразной цепной реакции содержала: 2 единицы *Tag*-полимеразы; 2,5 мкл стандартного 10× буфера для ПЦР; 2,5 mM MgCl₂ («Силекс М», Россия); 0,25 mM dNTP (Fermentas, Литва); 25 пМ праймера («Синтол», Россия); 5 мкл тотальной ДНК. В качестве отрицательного контроля (К-) в реакционную смесь для проверки чистоты реактивов добавляли вместо ДНК 5 мкл деионизированной воды. Амплификацию ДНК проводили в термоциклере GeneAmp PCRSystem 9700 (Applied Biosystems, США) по стандартной для ISSR-PCR метода программе: предварительная денатурация 94 °C, 2 мин; первые пять циклов 94 °C, 20 сек.; t° отжига, 10 сек.; 72 °C, 10 сек.; в последующих тридцати пяти циклах 94 °C, 5 сек.; t° отж., 5 сек.; 72 °C, 5 сек. Последний цикл элонгации длился 2 мин при 72 °C. Продукты амплификации разделяли электрофорезом в 1,7% агарозном геле в 1× TBE буфере, окрашивали бромистым этидием и фотографировали в проходящем ультрафиолетовом свете в системе гель-документации GelDoc XR (Bio-Rad, США). Для определения длин фрагментов ДНК использовали маркер молекулярного веса (100 bp +1,5 + 3 Kb DNA Ladder, ООО «СибЭнзим-М», Москва) и программу Quantity One (Bio-Rad, США).

Для проверки достоверности полученных результатов ПЦР и электрофорез повторяли не менее трех раз. Для количественной оценки генетического разнообразия данные молекулярно-генетического анализа были представлены в виде матрицы бинарных признаков. Компьютерный анализ полиморфизма ДНК корреляционный анализ проводили с помощью 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 [10]. Генетический анализ проводился с использованием специализированного макроса для MS Excel GenAlEx 6.

Результаты и обсуждение

В образцах смолы сосны обыкновенной были выявлены следующие вещества, в том числе обладающие биологической активностью: 1-фенантренкарбоновая кислота, 4а(2Н)-фенантренкарбоновая кислота, 7-оксодегидроабетиновая кислота, дегидроабетиновая

кислота, абиетиновая кислота, 7-метокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагидрофенантрен-1-карбоновая кислота. В образцах смолы лиственницы сибирской были обнаружены 1-Нафталинпропанол, 1-фенантренкарбоновая кислота, дегидроабиетиновая кислота, абиетиновая кислота.

Количественный анализ проведен у абиетиновой и дегидроабиетиновой кислот, обладающих большим потенциалом использования их в качестве БАВ [2–6, 11]. Установлено, что в образцах смолы лиственницы сибирской абиетиновой кислоты содержится больше, чем в образцах сосны обыкновенной. Обратная ситуация с дегидроабиетиновой кислотой, которой больше в образцах сосны обыкновенной нежели в образцах лиственницы сибирской (Таблица 2).

Таблица 2

СОДЕРЖАНИЕ АБИЕТИНОВОЙ И ДЕГИДРОАБИЕТИКОВОЙ КИСЛОТ
 В ИЗУЧАЕМЫХ ОБРАЗЦАХ *Pinus sylvestris* L. и *Larix sibirica* Ledeb.

Образец (<i>P. sylvestris</i>)	w(abiet), %	w(deab), %	Образец (<i>L. sibirica</i>)	w(abiet), %	w(deab), %
PS-1	3,79	<u>29,29</u>	LS-1	<u>29,86</u>	1,50
PS-2	7,71	<u>33,80</u>	LS-2	7,71	<u>7,97</u>
PS-3	8,00	22,03	LS-3	5,43	<u>8,19</u>
PS-4	7,84	<u>27,21</u>	LS-4	5,07	7,20
PS-5	<u>13,70</u>	19,64	LS-5	7,32	5,52
PS-6	9,04	<u>24,37</u>	LS-6	<u>20,28</u>	3,61
PS-7	<u>10,16</u>	16,22	LS-7	14,81	3,55
PS-8	7,52	22,02	LS-8	9,19	4,44
PS-9	7,13	21,73	LS-9	13,66	3,43
PS-10	9,45	19,05	LS-10	<u>23,66</u>	2,99
PS-11	6,19	22,17	LS-11	14,76	3,13
PS-12	<u>13,59</u>	10,27	LS-12	19,48	3,12
PS-13	7,55	12,89	LS-13	12,46	5,10
PS-14	9,39	19,83	LS-14	12,30	4,14
PS-15	<u>12,90</u>	17,13	LS-15	<u>21,31</u>	4,12
Среднее	8,93	21,18	Среднее	14,49	4,54

Примечание: w(abiet) — содержание абиетиновой кислоты в %, w(deab) — содержание дегидроабиетиновой кислоты в %; подчеркнуты данные с наибольшим % кислот

Изучаемые образцы разбивались на группы в зависимости от содержания в них абиетиновой или дегидроабиетиновой кислот, от меньшего к большему. Для сосны обыкновенной было выделено 4 группы по содержанию абиетиновой кислоты (% от навески образца): I — от 3,78 до 6,19%; II — от 7,12 до 7,99%; III — от 9,04 до 10,16%; IV — от 12,89 до 13,69%. Кроме этого, установлены 4 группы по количественному содержанию дегидроабиетиновой кислоты: I — от 10,26 до 10,89%; II — от 16,21 до 17,12%; III — от 21,73 до 22,17%; IV — от 24,37 до 33,80%. Для лиственницы сибирской было выделено также 4 группы по содержанию абиетиновой кислоты: I — от 5,07 до 7,70%; II — от 9,18 до 13,65%; III — от 14,47 до 19,47%; IV — от 20,27 до 29,85%. Для лиственницы сибирской было установлено также 4 группы по содержанию дегидроабиетиновой кислоты: I — от 1,49 до 3,13%; II — от 3,43 до 4,14%; III — от 4,44 до 5,51%; IV — от 7,20 до 8,18%.

Содержание абиетиновой кислоты у *P. sylvestris* варьировало от 3,79% до 13,70% при этом максимальные значения отмечены у деревьев PS-5, PS-7, PS-12 и PS-15, в диапазоне от

10,16% до 13,70%. Эти образцы из разных мест сбора, PS-5 и PS-15 — с Аракульского шихана, PS-7 — из Качканара, PS-12 — из Очерского района. Содержание дегидроабиединовой кислоты у *P. sylvestris* варьировало от 10,26% до 33,80% (% от навески образца). При этом, максимальные значения отмечены у деревьев PS-1, PS-2, PS-4 и PS-6, в диапазоне от 24,37% до 33,80%. Эти образцы с деревьев PS-1, PS-2, PS-4, которые взяты с Аракульского шихана, а с дерева PS-6 — из Качканара.

Содержание абиединовой кислоты у *L. sibirica* варьировало от 5,07% до 29,86%. Наибольшим содержанием абиединовой кислоты характеризуются деревья LS-1, LS-6, LS-10, LS-15, у которых содержание этой кислоты изменялось от 21,31% до 29,86%. При этом, дерево LS-1 растет на Аракульском шихане, дерево LS-6 – в Пермском районе, деревья LS-10 и LS-15 – на Качканаре. Содержание дегидроабиединовой кислоты у *L. sibirica* варьировало от 1,49% до 8,18%. Наибольшим содержанием дегидроабиединовой кислоты характеризуются деревья LS-2, LS-3, у которых содержание этой кислоты изменялось от 7,97% до 8,18%. Оба образца собраны с деревьев, растущих в Пермском районе.

Итак, на основе анализа имеющихся данных не выявлено зависимости содержания абиединовой кислоты от места произрастания образцов. Определено преобладание в образцах смолы сосны обыкновенной фракции дегидроабиединовой кислоты, а в образцах смолы лиственницы сибирской — абиединовой кислоты, что характерно для этих видов и отмечено в других исследованиях [12, 13].

Таким образом, для сосны обыкновенной характерно преобладание дегидроабиединовой, а для лиственницы сибирской — абиединовой кислоты. Для молекулярно-генетического анализа перспективны образцы с наибольшим и наименьшим содержанием кислот для выявления генетических детерминант, определяющих количественное содержание кислот в смоле.

При молекулярно-генетическом анализе проб ДНК, выделенных из образцов сосны обыкновенной, с использованием ISSR-метода анализа полиморфизма ДНК, в ПЦР было амплифицировано 70 фрагментов ДНК. Используемые праймеры выявляли от 10 до 17, в среднем 14 фрагментов ДНК. Длины фрагментов ДНК варьировали от 230 до 1500 пар нуклеотидов. Доля полиморфных локусов (P_{95}) была равна 0,914. Абсолютное число аллелей (n_a) для сосны обыкновенной составило 1,914, а эффективное число аллелей (n_e) — 1,356. Ожидаемая гетерозиготность (He) составляла 0,230, а информационный индекс Шеннона (I) — 0,369.

При анализе полиморфизма ДНК у лиственницы сибирской в ПЦР было амплифицировано 89 фрагментов ДНК. Используемые в ПЦР праймеры выявляли от 12 до 24 фрагментов ДНК, (в среднем 17,8). Доля полиморфных локусов (P_{95}) у *L. sibirica* равна 0,988. Длины фрагментов ДНК варьировали от 170 до 1630 пар нуклеотидов. Абсолютное число аллелей (n_a) у сосны обыкновенной составило 1,989, а эффективное число аллелей (n_e) — 1,272. Ожидаемая гетерозиготность (He) равна 0,192, а информационный индекс Шеннона (I) — 0,327. Выявленные показатели генетического разнообразия для сосны обыкновенной и лиственницы сибирской являются высокими и соответствуют выявленным нами ранее на Урале [14, 15].

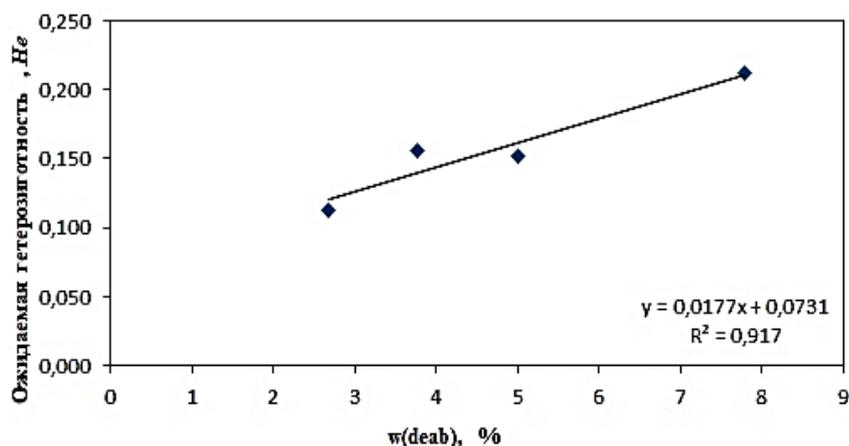
По результатам анализа (Таблица 3) была выявлена положительная корреляция между уровнем генетического разнообразия (ожидаемая гетерозиготность — He) и содержанием дегидроабиединовой кислоты в пробах сосны обыкновенной и лиственницы сибирской.

Таблица 3

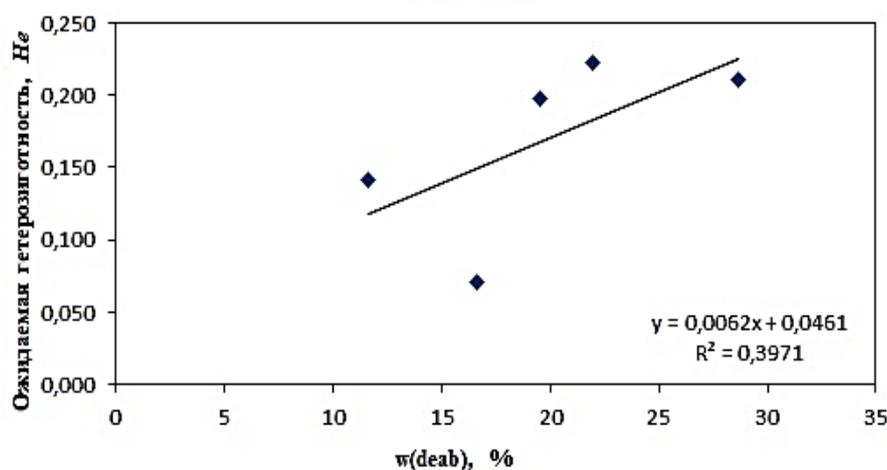
ГРУППЫ ДЕРЕВЬЕВ *Pinus sylvestris* L. и *Larix sibirica* Ledeb. С ДАННЫМИ ОЖИДАЕМОЙ ГЕТЕРОЗИГОТНОСТИ И СОДЕРЖАНИЕМ ДЕГИДРОАБИЕТИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Группы деревьев	He	Среднее содержание дегидроабиетиновой кислоты, w(deab), %
<i>Pinus sylvestris</i> L.		
I	0,210	28,66
II	0,222	21,98
III	0,198	19,5
IV	0,071	16,66
V	0,142	11,58
<i>Larix sibirica</i> Ledeb.		
I	0,212	7,78
II	0,152	5,01
III	0,156	3,77
IV	0,113	2,68

Примечание: He — ожидаемая гетерозиготность, среднее w(deab), % — содержание дегидроабиетиновой кислоты



Larix sibirica Ledeb.



Pinus sylvestris L.

Рисунок 2. График зависимости уровня генетического разнообразия (ожидаемая гетерозиготность — He) и содержания дегидроабиетиновой кислоты (w(deab), %) в образцах смолы двух видов хвойных растений

У *P. sylvestris* коэффициент корреляции между содержанием дегидроабиетиновой кислоты и ожидаемой гетерозиготностью невысок и составил 0,397 при p=0,005, а у *L. sibirica* высокий и равен 0,917 при p=0,005 (Рисунок 2).

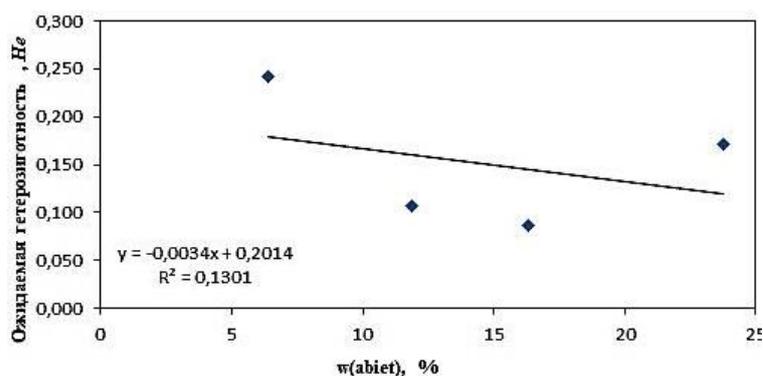
Корреляционный анализ абиетиновой кислоты выявил обратную зависимость ее содержания от уровня генетического разнообразия (Таблица 4).

Таблица 4

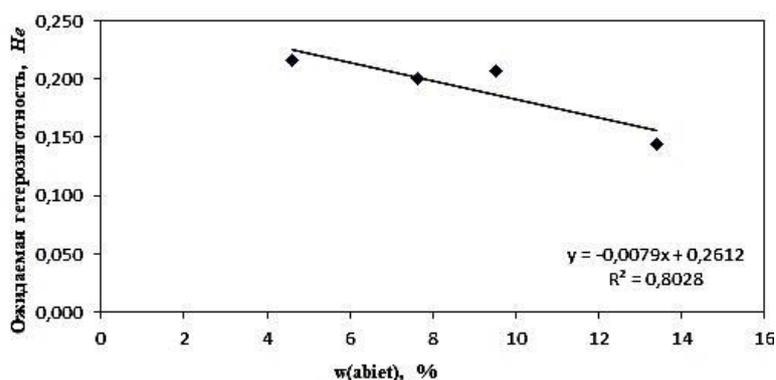
ГРУППЫ ДЕРЕВЬЕВ *Pinus sylvestris* L. и *Larix sibirica* Ledeb. С ДАННЫМИ ОЖИДАЕМОЙ ГЕТЕРОЗИГОТНОСТИ И СОДЕРЖАНИЕМ АБИЕТИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Группы деревьев	<i>He</i>	Среднее содержание абиетиновой кислоты, среднее $w(abiet)$, %
<i>Pinus sylvestris</i> L.		
I	0,144	13,39
II	0,206	9,51
III	0,200	7,62
IV	0,216	4,985
<i>Larix sibirica</i> Ledeb.		
I	0,171	23,77
II	0,086	16,34
III	0,107	11,89
IV	0,241	6,39

Примечание: *He* — ожидаемая гетерозиготность, среднее $w(abiet)$, % — содержание абиетиновой кислоты



Larix sibirica Ledeb.



Pinus sylvestris L.

Рисунок 3. График зависимости уровня генетического разнообразия (ожидаемая гетерозиготность – *He*) и содержания абиетиновой кислоты ($w(abiet)$, %) в образцах смолы двух видов хвойных растений

Для сосны обыкновенной коэффициент корреляции между содержанием абиетиновой кислоты и ожидаемой гетерозиготностью высок и составил 0,829 при $p=0,005$. Для лиственницы сибирской достоверной корреляции выявлено не было, коэффициент корреляции низок и составил 0,130 при $p=0,005$ (Рисунок 3).

Обратная зависимость между генетическим разнообразием и содержанием абиединовой кислоты у сосны обыкновенной может быть связана с тем, что основной фракцией смоляных кислот у сосны является дигидроабиединовая кислота, а не абиединовая [12].

Заключение

Итак, изученные образцы деревьев сосны обыкновенной и лиственницы сибирской обладают высоким генетическим разнообразием, сопоставимым с деревьями из популяций, произрастающих на Урале. Установлена корреляция между генетическим разнообразием изучаемых образцов сосны обыкновенной и лиственницы сибирской и содержанием в них абиединовой и дегидроабиединовой кислот. В дальнейшем необходимо изучение полиморфизма отдельных генов, ассоциированных с синтезом этих смоляных кислот у двух изученных видов хвойных растений. Это позволит расширить информацию о генетическом контроле синтеза смоляных кислот. Необходимы дальнейшие исследования с целью объяснения отрицательной корреляции между генетическим разнообразием и содержанием абиединовой кислоты у отдельных деревьев *P. sylvestris* и *L. sibirica*, произрастающих на Урале.

Авторы выражают благодарность к-ту хим. наук Дмитриеву Максиму Викторовичу и Антонову Дмитрию Ильичу за консультацию и помощь в проведении количественного анализа смоляных кислот.

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

Список литературы:

1. Shpatov A. V., Popov S. A., Salnikova O. I., Shmidt E. N., Kang S. W., Kim S. M., Um B. H. Lipophilic extracts from needles and defoliated twigs of *Pinus pumila* from two different populations // *Chemistry & biodiversity*. 2013. V. 10. №2. P. 198-208.
2. Talevi A., Cravero M. S., Castro E. A., Bruno-Blanch L. E. Discovery of anticonvulsant activity of abietic acid through application of linear discriminant analysis // *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2007. V. 17. №6. P. 1684-1690. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2006.12.098>
3. Fernandez M. A., Tornos M. P., Garcia M. D., De las Heras B., Villar A. M., Saenz M. T. Anti-inflammatory activity of abietic acid, a diterpene isolated from *Pimenta racemosa* var. *grisea* // *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2001. V. 53. №6. P. 867-872. <https://doi.org/10.1211/0022357011776027>
4. Park J. Y., Lee Y. K., Lee D. S., Yoo J. E., Shin M. S., Yamabe N., Kang K. S. Abietic acid isolated from pine resin (*Resina Pini*) enhances angiogenesis in HUVECs and accelerates cutaneous wound healing in mice // *Journal of ethnopharmacology*. 2017. V. 203. P. 279-287. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.03.055>
5. Ito Y., Ito T., Yamashiro K., Mineshiba F., Hirai K., Omori K., Takashiba S. Antimicrobial and antibiofilm effects of abietic acid on cariogenic *Streptococcus mutans* // *Odontology*. 2020. V. 108. №1. P. 57-65. <https://doi.org/10.1007/s10266-019-00456-0>
6. Liu X., Chen W., Liu Q., Dai J. Abietic acid suppresses non-small-cell lung cancer cell growth via blocking IKK β /NF- κ B signaling // *OncoTargets and therapy*. 2019. V. 12. P. 4825. <https://dx.doi.org/10.2147%2FOTT.S199161>
7. Ulusu N. N., Ercil D., Sakar M. K., Tezcan E. F. Abietic acid inhibits lipoxygenase activity // *Phytotherapy research*. 2002. V. 16. №1. P. 88-90. <https://doi.org/10.1002/ptr.983>

8. Rogers S. O., Bendich A. J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // *Plant molecular biology*. 1985. V. 5. №2. P. 69-76. <https://doi.org/10.1007/BF00020088>
9. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification // *Genomics*. 1994. V. 20. №2. P. 176-183. <https://doi.org/10.1006/geno.1994.1151>
10. Nei M. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia university press, 1987.
11. Kim E., Kang Y. G., Kim Y. J., Lee T. R., Yoo B. C., Jo M., Cho J. Y. Dehydroabietic acid suppresses inflammatory response via suppression of Src-, Syk-, and TAK1-mediated pathways // *International journal of molecular sciences*. 2019. V. 20. №7. P. 1593. <https://doi.org/10.3390/ijms20071593>
12. Племенков В. В., Апполонова С. А., Кирлица Д. А. К вопросу о нативном содержании смоляных кислот в живицах хвойных // *Химия и компьютерное моделирование. Бутлеровские сообщения*. 2004. Т. 5. №1. С. 30–32.
13. Остроухова Л. А., Радугин В. А., Бабкин В. А., Онучина Н. А., Левчук А. А. Исследование химического состава смолы древесины лиственницы // *Химия растительного сырья*. 2011. №4. С. 83-87.
14. Vasilyeva Y., Chertov N., Nechaeva Y., Sboeva Y., Pystogova N., Boronnikova S., Kalendar R. Genetic Structure, Differentiation and Originality of *Pinus sylvestris* L. Populations in the East of the East European Plain // *Forests*. 2021. V. 12. №8. P. 999. <https://doi.org/10.3390/f12080999>
15. Васильева Ю. С., Сбоева Я. В., Боронникова С. В., Чертов Н. В., Бельтюкова Н. Н. Генетическое разнообразие, генетическая структура и дифференциация популяций лиственницы сибирской на Урале // *Turczaninowia*. 2020. Т. 23. №3. С. 67-82. <https://doi.org/10.14258/turczaninowia.23.3.7>

References:

1. Shpatov, A. V., Popov, S. A., Salnikova, O. I., Shmidt, E. N., Kang, S. W., Kim, S. M., & Um, B. H. (2013). Lipophilic extracts from needles and defoliated twigs of *Pinus pumila* from two different populations. *Chemistry & biodiversity*, 10(2), 198-208.
2. Talevi, A., Cravero, M. S., Castro, E. A., & Bruno-Blanch, L. E. (2007). Discovery of anticonvulsant activity of abietic acid through application of linear discriminant analysis. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 17(6), 1684-1690. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2006.12.098>
3. Fernandez, M. A., Tornos, M. P., Garcia, M. D., De las Heras, B., Villar, A. M., & Saenz, M. T. (2001). Anti-inflammatory activity of abietic acid, a diterpene isolated from *Pimenta racemosa* var. *grisea*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 53(6), 867-872. <https://doi.org/10.1211/0022357011776027>
4. Park, J. Y., Lee, Y. K., Lee, D. S., Yoo, J. E., Shin, M. S., Yamabe, N., ... & Kang, K. S. (2017). Abietic acid isolated from pine resin (Resina Pini) enhances angiogenesis in HUVECs and accelerates cutaneous wound healing in mice. *Journal of ethnopharmacology*, 203, 279-287. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.03.055>
5. Ito, Y., Ito, T., Yamashiro, K., Mineshiba, F., Hirai, K., Omori, K., ... & Takashiba, S. (2020). Antimicrobial and antibiofilm effects of abietic acid on cariogenic *Streptococcus mutans*. *Odontology*, 108(1), 57-65. <https://doi.org/10.1007/s10266-019-00456-0>

6. Liu, X., Chen, W., Liu, Q., & Dai, J. (2019). Abietic acid suppresses non-small-cell lung cancer cell growth via blocking IKK β /NF- κ B signaling. *OncoTargets and therapy*, 12, 4825. <https://dx.doi.org/10.2147%2FOTT.S199161>
7. Ulusu, N. N., Ercil, D., Sakar, M. K., & Tezcan, E. F. (2002). Abietic acid inhibits lipoxygenase activity. *Phytotherapy research*, 16(1), 88-90. <https://doi.org/10.1002/ptr.983>
8. Rogers, S. O., & Bendich, A. J. (1985). Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues. *Plant molecular biology*, 5(2), 69-76. <https://doi.org/10.1007/BF00020088>
9. Zietkiewicz, E., Rafalski, A., & Labuda, D. (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20(2), 176-183. <https://doi.org/10.1006/geno.1994.1151>
10. Nei, M. (1987). *Molecular evolutionary genetics*. Columbia university press.
11. Kim, E., Kang, Y. G., Kim, Y. J., Lee, T. R., Yoo, B. C., Jo, M., ... & Cho, J. Y. (2019). Dehydroabietic acid suppresses inflammatory response via suppression of Src-, Syk-, and TAK1-mediated pathways. *International journal of molecular sciences*, 20(7), 1593. <https://doi.org/10.3390/ijms20071593>
12. Plemenkov, V. V., Appolonova, S. A., & Kirlitsa, D. A. (2004). К вопросу о нативном содержании смолыных кислот в живицах хвойных. *Химия и компьютерное моделирование. Булеровские сообщения*, 5(1), 30–32. (in Russian)
13. Ostroukhova, L. A., Raldugin, V. A., Babkin, V. A., Onuchina, N. A., & Levchuk, A. A. (2011). Исследование химического состава смолы древесины лиственницы. *Химия растительного сырья*, (4), 83-87. (in Russian)
14. Vasilyeva, Y., Chertov, N., Nechaeva, Y., Sboeva, Y., Pystogova, N., Boronnikova, S., & Kalendar, R. (2021). Genetic Structure, Differentiation and Originality of *Pinus sylvestris* L. Populations in the East of the East European Plain. *Forests*, 12(8), 999. <https://doi.org/10.3390/f12080999>
15. Vasilyeva, Y. S., Sboeva, Y. V., Boronnikova, S. V., Chertov, N. V., & Beltyukova, N. N. (2020). Genetic diversity, genetic structure and differentiation of Siberian larch populations in the Urals. *Turczaninowia*, 23(3). (in Russian). <https://doi.org/10.14258/turczaninowia.23.3.7>

Работа поступила
в редакцию 29.03.2022 г.

Принята к публикации
03.04.2022 г.

Ссылка для цитирования:

Чертков Н. В., Боронникова С. В., Каган Д. И. Анализ генетического разнообразия *Larix sibirica* Ledeb. и *Pinus sylvestris* L., перспективных в качестве источников биологически активных веществ растительного происхождения // Бюллетень науки и практики. 2022. Т. 8. №4. С. 22-32. <https://doi.org/10.33619/2414-2948/77/02>

Cite as (APA):

Chertov, N., Boronnikova, S., & Kagan, D. (2022). Analysis of the Genetic Diversity of *Larix sibirica* Ledeb. and *Pinus sylvestris* L., Promising as Sources of Biologically Active Substances of Plant Origin. *Bulletin of Science and Practice*, 8(4), 22-32. (in Russian). <https://doi.org/10.33619/2414-2948/77/02>