

УДК 630*232.311.3 (575.22)
DOI: 10.15350/2306-2827.2018.1.33

МОДЕЛИРОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КОЛИЧЕСТВА ПЛЮСОВЫХ ДЕРЕВЬЕВ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ

О. В. Шейкина¹, Ю. Ф. Гладков²

¹Поволжский государственный технологический университет,
Российская Федерация, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 3

²Филиал ФБУ «Российский центр защиты леса» - «Центр защиты леса Республики Марий Эл»,
Российская Федерация, 424000, Йошкар-Ола, ул. Комсомольска, 83
E-mail: ShejkinaOV@volgatech.net

С использованием двух типов ДНК-маркеров изучено влияние количества плюсовых деревьев на показатели генетического разнообразия выборки. Показано, что снижение количества плюсовых деревьев приводит к уменьшению числа обнаруженных ПЦР-фрагментов и микросателлитных аллелей. При использовании 50-ти плюсовых деревьев наблюдается потеря 1,01 % ПЦР-фрагментов, полученных с использованием ISSR-праймеров, и 7,8 % аллелей, выявленных у пяти SSR-локусов. На гетерозиготность и коэффициент инбридинга изменение количества деревьев оказывает слабое влияние. Для 50-ти плюсовых деревьев наблюдалось сохранение значений данных показателей на уровне, выявленном для максимального размера выборки.

Ключевые слова: *Pinus sylvestris; плюсовые деревья; ISSR-маркеры; SSR-маркеры; генетическое разнообразие.*

Введение. Уровень генетической изменчивости является одним из факторов адаптационной способности и экологический пластичности популяций [1]. Поэтому, несмотря на то, что в селекционных программах главным является получение селекционного эффекта, нельзя не обращать внимание на уровень генетического разнообразия лесосеменных плантаций [2]. Использование ограниченного количества генотипов в селекционных программах является основной причиной потери генетического разнообразия [3, 4]. По мнению ряда исследователей, главным риском использования небольшого количества плюсовых деревьев при создании лесосеменных плантаций является потеря редких вариантов аллелей [5–8]. Снижение аллельного разнообразия на лесосеменных плантациях по сравнению с природными популяциями было выявлено для ели белой [5],

ели канадской и сосны Банкса [7], пихты белой и лиственницы Кемпфера [8], сосны обыкновенной [9], дуба черешчатого [10], ели финской [11]. Однако необходимо отметить, что в ряде других работ приведены данные, свидетельствующие о более высоком аллельном разнообразии на ЛСП по сравнению с альтернативными источниками семян [12–14].

Наряду с изучением аллельного разнообразия для оценки уровня генетической изменчивости используется показатель гетерозиготность. В литературе также встречаются противоречивые сведения, полученные в результате сравнительных исследований лесосеменных плантаций и природных насаждений по данному генетическому параметру. В ряде работ говорится о том, что отбор по фенотипу не вызывает существенного снижения гетерозиготности и созданные потомством

© Шейкина О. В., Гладков Ю. Ф., 2018.

Для цитирования: Шейкина О. В., Гладков Ю. Ф. Моделирование показателей генетического разнообразия в зависимости от количества плюсовых деревьев сосны обыкновенной // Вестник Поволжского государственного технологического университета. Сер.: Лес. Экология. Природопользование. 2018. № 1 (37). С. 33–44. DOI: 10.15350/2306-2827.2018.1.33

плюсовых деревьев ЛСП имеют близкие или даже более высокие значения этого показателя [12, 15–18]. Другие работы, наоборот, содержат экспериментальные данные, свидетельствующие о более низком уровне гетерозиготности на лесосеменных плантациях по сравнению с природными насаждениями [9, 20]. На основе изоферментного анализа в Беларуси было установлено, что 71,5 % ЛСП сосны обыкновенной имеют значение средней гетерозиготности выше или равное природным популяциям, в то время как 28,5 % лесосеменных плантаций имеют более низкий уровень изменчивости, чем данный вид на территории республики [21, 22].

Таким образом, результаты проведённых ранее исследований говорят о том, что существующие лесосеменные плантации могут характеризоваться как высокими, так и низкими значениями показателей генетического разнообразия. Неоднозначность результатов указывает на сложность процесса формирования генетического полиморфизма лесосеменных плантаций и зависимость значений генетических параметров от множества факторов, главными из которых, безусловно, являются количество плюсовых деревьев и их индивидуальные генетические характеристики. Поэтому для успешного решения проблемы сохранения генофонда ценных древесных видов при организации лесного семеноводства на принципах плюсовой селекции необходимы знания о факторах, влияющих на показатели генетического разнообразия лесосеменных плантаций. Одним из таких факторов является дрейф генов, проявляющийся в случайном и ненаправленном изменении частот аллелей, вызванном сокращением размера популяций.

В соответствии с приказом Министерства природных ресурсов и экологии Российской Федерации № 438 от 20 октября 2015 года «Правила создания и выделения объектов лесного семеноводства (лесосеменных плантаций, постоянных лесосеменных участков и подобных объ-

ектов)» на лесосеменных плантациях первого порядка должно быть представлено потомство не менее 50 плюсовых деревьев. Для оценки действия дрейфа генов на генетическую структуру ЛСП 1 порядка необходимы исследования по изучению влияния сокращения количества плюсовых деревьев на показатели генетического разнообразия и выявлению уровня генетической изменчивости, характерного для минимального количества плюсовых деревьев (50 штук).

Цель работы – оценка зависимости показателей генетического разнообразия от количества генотипов сосны обыкновенной и выявление степени снижения генетического полиморфизма лесосеменных плантаций при использовании минимального количества потомств плюсовых деревьев.

Для достижения цели решались следующие **задачи**: 1) определить показатели генетического разнообразия для 66 плюсовых деревьев сосны обыкновенной с использованием ISSR-маркеров и для 63 клонов плюсовых деревьев с использованием SSR-маркеров; 2) выполнить математическое моделирование изменения значений показателей генетического разнообразия при разных количествах плюсовых деревьев; 3) определить значения показателей генетического разнообразия, характерные для минимального количества плюсовых деревьев, которое необходимо использовать при создании ЛСП; 4) дать оценку степени снижения генетического разнообразия при использовании 50-ти плюсовых деревьев по сравнению с максимальным размером выборки.

Объекты и методика исследований. Объектом исследования являлись плюсовые деревья сосны обыкновенной и их вегетативные потомства. Для оценки влияния количества плюсовых деревьев на показатели генетического разнообразия с использованием ISSR-маркеров было использовано 66 плюсовых деревьев из Зеленодольского лесничества Республики

Татарстан. Изучение зависимости генетических показателей от количества генотипов с помощью SSR-маркеров проводилось на основе анализа вегетативных потомств 63 плюсовых деревьев, произрастающих на лесосеменной плантации Чадаевского лесничества Пензенской области. Для выделения ДНК использовалась хвоя.

ISSR-анализ проводился с использованием шести праймеров (CA)₆AGCT, (CA)₆AG, (CA)₆GT, (CA)₆AC, (AG)₈T, (AG)₈GCT. Методика выполнения полимеразной цепной реакции (ПЦР), детекции и интерпретации результатов описаны ранее [14]. Микросателлитный анализ (SSR-анализ) проводился с праймерами к микросателлитным локусам Spac7,14, Lop1, Lop3, PtTX2146 и PtTX3107 (табл. 1). Для амплификации микросателлитных локусов использовался следующий состав ПЦР смеси: 1,5 мкл – буфер для ПЦР, 0,3 мкл – dNTPs, 0,3 мкл – Taq-полимераза, по 0,2 мкл прямого и обратного праймера, 11,5 мкл – стерильная вода для ПЦП, 1,0 мкл – геномная ДНК. Режим ПЦР был подобран экспериментальным путём и различался для разных микросателлитных локусов. Режим ПЦР для локу-

сов Spac14,7, PtTX2106, Lop1 и Lop3: первоначальная денатурация в течение 15 мин. при температуре 94 °С; 35 циклов – денатурация в течение 1 мин. при 94 °С, отжиг праймеров в течение 1 мин. при 55 °С для локуса Spac14,7, при 62 °С для локуса PtTX2106, при 61 °С для локуса Lop1 и при 58 °С для локуса Lop3 и элонгация в течение 1 мин. при 72 °С; финишная элонгация в течение 20 мин. при 72 °С, охлаждение ПЦР смеси в течение 15 мин. при 4 °С. Режим ПЦР для локуса PtTX3107: первоначальная денатурация в течение 15 мин. при температуре 94 °С; 9 циклов – денатурация в течение 1 мин. при 94 °С, отжиг праймеров в течение 1 мин. при 60 °С минус 1 градус каждый цикл, элонгация в течение 1 мин. при 72 °С; 19 циклов – денатурация в течение 1 мин. при 94 °С, отжиг праймеров в течение 1 мин. при 50 °С, элонгация в течение 1 мин. при 72 °С; финишная элонгация в течение 20 мин. при 72 °С, охлаждение ПЦР смеси в течение 15 мин. при 4 °С. Длина микросателлитных аллелей определялась с помощью капиллярного электрофореза с использованием ABI PRISM GeneticAnalyser 3100 и программы GeneMarker.

Таблица 1

Характеристика SSR-праймеров и результаты ПЦР-анализа микросателлитных локусов

Локус	Мотив повтора	Сиквенс прямого (F) и обратного (R) праймеров	Количество обнаруженных аллелей, шт.	Длина аллелей, п.н.
SPAC 7.14	(at) ₅ (gt) ₁₉	F: tcacaaaacacgtgattcaca R: gaaaatagccctgtgtgagaca	36	174-230
LOP1	(ta) ₁₀	F: ggctaattggccggccagtgtct R: gcgattacaggggtgcagcct	11	182-234
LOP3	(ta) ₉	F: gtctccagccagttcacctgc R: cagtggatctgtcacctctc	3	150-166
PtTX2146	(gct) ₄ gcc(gct) ₇ gcc (gct) ₈	F: cctggggattggattgggtatttg R: atatttccttgcccctccagaca	8	150-174
PtTX3107	(cat) ₁₄	F: aaacaagcccacatgtcaatc R: tcccctggatctgagga	8	209-232
Итого			66	

Расчёт параметров генетической изменчивости выполнялся в программе POPGENE 1.31 для ISSR-маркеров и в программе GenA1EX6 для SSR-маркеров. Для выявления влияния количества плюсовых деревьев на параметры генетического разнообразия было выполнено компьютерное моделирование показателей при разном количестве случайных сочетаний генотипов. При компьютерном моделировании расчёт показателей генетического разнообразия выполнялся в 10-ти кратной повторности для разного количества плюсовых деревьев, при этом выборка деревьев каждый раз представляла собой случайно отобранные генотипы. Для дальнейшего анализа рассчитывали среднее значение показателей для каждого размера выборки деревьев с использованием пакета статистического анализа Microsoft Excel.

Результаты исследований. Всего с использованием шести ISSR-праймеров у 66 плюсовых деревьев сосны обыкновенной из Зеленодольского лесничества Республики Татарстан было обнаружено 199 различных ПЦР-фрагментов (рис.1). Уменьшение объема выборки до десяти плюсовых деревьев привело к снижению количества обнаруженных ПЦР-фрагментов до 160, что свидетельствует о потере 39 амплифицированных фрагментов ДНК. Объём потерянных ДНК-фрагментов составил 19,6%. При размере выборки 50 плюсовых деревьев

наблюдалась потеря только двух редких ПЦР-фрагментов, что составляет 1,01% от всех обнаруженных ПЦР-фрагментов.

Для изученной выборки плюсовых деревьев сосны обыкновенной были установлены следующие показатели генетического разнообразия, оцениваемого по ISSR-маркерам: число аллелей на locus 1,98; число эффективных аллелей 1,39 и ожидаемая гетерозиготность 0,25 (табл. 2). Расчёты показали, что при снижении количества плюсовых деревьев с 66 до 40 все показатели генетического разнообразия сохраняли свои значения. Кроме того, число эффективных аллелей и ожидаемая гетерозиготность сохраняли свои первоначальные значения при сокращении выборки до 35 и 30 деревьев соответственно. При дальнейшем уменьшении количества плюсовых деревьев до 10 штук число эффективных аллелей снижается до 1,35, а ожидаемая гетерозиготность до 0,23.

В целом, по результатам исследования плюсовых деревьев сосны обыкновенной с помощью ISSR-маркеров, можно сделать вывод о том, что при использовании рекомендуемого нормативными документами минимального числа потомств плюсовых деревьев в размере 50 штук существенной угрозы потери генетического разнообразия нет, так как снижение показателей генетического разнообразия наблюдается при количестве плюсовых деревьев 40 и менее.

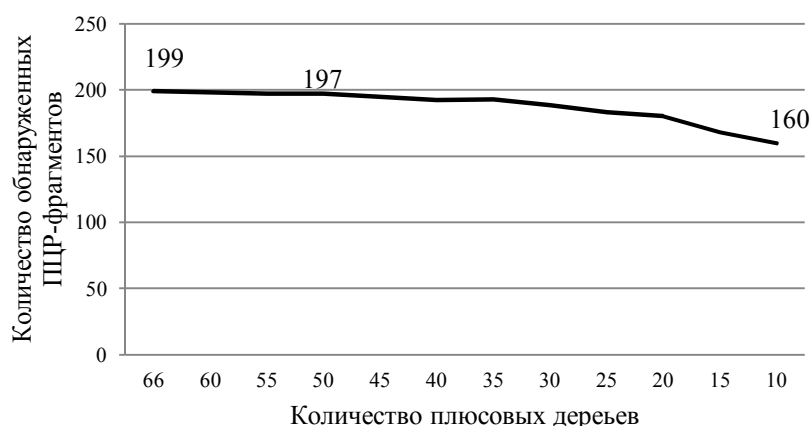


Рис. 1. Зависимость числа ПЦР-фрагментов, выявленных с использованием шести ISSR-праймеров, от количества клонов плюсовых деревьев

Таблица 2

Зависимость показателей генетического разнообразия, рассчитанных на основе ISSR-анализа, от количества плюсовых деревьев

Количество плюсовых деревьев	Число аллелей на локус, N_a	Число эффективных аллелей, N_e	Ожидаемая гетерозиготность, H_e
66	1,98±0,002	1,39±0,002	0,25±0,001
60	1,98±0,001	1,39±0,001	0,25±0,001
55	1,98±0,003	1,39±0,002	0,25±0,001
50	1,98±0,005	1,39±0,003	0,25±0,002
45	1,98±0,004	1,39±0,004	0,25±0,002
40	1,98±0,004	1,39±0,003	0,25±0,002
35	1,97±0,006	1,39±0,005	0,25±0,003
30	1,97±0,006	1,39±0,004	0,24±0,003
25	1,96±0,006	1,38±0,004	0,24±0,002
20	1,93±0,004	1,38±0,007	0,24±0,004
15	1,89±0,012	1,38±0,010	0,24±0,006
10	1,83±0,010	1,37±0,012	0,23±0,007

Анализ зависимости числа обнаруженных аллелей микросателлитных локусов от количества плюсовых деревьев показал существенное снижение данного показателя при уменьшении количества клонов (рис. 2). Так, у 63 клонов всего было обнаружено 66 аллелей, а при снижении количества деревьев до десяти число аллелей уменьшилось в два раза и составило 33. В случае, когда использовали минимальное количество клонов, рекомендуемое нормативными документами (50 клонов), наблюдалась потеря пяти редких аллелей и число аллелей составило 61. Размер потерянных аллелей составляет 7,8 %.

Нужно отметить, что наиболее выраженное снижение числа аллелей наблюдалось при количестве клонов менее 48–50 штук.

Расчётные значения показателей генетического разнообразия, основанные на SSR-анализе, в зависимости от количества плюсовых деревьев представлены в табл. 3. Наибольшее уменьшение значений наблюдается у показателей, непосредственно связанных с числом обнаруженных аллелей. Так, среднее число аллелей на локус снижается с 13,2 до 6,62, а эффективное число аллелей с 6,71 до 4,84 соответственно у выборок, включающих 63 и 10 клонов.

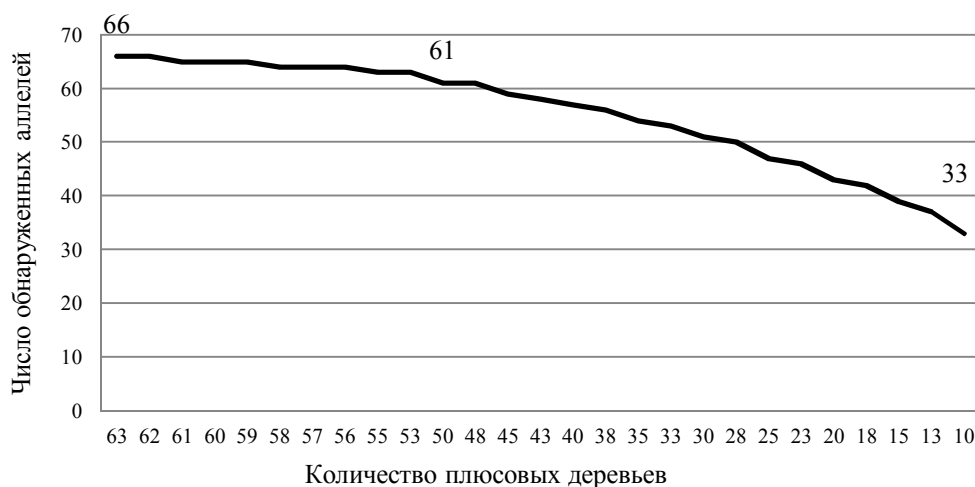


Рис. 2. Зависимость числа аллелей микросателлитных локусов от количества клонов плюсовых деревьев

Таблица 3

Зависимость показателей генетического разнообразия, рассчитанных на основе микросателлитного анализа, от количества клонов плюсовых деревьев

Количество клонов	Число аллелей на локус, Na	Число эффективных аллелей, Ne	Наблюдаемая гетерозиготность, Ho	Ожидаемая гетерозиготность, He	Коэффициент инбридинга, F
63	13,2	6,71	0,61	0,72	0,12
62	13,15±0,018	6,70±0,01	0,61±0,002	0,72±0,003	0,12±0,006
61	13,07±0,031	6,70±0,02	0,61±0,003	0,72±0,003	0,12±0,008
60	13,01±0,032	6,68±0,02	0,62±0,002	0,72±0,004	0,12±0,010
59	13,93±0,032	6,69±0,02	0,61±0,002	0,72±0,001	0,12±0,009
58	12,85±0,039	6,71±0,02	0,61±0,001	0,72±0,001	0,12±0,010
57	12,83±0,04	6,68±0,03	0,60±0,002	0,72±0,001	0,12±0,007
56	12,73±0,05	6,66±0,03	0,62±0,001	0,72±0,001	0,12±0,009
55	12,69±0,06	6,64±0,03	0,61±0,003	0,72±0,001	0,11±0,007
53	12,53±0,05	6,62±0,03	0,61±0,002	0,72±0,001	0,11±0,008
50	12,10±0,07	6,54±0,03	0,60±0,002	0,71±0,001	0,11±0,008
48	12,10±0,05	6,57±0,04	0,62±0,003	0,71±0,001	0,12±0,010
45	11,76±0,07	6,50±0,04	0,61±0,004	0,71±0,001	0,12±0,011
43	11,50±0,10	6,33±0,03	0,60±0,003	0,71±0,002	0,12±0,014
40	11,41±0,08	6,44±0,03	0,61±0,002	0,71±0,001	0,13±0,013
38	11,21±0,04	6,12±0,05	0,62±0,004	0,71±0,001	0,11±0,009
35	10,71±0,06	6,30±0,03	0,62±0,005	0,72±0,002	0,10±0,015
33	10,59±0,04	5,97±0,07	0,61±0,005	0,71±0,010	0,11±0,009
30	10,17±0,08	6,23±0,04	0,60±0,006	0,71±0,002	0,11±0,010
28	9,91±0,06	5,82±0,07	0,61±0,005	0,71±0,001	0,12±0,009
25	9,43±0,05	5,80±0,07	0,62±0,005	0,71±0,001	0,13±0,010
23	9,18±0,05	5,69±0,07	0,60±0,007	0,71±0,001	0,10±0,009
20	8,65±0,07	5,43±0,06	0,62±0,005	0,70±0,002	0,10±0,012
18	8,36±0,06	5,56±0,07	0,61±0,007	0,70±0,003	0,12±0,010
15	7,78±0,05	5,29±0,06	0,59±0,005	0,69±0,002	0,09±0,009
13	7,35±0,05	5,10±0,06	0,60±0,006	0,69±0,003	0,08±0,008
10	6,62±0,07	4,84±0,08	0,59±0,007	0,68±0,003	0,08±0,008

Снижение среднего числа аллелей на локус и эффективного числа аллелей для всех микросателлитных локусов происходит большей частью за счёт снижения данных показателей в высокополиморфном локусе Spac7,14. Так, например, у данного микросателлитного локуса эффективное число аллелей составило 17,6 для 63 клонов, 16,9 для 50 клонов и 10,6 для 10 клонов (рис. 3). У остальных менее переменных микросателлитных локусов эффективное число аллелей остаётся близким при разном количестве клонов плюсовых деревьев.

Показатели генетического разнообразия, обусловленные индивидуальными

генетическими особенностями клонов, такие как коэффициент инбридинга, наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность зависят от количества деревьев незначительно. Было установлено, что наблюдаемая гетерозиготность для всех микросателлитных локусов при разном количестве клонов варьирует в пределах 0,59 – 0,62; ожидаемая гетерозиготность в пределах 0,68 – 0,72; а коэффициент инбридинга в пределах 0,08 – 0,13. Положительное значение коэффициента инбридинга свидетельствует о некотором дефиците гетерозигот в изучаемой выборке клонов плюсовых деревьев сосны обыкновенной.

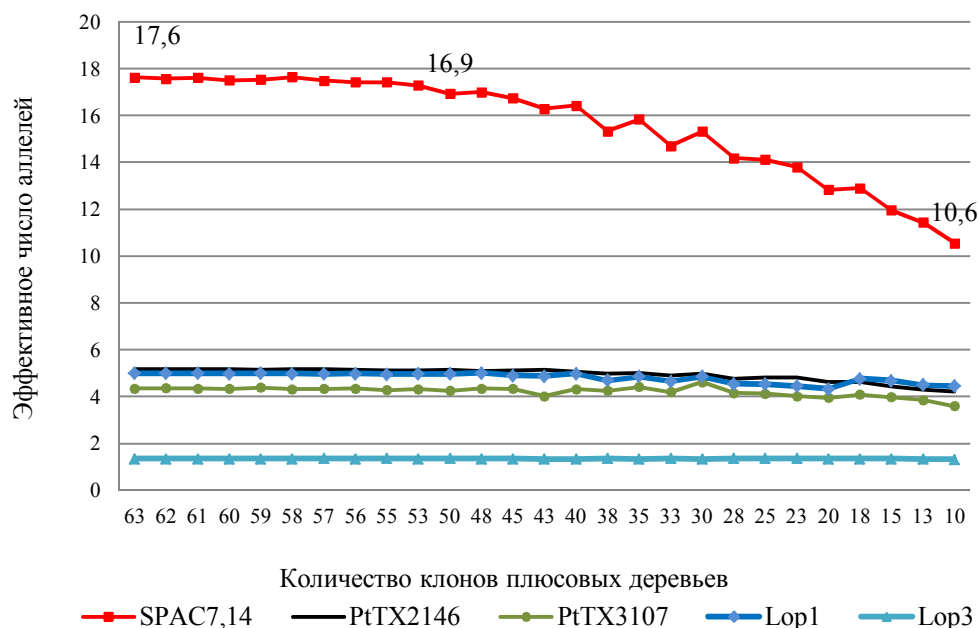


Рис. 3. Зависимость эффективного числа аллелей разных микросателлитных локусов от количества клонов плюсовых деревьев

Отсутствие влияния количества генотипов на значения коэффициента инбридинга, наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности наблюдалось как у высокополиморфного локуса Spac7,14, так и у менее изменчивых локусов Lop1, Lop3, PtTX2146 и PtTX3107. Так, например, пределы изменчивости коэффициента инбридинга при разных количествах плюсовых деревьев для локуса Spac7,14 составили 0,278–0,372, при этом максимальное значение наблюдалось при 40 клонах, а минимальное при 20 клонах (рис. 4). Для локуса Lop1 большой коэффициент инбридинга и, следовательно, максимальный дефицит гетерозигот наблюдался при 62 клонах (0,162), в то время как наименьшее значение данного параметра было установлено для 50 (0,084) и 45 (0,087) клонов.

В целом зафиксированные изменения показателей генетического разнообразия в зависимости от количества генотипов имеют сходную картину для обоих типов ДНК-маркеров. Установлено, что в первую очередь снижение количества

плюсовых деревьев приведёт к потере редких вариантов ПЦР-фрагментов в случае ISSR-маркеров и редких аллелей в случае SSR-маркеров. Даже при выполнении требований по минимальному количеству потомств плюсовых деревьев будет неизбежно наблюдаться некоторая потеря аллельного разнообразия. Так, снижение количества плюсовых деревьев с 63 до 50 приведёт к потере 7,8% аллелей микросателлитных локусов. Сокращение выборки с 66 до 50 плюсовых деревьев вызовет потерю 1,01% амплифицированных фрагментов ДНК, полученных с шестью ISSR-праймерами. Потеря редких вариантов ПЦР-фрагментов или аллелей микросателлитных локусов правомерно приводит к снижению таких показателей, как число аллелей на локус и эффективное число аллелей. Хотя нужно отметить, что в случае с ISSR-маркерами число аллелей на локус и эффективное число аллелей для 66 и для 50 плюсовых деревьев остаются одинаковыми, а снижение наблюдается только при выборке равной 35 и 25 генотипам соответственно.

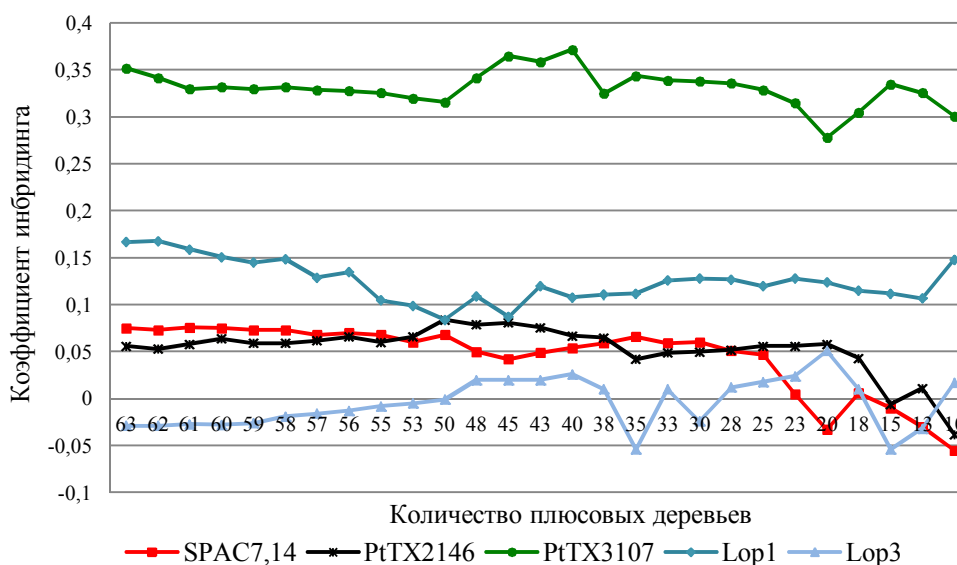


Рис. 4. Изменчивость коэффициента инбридинга в зависимости от количества клонов плюсовых деревьев

В ходе исследований не было установлено явно выраженного влияния количества генотипов на такие показатели генетического разнообразия, как гетерозиготность и коэффициент инбридинга. Это может быть объяснено тем, что данные показатели не зависят от количества и разнообразия обнаруженных ПЦР-фрагментов или аллелей, а обусловлены только соотношением гетерозиготных и гомозиготных локусов в геноме каждого дерева, составляющих выборку. Необходимо отметить, что для заданного нормативными документами минимального количества плюсовых деревьев выявлен тот же уровень гетерозиготности, что и для максимального количества деревьев в данном исследовании. Так, ожидаемая гетерозиготность, вычисленная на основе анализа ISSR-локусов, и для 66 и для 50 плюсовых деревьев составила 0,25. Значения наблюдаемой гетерозиготности, рассчитанные для микросателлитных локусов составили 0,61 и 0,60 соответственно для 63 и 50 плюсовых деревьев, в то время как ожидаемая гетерозиготность составила 0,72 и 0,71 соответственно для тех же размеров выборки. Однако при планировании селекционно-семеноводческих работ необходимо учитывать вероятность снижения уровня гетерозиготности потомства, полу-

ченного от ограниченного количества генотипов на лесосеменных плантациях, вследствие увеличения вероятности самоопыления. В связи с этим, необходимы дополнительные исследования для оценки вероятности снижения уровня гетерозиготности потомства плюсовых деревьев при сокращении количества родительских генотипов.

Выводы

1. Снижение объёма выборки плюсовых деревьев приводит в первую очередь к сокращению числа обнаруженных ПЦР-фрагментов при ISSR-анализе или аллельного разнообразия в случае SSR-анализа. Было установлено, что снижение количества генотипов до десяти приведёт к потере 39 (19,6 %) вариантов ПЦР-фрагментов, полученных с шестью ISSR-праймерами, или утрате 33 (50,0 %) аллелей пяти микросателлитных локусов от всех обнаруженных у максимального размера выборки плюсовых деревьев.

2. На экспериментальном материале был доказан теоретически ожидаемый вывод о том, что изменение объёма выборки плюсовых деревьев оказывает слабое влияние на такие показатели генетического разнообразия, как гетерозиготность и коэффициент инбридинга. Так, для разного

числа плюсовых деревьев ожидаемая гетерозиготность, вычисленная на основе ISSR-анализа, варьировала от 0,23 до 0,24. Границы изменчивости наблюдаемой гетерозиготности для микросателлитных локусов лежали в пределах от 0,59 до 0,62, ожидаемой гетерозиготности от 0,68 до 0,72, а коэффициента инбридинга от 0,08 до 0,13 для разных размеров выборки. Для установления влияния сокращения размера родительской популяции на гетерозигот-

ность будущего потомства необходимы дополнительные исследования.

3. Использование определённого нормативными требованиями минимального количества плюсовых деревьев (50 штук) при создании лесосеменной плантации приводит к потере 1,01 % редких ПЦР-фрагментов и 7,8 % аллелей микросателлитных локусов по сравнению с выборкой плюсовых деревьев в количестве 66 и 63 штук соответственно.

Статья подготовлена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках выполнения базовой части государственного задания высшим учебным заведением и научным организациям в сфере научной деятельности (г/б НИР 37.8531.2017).

Список литературы

1. Генетические эффекты трансформации лесных экосистем / В.Е. Падутов, Л.В. Хотылева, О.Ю. Баранов и др. // Экологическая генетика. 2008. Т. VI. № 1. С. 3-11.
2. Genetic gain and diversity of orchard crops under alternative management options in a clonal seed orchard of *Pinus thunbergii* / K. S. Kang, D. Lindgren, T. J. Mullinet et al. // *Silvae Genetica*. 2005. Vol. 5. No 3. P. 93-96.
3. Boyle T.J.B. Biodiversity of Canadian forests: current status and future challenges // *The Forestry Chronicle*. 1991. Vol. 68. No 4. P. 444-453.
4. Behm A., Becker A., Dorflinger et al. H. Concept for the conservation of forest resources in the Federal Republic of Germany // *Silvae Genetica*. 1997. Vol. 46. No 1. P. 24-34.
5. Cheliak W.M., Murray G., Pitel, J.A. Genetic effects of phenotypic selection in white spruce // *Forest Ecology and Management*. 1988. No 24. P. 139-149.
6. 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 Genetics*. 1997. No 94. P. 83-90.
7. 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 et al. // *Canadian Journal of Forest Research*. 2001. No 31. P. 943-949.
8. Hansen O.K. Mating patterns, genetic composition and diversity levels in two seed orchards with few clones – Impact on planting crop // *Forest Ecology and Management*. 2008. Vol. 256. No 5. P. 1167-1177.
9. Шуганов З.Х. Сравнительный генетический анализ лесосеменных плантаций и природных популяций сосны обыкновенной // *Лесоведение*. 1995. № 3. С. 19-24.
10. Селекционная и генетическая оценка лесосеменных плантаций дуба черешчатого ГЛХУ «Кличевский лесхоз» / А.И. Сидор, И.Д. Ревяко, Д.И. Каган и др. // Труды БГТУ. 2014. № 1. С. 181-184.
11. Ильинов А.А., Раевский Б.В. Сравнительная оценка генетического разнообразия естественных популяций и клоновых плантаций сосны обыкновенной и ели финской в Карелии // *Экологическая генетика*. 2015. Т. XIII. № 4. С. 55-67.
12. Chaisurisri K., El-Kassaby Y.A. Genetic diversity in a seed production population and natural population of Sitka spruce // *Biodiversity and Conservation*. 1994. No 3. P. 512-523.
13. El-Kassaby Y.A., Ritland K. Impact of selection and breeding on the genetic diversity in Douglas-fir // *Biodiversity and Conservation*. 1996. No 5. P. 795-813.
14. Криворотова Т.Н., Шейкина О.В. Генетическая структура лесосеменных плантаций и насаждений сосны обыкновенной в Среднем Поволжье // *Вестник Поволжского государственного технологического университета*. Сер.: Лес. Экология. Природопользование. 2014. № 1(21). С. 77-86.
15. Knowles P. Comparison of isozyme variation among natural stands and plantations: jack pine and black spruce // *Canadian Journal of Forest Research*. 1985. No 15. P. 902-908.
16. Muona O., Harju A. Effective population sizes genetic variability and mating system in natural stands and seed orchards of *Pinus sylvestris* // *Silvae Genetica*. 1989. Vol. 38. No 5-6. P. 221-228.
17. 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. P. 89-94.
18. Wasielewska M., Klemm M., Burczyk J. Genetic diversity and mating system of Scots pine plus trees // *Dendrobiology*. 2005. No 53. P. 57-62.
19. Moran G. F., Bell J. C., Matheson A. C. The genetic structure and levels of inbreeding in a *Pinus radiata* D. Don seed orchard // *Silvae Genetica*. 1980. Vol. 29. P. 190-193.
20. Гончаренко Г. Г., Падутов В. Е., Потенко В. В. Руководство по исследованию хвойных

видов методом электрофоретического анализа изоферментов. Гомель: Беларус. науч. исслед. ин-т. лесн. хоз-ва, 1989. 163 с.

21. *Ивановская С.И.* Эффективность использования объектов постоянной лесосеменной базы для сохранения генофонда сосны обыкновенной в Беларуси // Сибирский лесной журнал. 2014. № 4. С. 59-63.

22. Лесная генетика и биотехнология в Беларуси / В.Е. Падутов, О.Ю. Баранов, Д.И. Каган и др. // Биотехнология, генетика, селекция в лесном и сельском хозяйстве, мониторинг экосистем: материалы международной научно-технической конференции 21-22 июня 2017 г. / под ред. проф. С. С. Морковиной; д-ра с.-х. наук В. И. Михина; М-во образования и науки РФ, ФГБОУ ВО «ВГЛТУ». Воронеж, 2017. С. 86-92.

Статья поступила в редакцию 19.12.17.

Информация об авторах

ШЕЙКИНА Ольга Викторовна – кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры лесных культур, Поволжский государственный технологический университет. Область научных интересов – популяционная и экологическая генетика древесных видов, использование ДНК-технологий в лесном семеноводстве и селекции древесных видов. Автор 60 публикаций.

ГЛАДКОВ Юрий Федорович – начальник отдела защиты леса и государственного лесопатологического мониторинга, Филиал ФБУ «Российский центр защиты леса» - «Центр защиты леса Республики Марий Эл». Область научных интересов – использование ДНК-технологий в лесном семеноводстве и селекции сосны обыкновенной. Автор 14 публикаций.

UDC 630*232.311.3 (575.22)

DOI: 10.15350/2306-2827.2018.1.33

SIMULATION OF THE INDICES OF GENETIC DIVERSITY DEPENDING ON THE NUMBER OF PLUS TREES OF SCOTS PINE

O. V. Sheykina¹, Yu. F. Gladkov²

¹ Volga State University of Technology,

3, Lenin Sq., Yoshkar-Ola, Mari El Republic, 424000, Russian Federation

² Branch of FBI “Russian Office of Forest Protection” – “Office of Forest Protection in the Republic of Mari El”

83, Komsomolskaya St., Yoshkar-Ola, 324000, Russian Federation

E-mail: SheykinaOV@volgatech.net

Keywords: *Pinus sylvestris; plus trees; ISSR-markers; SSR-markers; genetic diversity.*

ABSTRACT

Introduction. *The level of genetic variability is one of the factors for sustainability of wood species population. Thus, it is important to pay attention to the level of genetic diversity of seed plantations, which are the source of seeds for the reproduction of populations of wood species. The goal of the research is to assess the dependence of indices of genetic diversity on the number of genotypes of Scots pine and to reveal the degree of lowering of genetic polymorphism of seed plantations when using the minimum number of breeds of plus trees. Plus trees of Scots pine were the object of the research. Two types of DNA-markers (ISSR-markers and SSR-markers) were used to determine the indices of genetic diversity. According to the results of the research, decrease of the number of plus trees leads to the decrease of the number of PCR-fragments in case of ISSR-analysis and the decrease of the number of alleles in case of SSR-analysis. It was determined that the decrease of the number of genotypes to 10 led to the loss of 39 (19.6 %) variants of PCR-fragments or the loss of 33 (50.0 %) alleles of SSR loci of all the discovered plus trees (maximum selection). The change of the selection scope of plus trees shows a slight impact on such indicators of genetic diversity as heterozygosis and the coefficient of inbreeding. The heterozygosis (it was calculated on the basis of ISSR-analysis) varied from 0.23 to 0.24 for various number of plus trees. The limits of variability of the observed heterozygosis for SSR loci were 0.59 - 0.62, of the expected heterozygosis – 0.68 - 0.72, and of the coefficient of inbreeding – 0.08 - 0.13 for different selections. The use of a minimum number of plus trees (50 trees) when establishing seed plantation leads to the loss of 1.01 % rare PCR-fragments and 7.8 % alleles of SSR loci (compared with the selection of plus trees - 66 and 63 trees, respectively). The number of plus trees should be defined with the normative requirements.*

The article is prepared with the financial support of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation when accomplishing the basic part of the state task of educational institutions and scientific organizations in the field of scientific activities (scientific research 37.8531.2017).

REFERENCES

1. Padutov V.E., Khotyleva L.V., Baranov O.Yu. et al. Geneticheskie efekty transformatsii lesnykh ekosistem [Genetic Effects of Forest Ecosystems Transformation]. *Ekologicheskaya genetika* [Ecological Genetics]. 2008. Vol. VI. No 1. P. 3-11.
2. Kang K. S., Lindgren D., Mullinet T. J. et al. Genetic gain and diversity of orchard crops under alternative management options in a clonal seed orchard of *Pinus thunbergii*. *Silvae Genetica*. 2005. Vol. 5. No 3. P. 93–96.
3. Boyle T.J.B. Biodiversity of Canadian forests: current status and future challenges. *The Forestry Chronicle*. 1991. Vol. 68. No 4. P. 444-453.
4. Behm A., Becker A., Dorflinger et al. H. Concept for the conservation of forest resources in the Federal Republic of Germany. *Silvae Genetica*. 1997. Vol. 46. No 1. P. 24-34.
5. Cheliak W.M., Murray G., Pitel, J.A. Genetic effects of phenotypic selection in white spruce. *Forest Ecology and Management*. 1988. No 24. P. 139-149.
6. 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 Genetics*. 1997. No 94. P. 83-90.
7. Godt M. J.W., Hamrick J. L., Burke M. A. et al. Comparisons of genetic diversity in white spruce (*Picea glauca*) and jack pine (*Pinus banksiana*) seed orchards with natural populations. *Canadian Journal of Forest Research*. 2001. No 31. P. 943–949.
8. Hansen O.K. Mating patterns, genetic composition and diversity levels in two seed orchards with few clones – Impact on planting crop. *Forest Ecology and Management*. 2008. Vol. 256. No 5. P. 1167-1177.
9. Shigapov Z.Kh. Sravnitelnyy geneticheskiy analiz lesosemennykh plantatsiy i prirodnykh populyatsiy sosny obyknovennoy [A Comparative Genetic Analysis of Seed Plantations and Natural Populations of Scots Pine]. *Lesovedenie* [Silviculture]. 1995. No 3. P. 19-24.
10. Sidor A.I., Revyako I.D., Kagan D.I. et al. Selektionnaya i geneticheskaya otsenka lesosemennykh plantatsiy duba chershchatogo, GLHU «Klichevskiy leskhov» [Selective and Genetic Assessment of Seed Plantations of English Oak, FME «Klichevskiy leskhov»]. *Trudy BGTU* [Transactions of BSTU]. 2014. No 1. P. 181-184.
11. Ilinov A.A., Raevskiy B.V. Sravnitel'naya otsenka geneticheskogo raznoobraziya estestvennykh populyatsiy i klonovykh plantatsiy sosny obyknovennoy i eli finskoy v Karelii [A Comparative Assessment of Genetic Diversity of Natural Populations and Clonal Seed Orchard of Scots Pine and *Picea* × *fennica* in the Republic of Karelia]. *Ekologicheskaya genetika* [Ecological Genetics]. 2015. Vol. XIII. No 4. P. 55-67.
12. Chaisurisri K., El-Kassaby Y.A. Genetic diversity in a seed production population and natural population of Sitka spruce. *Biodiversity and Conservation*. 1994. No 3. P. 512-523.
13. El-Kassaby Y.A., Ritland K. Impact of selection and breeding on the genetic diversity in Douglas-fir. *Biodiversity and Conservation*. 1996. No 5. P. 795-813.
14. Krivorotova T.N., Sheykina O.V. Geneticheskaya struktura lesosemennykh plantatsiy i nasa-zhdeniy sosny obyknovennoy v Srednem Povolzhe [Genetic Structure of Seed Plantations and Plantings of Scots Pine in the Middle Volga Region]. *Vestnik Povolzhskogo gosudarstvennogo tekhnologicheskogo universiteta. Ser.: Les. Ekologiya. Prirodopolzovanie* [Vestnik of Volga State University of Technology. Series: Forest. Ecology. Nature Management]. 2014. No 1(21). P. 77-86.
15. Knowles P. Comparison of isozyme variation among natural stands and plantations: jack pine and black spruce. *Canadian Journal of Forest Research*. 1985. No 15. P. 902-908.
16. Muona O., Harju A. Effective population sizes genetic variability and mating system in natural stands and seed orchards of *Pinus sylvestris*. *Silvae Genetica*. 1989. Vol. 38. No 5-6. P. 221-228.
17. 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. P. 89-94.
18. Wasielewska M., Klemm M., Burczyk J. Genetic diversity and mating system of Scots pine plus trees. *Dendrobiology*. 2005. No 53. P. 57–62.
19. Moran G. F., Bell J. C., Matheson A. C. The genetic structure and levels of inbreeding in a *Pinus radiata* D. Don seed orchard. *Silvae Genetica*. 1980. Vol. 29. P. 190-193.
20. Goncharenko G. G., Padutov V.E., Potenko V. V. Rukovodstvo po issledovaniyu khvoynykh vidov metodom elektroforeticheskogo analiza izofermentov [A Guide to Study Coniferous Species by the Method of Electrophoretic Analysis of Isoenzymes]. Gomel: Belarus. nauch. issled. in-t. lesn. khoz-va, 1989. 163 p.
21. Ivanovskaya S.I. Effektivnost ispolzovaniya obektov postoyannoy lesosemennoy bazy dlya sokhraneniya genofonda sosny obyknovennoy v Belarusi [The Efficiency of Use of the Objects of Permanent Seed Base to Save the Genebank of Scots Pine in Belarus]. *Sibirskiy lesnoy zhurnal* [Siberian Forest Journal]. 2014. No 4. P. 59-63.

22. Padutov V.E., Baranov O.Yu., Kagan D.I. et al. Lesnaya genetika i biotekhnologiya v Belarusi [Forest Genetics and Biotechnology in Belarus]. *Biotekhnologiya, genetika, selektsiya v lesnom i selskom khozyaystve, monitoring ekosistem: materialy mezhdunarodnoy nauchno-tekhnicheskoy konferentsii 21-22 iyunya 2017 g.; pod red. prof. S. S. Morkovinoy; d-ra s.-kh. nauk V. I. Mikhina; M-vo obrazovaniya i nauki RF,*

FGBOU VO «VGLTU» [Biotechnology, Genetics, Selection in Forestry and Agriculture, Monitoring of Ecosystems: proceedings of International Scientific and Technical Conference, June, 21-22 2017 ; under the editorship of prof. S.S. Morkovina and Doctor of Agricultural Sciences V. I. Mikhina; Ministry of Education and Science of the Russian Federation, FSBEI HPE “VSFTU”]. Voronezh, 2017. P. 86-92.

The article was received 19.12.17.

For citation: Sheykina O. V., Gladkov Yu. F. Simulation of the Indices of Genetic Diversity Depending on the Number of Plus Trees of Scots Pine. *Vestnik of Volga State University of Technology. Ser.: Forest. Ecology. Nature Management.* 2018. No 1(37). Pp. 33–44. DOI: 10.15350/2306-2827.2018.1.33

Information about the authors

SHEYKINA Olga Victorovna – Candidate of Agricultural Sciences, Associate Professor at the Chair of Forest Crops, Volga State University of Technology. Research interests – population genetics and ecological genetics of woody species, use of DNA technologies in forest seedage and selection of woody species. The author of 60 publications.

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”. Research interests – use of DNA technologies in forest seedage and selection of Scots pine. The author of 14 publications.