

## ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ СЕМЯН СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ РАЗНЫХ СЕЛЕКЦИОННЫХ КАТЕГОРИЙ ПО ISSR-МАРКЕРАМ

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент **О.В. Шейкина**<sup>1</sup>

кандидат сельскохозяйственных наук **Т.Н. Криворотова**<sup>1</sup>

**Ю.Ф. Гладков**<sup>2</sup>

1 – ФГБОУ ВО «Поволжский государственный технологический университет»,

г. Йошкар-Ола, Российская Федерация

2 – Филиал ФБУ «Российский центр защиты леса» – «Центр защиты леса Республики Марий Эл»,

г. Йошкар-Ола, Российская Федерация

Цель исследования заключалась в сравнительной оценке генетического разнообразия и дифференциации семян сосны обыкновенной разных селекционных категорий. Объектом исследования служили семена, заготовленные на постоянных лесосеменных участках и клоновых лесосеменных плантациях в Пензенской области, Чувашской Республике и Республике Марий Эл. Для оценки уровня генетического разнообразия и дифференциации был использован метод на основе полимеразной цепной реакции с ISSR-праймерами. Всего с использованием 6 ISSR-праймеров было амплифицировано 250 локусов, из которых 210 оказались полиморфными. Изученные партии семян характеризовались разным уровнем генетической изменчивости. Показатели генетического разнообразия семян улучшенной селекционной категории варьировались в следующих пределах: процент полиморфных локусов от 56,3 до 72,6; число аллелей на локус от 1,56 до 1,73; эффективное число аллелей от 1,26 до 1,38; ожидаемая гетерозиготность от 0,17 до 0,23. Семена нормальной селекционной категории характеризуются следующими показателями генетического разнообразия: процент полиморфных локусов 57,2–72,6; число аллелей на локус 1,57–1,68; эффективное число аллелей 1,25–1,33; ожидаемая гетерозиготность 0,16–0,19. Зависимости уровня генетического разнообразия от селекционной категории семян не выявлено. Обобщенные показатели генетического разнообразия улучшенных семян были близкими или выше по сравнению с нормальными семенами. Генетическая дистанция Нея между 8 партиями семян варьировалась от 0,027 до 0,113. Показатель генетической подразделенности ( $G_{st}$ ) составил 0,25, следовательно, большая доля генетической изменчивости находится внутри партий семян (75 %).

**Ключевые слова:** *Pinus sylvestris* L., семена, генетическое разнообразие, ISSR-маркеры.

## GENETIC POLYMORPHISM AND SEED DIFFERENTIATION SCOTS PINE SEEDS OF DIFFERENT SELECTION CATEGORIES USING ISSR-MARKERS

PhD (Agriculture), Associate Professor **O.V. Sheikina**<sup>1</sup>

PhD (Agriculture) **T.N. Krivorotova**<sup>1</sup>

**Yu.F. Gladkov**<sup>2</sup>

1 – FSBEI HE "Volga State University of Technology", Yoshkar-Ola, Russian Federation

2 – Branch of FSBI "Russian Center for Forest Protection" – "Center for Forest Protection of the Republic of Mari El",  
Yoshkar-Ola, Russian Federation

The purpose of the study is a comparative assessment of the genetic diversity and differentiation of common pine seeds of different breeding categories. The object of the study was seeds harvested on permanent forest seed plots and

clone forest seed plantations in the Penza region, the Chuvash Republic and the Republic of Mari El. A polymerase chain reaction method with ISSR primers has been used to assess the level of genetic diversity and differentiation. A total of 250 loci have been amplified using 6 ISSR primers, 210 of which were polymorphic ones. The studied seed batches were characterized by different levels of genetic variation. Indicators of genetic diversity of seeds (improved breeding category) have varied within the following limits: the percentage of polymorphic loci from 56.3 to 72.6; the number of alleles per locus from 1.56 to 1.73; effective number of alleles from 1.26 to 1.38; expected heterozygosity from 0.17 to 0.23. Seeds of the normal selection category are characterized by the following indicators of genetic diversity: the percentage of polymorphic loci is 57.2–72.6; the number of alleles per locus 1.57–1.68; the effective number of alleles is 1.25–1.33; expected heterozygosity - 0.16–0.19. Dependence of the level of genetic diversity on the selection category of seeds has not been identified. Generalized indicators of the genetic diversity of improved seeds have been close or higher in comparison with normal seeds. Ney's genetic distance between 8 batches of seeds has ranged from 0.027 to 0.113. The genetic subdivision index (GSI) was 0.25. Therefore, a large proportion of the genetic variation is located inside seed batches (75%).

**Keywords:** *Pinus sylvestris* L., seeds, genetic diversity, ISSR markers.

### Введение

В мировой практике получение семян от свободного опыления для искусственного лесовосстановления возможно с семенных насаждений (seed stands), формируемых на основе отобранных естественных или искусственных насаждений, и с лесосеменных плантаций (seed orchards), создаваемых потомством отобранных генотипов [1]. В России к понятию «семенные насаждения» можно отнести постоянные лесосеменные участки (ПЛСУ) с которых получают семена нормальной селекционной категории. Заготовка семян улучшенной селекционной категории проводится на лесосеменных плантациях 1 порядка (ЛСП). Создание лесосеменных плантаций предполагает улучшение качества и количества семян по сравнению с семенными насаждениями [2]. Однако есть беспокойство о том, что вовлечение в селекционный процесс незначительного количества генотипов при создании ЛСП может привести к снижению генетического разнообразия будущих лесов [3, 4, 5]. Между тем, генетическое разнообразие является одним из важнейших условий, обеспечивающих стабильность популяций, так как именно оно является фактором адаптации вида в изменяющихся условиях окружающей среды [6, 7] и является важным ресурсом для селекционных программ [8]. Поэтому при реализации программ по лесному семеноводству на принципах плюсовой селекции мы не можем не уделять внимание

проблеме сохранения генетического разнообразия, так как наши сегодняшние действия определяют, какие насаждения мы будем иметь через 50-100 лет.

Сравнительные исследования уровня генетического разнообразия лесосеменных плантаций и насаждений хвойных видов с использованием разных типов молекулярных маркеров показали противоречивые результаты. Снижение аллельного разнообразия и уровня гетерозиготности на ЛСП по сравнению с естественными насаждениями было отмечено для *Picea glauca x engelmanni* [9], *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco [10], *Picea glauca* (Moench.) Voss и *Pinus banksiana* Lamb. [11], *Pinus sylvestris* [12]. По результатам других исследований можно говорить о том, что ЛСП характеризуются сопоставимым или даже более высоким уровнем генетической изменчивости по сравнению с насаждениями [13, 14, 15, 15, 17]. Можно предположить, что уровень генетического разнообразия лесосеменных плантаций обусловлен, прежде всего, индивидуальными генетическими особенностями отобранных плюсовых деревьев. В ряде работ показано, что плюсовые деревья на лесосеменных плантациях могут содержать очень высокий запас генетической изменчивости [18, 19]. Таким образом, оценка генетического разнообразия отобранных плюсовых деревьев и созданных на их основе лесосеменных плантаций часто становится предметом научных изысканий. В то же время

изучению генетического полиморфизма семян древесных видов, получаемых как с лесосеменных плантаций, так и из альтернативных источников, посвящено весьма ограниченное количество исследований. Нам удалось найти только одну работу, в которой для *Picea glauca x engelmanni* показано, что семена с лесосеменных плантаций характеризуются более высокими значениями доли полиморфных локусов и наблюдаемой гетерозиготности по сравнению как с самими ЛСП, так и с природными популяциями [9].

Для исследования были выбраны ISSR-маркеры, в основе которых лежит технология амплификации случайных фрагментов ДНК с использованием неспецифических праймеров. Несомненным преимуществом ISSR-маркеров является то, что они позволяют изучать сразу большое количество расположенных в разных участках генома локусов [20] и тем самым дают возможность отслеживать изменения на уровне нуклеотидов во времени и пространстве. ISSR-маркеры успешно применяются для изучения генетического разнообразия и дифференциации сосны обыкновенной [16, 18, 21, 22, 23, 24].

Цель работы – выполнить сравнительную оценку уровня генетической изменчивости и дифференциации семян сосны обыкновенной нормальной и улучшенной селекционных категорий на основе анализа полиморфизма ISSR-маркеров.

### Материал и методика исследований

Для анализа уровня генетической изменчивости и дифференциации проанализированы партии семян из Пензенской области, Чувашской Республики и Республики Марий Эл нормальной и улучшенной селекционных категорий. Семена нормальной селекционной категории собраны на следующих постоянных лесосеменных участках (ПЛСУ):

1) ПЛСУ в Ахунском лесничестве Пензенской области (шифр ПЛСУ ПО);

2) ПЛСУ в Порецком лесничестве Чувашской Республики (шифр ПЛСУ ЧР);

3) ПЛСУ в Сернурском лесничестве Республики Марий Эл (шифр ПЛСУ РМЭ).

Семена улучшенной селекционной категории получены со следующих лесосеменных плантаций (ЛСП):

1) ЛСП в Кузнецком лесничестве Пензенской области (шифр ЛСП ПО);

2) 1 поле ЛСП в Ибресинском лесничестве Чувашской республики (шифр ЛСП 1 ЧР);

3) 2 поле ЛСП в Ибресинском лесничестве Чувашской республики (шифр ЛСП 2 ЧР);

4) ЛСП в Сернурском лесничестве Республики Марий Эл (шифр ЛСП РМЭ).

Для генетического анализа использовали проростки 30 случайных семян из среднего образца. ДНК выделяли с применением СТАВ-метода [25]. Характеристика ISSR-праймеров, примененных при полимеразной цепной реакции, представлена в табл. 1. Полимеразная цепная реакция проводилась с использованием набора реактивов «Encyclo PCR kit» (Evrogen, Россия) и термоциклера MJ Mini™ Gradient Thermal Cycler (Bio-Rad, США) при следующих условиях: 1 мкл ПЦР буфер; 0,2 мкл dNTPs (по 10мМ каждого); 0,1 мкл праймера (100мк М); 0,1 мкл Taq-полимеразы (2 ед/мкл); 1 мкл препарата ДНК и 7,6 мкл стерильной воды. Режим ПЦР: первоначальная денатурация в течение 5 мин при температуре 94 °С; 45 циклов – денатурация в течение 30 с при 94 °С, отжиг праймеров в течение 45 с при 60 °С и элонгация в течение 2 мин при 72 °С; финишная элонгация в течение 7 мин при 72 °С. Электрофоретическое разделение ПЦР-продуктов выполнено в 1,5 % агарозном геле с использованием TBE-буфера при напряжении 80 V. В качестве стандарта использовали маркер длин ДНК «100+ bp DNA Ladde» (Evrogen, Россия). Расчет длин амплифицированных фрагментов ДНК выполнен с применением системы геледокументирования GelDoc 2000 и программы Quantity One® Version 4.6.3. Расчет показателей генетического разнообразия и дифференциации выполнен в программе PopGene.

### Результаты и обсуждение

ISSR-праймеры относятся к мультилокусным типам ДНК-маркеров, при использовании которых одновременно амплифицируется множество фрагментов ДНК. Используемые в

исследовании ISSR-праймеры позволили идентифицировать от 24 до 41 локусов (табл. 1). Всего во всей выборке было обнаружено 215 локусов, при этом 210 локусов (99,7 %) оказались полиморфными. Только 5 ПЦР-фрагментов встречались абсолютно у всех семян в каждой партии. Длина ПЦР-фрагментов варьировалась от 200 до 2790 пар нуклеотидов.

Доля полиморфных локусов является одним из показателей генетического разнообразия. Популяция называется полиморфной по ISSR-локусу, если в ней встречается два варианта аллелей: вариант «1» означает, что ПЦР-фрагмент определенной длины присутствует, вариант «0» означает отсутствие этого ПЦР-фрагмента. Количество полиморфных локусов варьировалось от 56,3 до 72,6 % у семян улучшенной селекционной категории и от 57,2 до 68,4 %

у семян нормальной селекционной категории (табл. 2).

Обращают на себя внимание более низкие значения количества полиморфных локусов по сравнению с данными, полученными ранее с использованием аналогичных ISSR-праймеров для ЛСП и насаждений из тех же географических районов, для которых значения этого параметра находились в пределах от 77,2 до 91,2 % [16]. При использовании другого набора ISSR-праймеров для изучения генетического разнообразия популяций сосны обыкновенной установлено, что процент полиморфных локусов для разных популяций может варьироваться от 27 до 78 [21, 23, 24]. В целом для всех семян 97,7 % ISSR-локусов относятся к полиморфным, отдельно по селекционным категориям данный показатель составил 94,4 % и 94,9 %.

Таблица 1

Характеристика использованных ISSR-праймеров

ISSR-праймер	Нуклеотидная последовательность праймеров	Количество локусов		Процент полиморфных локусов	Размеры ПЦР-фрагментов, п.н.
		всего	в т.ч. полиморфных		
(CA) <sub>6</sub> AGCT	CACACACACACAAGCT	39	39	100,0	200 – 2300
(CA) <sub>6</sub> AG	CACACACACACAAGG	41	40	97,6	200 – 2550
(CA) <sub>6</sub> GT	CACACACACACAGT	35	34	97,2	210 – 2200
(CA) <sub>6</sub> AC	CACACACACACAAC	37	36	97,3	210 – 2500
(AG) <sub>8</sub> T	AGAGAGAGAGAGAGAGT	24	23	95,8	210 – 1340
(AG) <sub>8</sub> GCT	AGAGAGAGAGAGAGAGGCT	39	39	100,0	210 – 2790
Всего		215	210	97,7	200 – 2790

*Собственные экспериментальные данные*

Таблица 2

Показатели генетического полиморфизма семян сосны обыкновенной

Источник семян	Процент полиморфных локусов, P	Число аллелей на локус, N <sub>a</sub>	Эффективное число аллелей, N <sub>e</sub>	Ожидаемая гетерозиготность, H <sub>e</sub>
Улучшенные семена				
ЛСП ПО	72,6	1,73	1,26	0,17
ЛСП 1 ЧР	56,3	1,56	1,32	0,19
ЛСП 2 ЧР	64,2	1,64	1,38	0,23
ЛСП РМЭ	59,5	1,59	1,28	0,17
Для всех ЛСП	94,9	1,95	1,39	0,25
Нормальные семена				
ПЛСУ ПО	72,6	1,68	1,25	0,17
ПЛСУ ЧР	61,4	1,61	1,33	0,19
ПЛСУ РМЭ	57,2	1,57	1,26	0,16
Для всех ПЛСУ	94,4	1,94	1,34	0,22
Для всех семян	97,7	1,98	1,38	0,24

*Собственные вычисления в программе PopGene*

Для разных партий семян показатели генетического разнообразия изменялись в следующих пределах: число аллелей на локус от 1,56 до 1,73; эффективное число аллелей от 1,25 до 1,38; ожидаемая гетерозиготность от 0,16 до 0,23. Наибольшим аллельным разнообразием характеризуются семена с ЛСП и ПЛСУ из Пензенской области, для которых отмечены наибольшие значения числа аллелей на локус. Самые высокие значения эффективного числа аллелей и ожидаемой гетерозиготности были установлены для улучшенных семян с 2 поля ЛСП из Ибресинского лесничества Чувашской Республики. Более низким аллельным разнообразием характеризуются улучшенные семена, полученные с 1 поля ЛСП Ибресинского лесничества Чувашской Республики, и нормальные семена, заготовленные на ПЛСУ Сернурского лесничества РМЭ. Самый низкий уровень ожидаемой гетерозиготности обнаружен также у семян с ПЛСУ Сернурского лесничества РМЭ.

Какой-либо зависимости уровня генетической изменчивости семян от их селекционной категории не прослеживается, так как и среди улучшенных, и среди нормальных семян встречаются партии с относительно высокими и относительно низкими значениями показателей генетического разнообразия. Данный вывод вполне прогнозируем, исходя из предположения, что ISSR-маркеры являются селективно нейтральными и селекционный отбор плюсовых деревьев не должен приводить к снижению показателей генетического разнообразия. Можно предположить, что уровень генетического разнообразия обусловлен, прежде всего, не селекционным происхождением, а индивидуальными генетическими особенностями деревьев, участвующих в образовании пула семян. Генетическое разнообразие партий семян также зависит от размера родительской популяции, баланса по репродуктивной вкладу родителей, степени родства родителей и уровня инбридинга [26].

Значения обобщенных показателей генетического разнообразия для улучшенных семян оказались немного выше, чем для нормальных: так,

число аллелей на локус составило 1,95 против 1,94; эффективное число аллелей 1,39 против 1,34; ожидаемая гетерозиготность 0,25 против 0,22. Ранее для ЛСП из Республики Марий Эл, Чувашской Республики и Пензенской области также были установлены более высокие значения показателей разнообразия по сравнению с насаждениями из тех же субъектов РФ: эффективное число аллелей 1,43 для ЛСП и 1,39 для насаждений; ожидаемая гетерозиготность 0,27 для ЛСП и 0,25 для насаждений [16].

Наиболее генетически близкими являются улучшенные и нормальные семена из Пензенской области (ЛСП ПО и ПЛСУ ПО), генетическая дистанция Нея между данными партиями семян составила 0,027. Наибольшая генетическая дистанция Нея, равная 0,113, выявлена между двумя парами семян: 1) улучшенные семена с 1 поля Ибресинского лесничества Чувашской Республики (ЛСП 1 ЧР) и улучшенные семена из Республики Марий Эл (ЛСП РМЭ); 2) нормальные и улучшенные семена из Республики Марий Эл (ПЛСУ РМЭ и ЛСП РМЭ). Дендрограмма генетического взаимоотношения показывает, что отдельный кластер составили улучшенные семена с 1 поля ЛСП Ибресинского лесничества Чувашской Республики (ЛСП 1 поле ЧР) и нормальные семена с ПЛСУ Сернурского лесничества Республики Марий Эл (ПЛСУ РМЭ) с генетической дистанцией Нея между ними 0,077. Следовательно, эти партии семян характеризуются близкой генетической структурой. Все остальные партии семян вошли во второй большой кластер, генетическая дистанция Нея между партиями семян этого кластера варьировала от 0,27 до 0,99.

Улучшенные и нормальные семена из Пензенской области, Чувашской Республики и Республики Марий Эл характеризуются большей генетической дифференциацией по сравнению с лесосеменными плантациями и насаждениями из тех же географических районов. Во всех трех географических районах генетическая дистанция Нея, установленная между улучшенными и нормальными семенами, оказалась больше, чем генетическая дистанция между ЛСП и насаждениями (табл. 3).

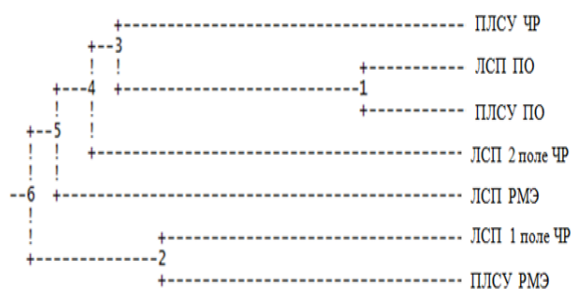


Рис. 1. Дендрограмма, иллюстрирующая генетическое взаимоотношения между партиями семян сосны обыкновенной

*Дендрограмма, построенная на собственных экспериментальных данных в программе PopGene*

Таблица 3

Показатели генетической дифференциации семян сосны обыкновенной разных селекционных категорий

Географическое происхождение семян	Генетическая дистанция Нея	
	улучшенные и нормальные семена	ЛСП и насаждения*
Пензенская область	0,027	0,011
Чувашская Республика	0,085-0,109	0,038
Республика Марий Эл	0,133	0,065
Показатель генетической подразделенности выборок, Gst	0,250	0,127

\* Данные Т.Н Криворотовой и О.В. Шейкиной [16]

*Собственные данные*

Показатель генетической подразделённости также свидетельствует о том, что семена имеют большую долю генетического разнообразия, приходящегося на изменчивость между партиями семян, чем выборки деревьев из насаждений и ЛСП (0,250 против 0,127). Значение генетической подразделенности выборок показывает, что большая часть генетического разнообразия сосредоточена внутри партий семян (75 %), в то

время как на изменчивость между партиями семян приходится 25 %. Для сосны обыкновенной с использованием разных видов молекулярных маркеров ранее также были установлены большие значения внутривидовой компоненты генетического разнообразия по сравнению с межвидовой [16, 21, 22, 24].

**Заключение**

Мировые исследования показали, что искусственное восстановление лесов может приводить как к увеличению, так и к снижению уровня генетического разнообразия новых насаждений [1]. Каким будет генетическое разнообразие наших будущих искусственных лесов, в большой степени зависит от генетической изменчивости репродуктивного материала, использованного при лесовосстановлении. В нашей работе показано, что уровень генетического разнообразия не зависит от селекционной категории семян, а обусловлен, прежде всего, индивидуальными особенностями участвующих в формировании урожая родительских деревьев. Улучшенные семена, полученные на лесосеменных плантациях, могут характеризоваться даже более высоким уровнем генетического разнообразия по сравнению с семенами нормальной селекционной категории. Необходимо на научной основе подходить к проектированию лесосеменных плантаций, обеспечивающих не только получение семян с хорошими наследственными и посевными качествами, но и сохранение генетического разнообразия.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках выполнения базовой части государственного задания высшим учебным заведениям и научным организациям в сфере научной деятельности (з/б НИР 37.8531.2017)*

### Библиографический список

1. Genetic diversity and forest reproductive material - from seed source selection to planting / V. Ivetić, J. Devetaković, M. Nonić, D. Stanković, M. Šijačić-Nikolić // *iForest*. – 2016. – № 9. – P. 801–812. – doi: 10.3832/ifor1577-009 (Accessed 13 June 2016).
2. Sweet, G. B. Seed orchards in development / G. B. Sweet // *Tree Physiology*. – 1995. – № 15. – P. 527–530. – doi:10.1093/treephys/15.7-8.527.
3. Boyle, T. J. B. Biodiversity of Canadian forests: current status and future challenges / T. J. B. Boyle // *The Forestry Chronicle*. – 1991. – Vol. 68. – № 4. – P. 444–453.
4. Concept for the conservation of forest resources in the Federal Republic of Germany / A. Behm, A. Becker, H. Dorflinger, A. Franke // *Silvae genetic*. – 1997. – Vol. 46. – № 1. – P. 24–34.
5. Шейкина, О. В. Моделирование показателей генетического разнообразия в зависимости от количества плюсовых деревьев сосны обыкновенной / О.В. Шейкина, Ю.Ф. Гладков // *Вестник Поволжского государственного технологического университета*. Сер.: Лес. Экология. Природопользование. – 2018. – № 1 (37). – С. 33–44. – doi:10.15350/2306-2827.2018.1.33.
6. Ledig, F. T. The conservation of diversity in forest trees / F. T. Ledig // *Bioscience*. – 1988. – № 38. – P. 471–479.
7. Genetic diversity and the survival of populations / G. Booy, R. J. J. Hendriks, M. J. M. Smulders, J. M. Van Groenendael, B. Vosman // *Plant biology*. – 2000. – № 2. – P. 379–395.
8. Ivetić, V. Concerns and evidence on genetic diversity in planted forests / V. Ivetić, J. Devetaković // *Reforesta*. – 2017. – № 3. – P. 196–207. – doi: 10.21750/R.
9. Stoehr, M. U. Levels of genetic diversity at different stages of the domestication cycle of interior spruce in British Columbia / M. U. Stoehr, Y. A. El-Kassaby // *Theoretical and Applied Genetic*. – 1997. – № 94. – P. 83–90.
10. El-Kassaby, Y. A. Impact of selection and breeding on the genetic diversity in Douglas-fir / Y. A. El-Kassaby, K. Ritland // *Biodiversity and Conservation*. – 1996. – Vol. 5. – № 6. – P. 795–813. – doi: 10.1007/BF00051787.
11. Comparisons of genetic diversity in white spruce (*Picea glauca*) and jack pine (*Pinus banksiana*) seed orchards with natural populations / M. J. W. Godt, J. L. Hamrick, M. A. Burke, J. H. Williams // *Canadian Journal of Forest Research*. – 2001. – Vol. 31. – № 6. – P. 943–949. – doi: 10.1139/x01-024.
12. Степанова, Е. М. Аллельное и генотипическое разнообразие в природных и искусственных насаждениях сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*) / Е. М. Степанова, Г. Г. Гончаренко // *Молодой ученый*. – 2009. – № 12. – С. 122–124. – URL: <https://moluch.ru/archive/12/1000/>.
13. El-Kassaby, Y. A. Domestication and genetic diversity: should we be concerned? / Y. A. El-Kassaby // *The Forestry Chronicle*. – 1992. – Vol. 68. – № 6. – P. 687–700. – doi: 10.5558/tfc68687-6.
14. Dzialuk, A. Comparison of genetic diversity of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) from qualified seed – tree stand and clonal seed orchard / A. Dzialuk, J. Burczyk // *Ecological Questions*. – 2002. – № 2. – P. 89–94.
15. Wasielewska, M. Genetic diversity and mating system of Scots pine plus trees / M. Wasielewska, M. Klemm, J. Burczyk // *Dendrobiology*. – 2005. – № 53. – P. 57–62.
16. Криворотова, Т. Н. Генетическая структура лесосеменных плантаций и насаждений сосны обыкновенной в Среднем Поволжье / Т. Н. Криворотова, О. В. Шейкина // *Вестник Поволжского государственного технологического университета*. Сер.: Лес. Экология. Природопользование. – 2014. – № 1. – С. 77–86.
17. Ilinov, A. Comparative Evaluation of the Genetic Diversity of Natural Populations and Clonal Seed Orchards of *Pinus sylvestris* L. and *Picea × fennica* (Regel) Kom. in Karelia / A. Ilinov, B. V. Raevsky // *Russian Journal of Genetics: Applied Research*. – 2017. – Vol. 7. – № 6. – P. 607–616. – doi: 10.1134/S2079059717060065.

18. Милютина, Т. Н. Молекулярно-генетические исследования изменчивости клонов плюсовых деревьев *Pinus sylvestris* по ISSR-маркерам / Т. Н. Милютина, О.В. Шейкина, П.С. Новиков // Хвойные бореальной зоны. – 2013. – № 1-2. – Т. XXXI. – С. 102–105.
19. Xu, Y. M. Genetic diversity and structure analysis of masson pine clonal seed orchard / Y. M. Xu, A. Wan, L. Guan // *International Journal of Environmental & Agriculture Research*. – 2016. – Vol. 2. – № 7. – P. 95–100.
20. Вдовиченко, Л. Д. Генетическая паспортизация сортов пшеницы с использованием ISSR-PCR маркеров / Л. Д. Вдовиченко, В. И. Глазко // *Сельскохозяйственная биология*. – 2007. – № 3. – С. 33–37.
21. Genetic variation and division of *Pinus sylvestris* provenances by ISSR markers / H. Li, J. Jiang, G. Liu [et al.] // *Journal of Forest Research*. – 2005. – Vol. 16. – № 3. – P. 216–218.
22. Генетическая изменчивость, структура и дифференциация популяций сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) на северо-востоке Русской равнины по данным молекулярно-генетического анализа / А. И. Видякин, С. В. Боронникова, Ю. С. Нечаева [и др.] // *Генетика*. – 2015. – Т. 51. – № 12. – С. 1401–1409. doi: 10.7868/S0016675815120139.
23. Молекулярно-генетический анализ четырех популяций *Pinus sylvestris* L. на востоке Русской равнины / Я. В. Пришневская, Ю. С. Нечаева, В. П. Красильников, С. В. Боронникова // *Вестник Оренбургского государственного университета*. – 2016. – № 2 (190). – С. 88–93.
24. Внутривидовое генетическое разнообразие популяций двух видов древесных растений Пермского края / Я.В. Пришневская, Е.С. Насонова, Н.В. Чертов [и др.] // *Бюллетень науки и практики*. – 2019. – Т. 5. – № 4. – С. 58–68. – doi: 10.33619/2414-2948/41/06.
25. Doyle, J. J. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue / J. J. Doyle, J. L. Doyle // *Phytochemical Bulletin*. – 1991. – № 19. – P. 11–15.
26. Optimization of genetic gain and diversity in seed orchard crops considering variation in seed germination / T. Funda, M. Lstiburek, J. Klápšte, Y. A. El-Kassaby // *Scandinavian Journal of Forest Research*. – 2012. – Vol. 27. – № 8. – P. 787–793. – doi: 10.1080/02827581.2012.686627.

### References

1. Ivetić V., Devetaković J., Nonić M., Stanković D., Šijačić-Nikolić M. Genetic diversity and forest reproductive material - from seed source selection to planting. *iForest*, 2016, no. 9, pp. 801-812. doi: 10.3832/ifor1577-009.
2. Sweet G.B. Seed orchards in development. *Tree Physiology*, 1995, no. 15, pp. 527-530. doi: 10.1093/treephys/15.7-8.527.
3. Boyle T.J.B. Biodiversity of Canadian forests: current status and future challenges. *The Forestry Chronicle*, 1991, vol. 68, no. 4, pp. 444-453.
4. Behm A., Becker A., Dorflinger H., Franke A. Concept for the conservation of forest resources in the Federal Republic of Germany. *Silvae genetica*, 1997, vol. 46, no. 1, pp. 24-34.
5. Sheikina O.V., Gladkov Yu.F. *Modelirovanie pokazateley geneticheskogo raznoobraziya v zavisimosti ot kolichestva plyu-sovykh derev'ev sosny obyknovennoy* [Simulation of the indices of genetic diversity depending on the number of plus trees of scots pine]. *Vestnik Povolzhskogo gosudarstvennogo tekhnologicheskogo univertsiteta. Ser.: Les. Ekologiya. Prirodopol'zovanie* [Vestnik of Volga State University of Technology. Ser.: Forest. Ecology. Nature Management], 2018, no. 1 (37), pp. 33-44 (in Russian). doi:10.15350/2306-2827.2018.1.33.
6. Ledig F.T. The conservation of diversity in forest trees. *Bioscience*, 1988, no. 38, pp. 471-479.
7. Booy G., Hendriks R. J. J., Smulders M. J. M., Van Groenendael J. M., Vosman B. Genetic diversity and the survival of populations. *Plant biology*, 2000, no. 2, pp. 379-395.
8. Ivetić V., Devetaković J. Concerns and evidence on genetic diversity in planted forests. *Reforesta*, 2017, no. 3, pp. 196-207. doi:https://dx.doi.org/10.21750/R.



9. Stoehr M.U., El-Kassaby Y.A. Levels of genetic diversity at different stages of the domestication cycle of interior spruce in British Columbia. *Theoretical and Applied Genetic*, 1997, no. 94, pp. 83-90.
10. El-Kassaby Y.A., Ritland K. Impact of selection and breeding on the genetic diversity in Douglas-fir. *Biodiversity and Conservation*, 1996, vol. 5, no. 6, pp. 795-813. doi:10.1007/BF00051787.
11. Godt M.J.W., Hamrick J.L., Burke M.A., Williams J.H. Comparisons of genetic diversity in white spruce (*Picea glauca*) and jack pine (*Pinus banksiana*) seed orchards with natural populations. *Journal of Forest Research*, 2001, vol. 31, no. 6, pp. 943-949. doi: 10.1139/x01-024.
12. Stepanova E.M., Goncharenko G.G. *Allel'noe i genotipicheskoe raznoobrazie v prirodnykh i isskustvennykh nasazhdeniyakh sosny obyknovennoy (Pinus sylvestris)* [Allelic and genotypic diversity in natural and artificial plantations of Scots pine (*Pinus sylvestris*)] *Molodoy uchenyy* [Young scientist], 2009, no. 12, pp. 122-124 (in Russian). URL: <https://moluch.ru/archive/12/1000/> (Accessed 13 June 2016).
13. El-Kassaby Y.A. Domestication and genetic diversity: should we be concerned? *The Forestry Chronicle*, 1992, vol. 68, no. 6, pp. 687-700. doi:10.5558/tfc68687-6.
14. Dzialuk A., Burczyk J. Comparison of genetic diversity of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) from qualified seed – tree stand and clonal seed orchard. *Ecological Questions*, 2002, no. 2, pp. 89-94.
15. Wasielewska M., Klemm M., Burczyk J. Genetic diversity and mating system of Scots pine plus trees. *Dendrobiology*, 2005, no. 53, pp. 57-62.
16. Krivorotova T.N., Sheikina O.V. *Geneticheskaya struktura lesosemennykh plantatsiy i nasazhdeniy sosny obyknovennoy v Srednem Povolzh'e* [Genetic structure of seed orchards and natural stands of *Pinus sylvestris* in the Middle Volga Region]. *Vestnik Povolzhskogo gosudarstvennogo tekhnologicheskogo univepsiteta. Ser.: Les. Ekologiya. Prirodopol'zovanie*. [Vestnik of Volga State University of Technology. Ser.: Forest. Ecology. Nature Management], 2014, no. 1, pp. 77-86 (in Russian).
17. Ilinov A., Raevsky B.V. Comparative Evaluation of the Genetic Diversity of Natural Populations and Clonal Seed Orchards of *Pinus sylvestris* L. and *Picea × fennica* (Regel) Kom. in Karelia. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*, 2017, vol. 7, no. 6, pp. 607-616. doi:10.1134/S2079059717060065.
18. Milyutina T.N., Sheykina O.V., Novikov P.S. *Molekulyarno-geneticheskie issledovaniya izmenchivosti klonov plusovykh derev'ev Pinus sylvestris po ISSR-markeram* [The molecular genetic studies of variability of *Pinus sylvestris* plus trees clones by ISSR-markers]. *Khvoynye boreal'noy zony* [Conifers of the boreal zone], 2013, vol. 32, no. 1-2, pp. 102-105 (in Russian).
19. Xu Y.M., Wan A., Guan L. Genetic diversity and structure analysis of masson pine clonal seed orchard. *International Journal of Environmental & Agriculture Research*, 2016, vol. 2, no. 7, pp. 95-100.
20. Vdovichenko L.D., Glazko V.I. *Geneticheskaya pasportizatsiya sortov pshenitsy s ispol'zovaniem ISSR-PCR markerov* [ISSR-PCR markers in wheat variety passportization]. *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya* [Agricultural Biology], 2007, no. 3, pp. 33-37 (in Russian).
21. Li H., Jiang J., Liu G., Ma X., Dong J., Lin S. Genetic variation and division of *Pinus sylvestris* provenances by ISSR markers. *Journal of Forest Research*, 2005, vol. 16, no. 3, pp. 216-218.
22. Vidyakin A.I., Boronnikova S.V., Nechayeva Y.S., Pryshnivskaya Y.V., Boboshina I.V. Genetic variation, population structure, and differentiation in scots pine (*Pinus sylvestris* L.) from the northeast of the Russian Plain as inferred from the molecular genetic analysis data. *Russian Journal of Genetic*, 2015, vol. 51 (12), pp. 1213-1220 (in Russian). doi:10.1134/S1022795415120133.
23. Prishnivskaya Ya.V., Nechaeva Yu.S., Krasil'nikov V.P., Boronnikova S.V. *Molekulyarno-geneticheskiy analiz chetyrekh populyatsiy Pinus sylvestris L. na vostoке Russkoy Ravniny* [Molecular genetic analysis of four *Pinus sylvestris* L. populations in the east of the Russian Plain]. *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta* [Vestnik of the Orenburg State University], 2016, no. 2 (190), pp. 88-93 (in Russian).
24. Prishnivskaya Ya.V., Nasonova E.S., Chertov N.V., Zhulanov A.A., Vasil'eva Yu.S., Boronnikova S.V., Kalendar' R.N. *Vnutrividovoe geneticheskoe raznoobrazie populyatsiy dvukh vidov drevesnykh rasteniy Permskogo*

*kraya* [Genetic diversity within species of two species woody plants populations in Perm Krai]. *Byulleten' nauki i praktiki* [Bulletin of Science and Practice], 2019, vol. 5, no. 4, pp. 58-68 (in Russian). doi: 10.33619/2414-2948/41/06.

25. Doyle J.J., Doyle J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 1991, no. 19, pp. 11-15.

26. Funda T., Lstiburek M., Klápšte J., El-Kassaby Y.A. Optimization of genetic gain and diversity in seed orchard crops considering variation in seed germination. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 2012, vol. 27, no. 8, pp. 787-793. doi:10.1080/02827581.2012.686627.

### Сведения об авторах

*Шейкина Ольга Викторовна* – кандидат сельскохозяйственных наук, доцент, доцент кафедры лесных культур, селекции и биотехнологии ФГБОУ ВО «Поволжский государственный технологический университет», г. Йошкар-Ола, Российская Федерация; e-mail: ShejkinaOV@volgatech.net.

*Криворотова Татьяна Николаевна* – кандидат сельскохозяйственных наук, старший преподаватель кафедры лесных культур, селекции и биотехнологии ФГБОУ ВО «Поволжский государственный технологический университет», г. Йошкар-Ола, Российская Федерация; e-mail: Milutina\_tanja@mail.ru.

*Гладков Юрий Федорович* – начальник отдела защиты леса и государственного лесопатологического мониторинга Филиала ФБУ «Российский центр защиты леса» – «Центр защиты леса Республики Марий Эл», г. Йошкар-Ола, Российская Федерация; e-mail: gladkov-yuriy@yandex.ru.

### Information about authors

*Sheikina Olga Viktorovna* – PhD (Agriculture), Associate Professor of Artificial crops, Selection and Biotechnology department, FSBEI HE "Volga State University of Technology", Yoshkar-Ola, Russian Federation; e-mail: ShejkinaOV@volgatech.net.

*Krivorotova Tatiana Nikolaevna* – PhD (Agriculture), Senior Lecturer of Artificial crops, Selection and Biotechnology department, FSBEI HE "Volga State University of Technology", Yoshkar-Ola, Russian Federation; e-mail: Milutina\_tanja@mail.ru.

*Gladkov Yuriy Fedorovich* – Head of the Department of Forest Protection and State Forest Health Monitoring, Branch of FBI "Russian Office of Forest Protection" – "Office of Forest Protection in the Republic of Mari El", Yoshkar-Ola, Russian Federation; e-mail: gladkov-yuriy@yandex.ru.