

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАЗНЫХ ТИПОВ МОЛЕКУЛЯРНЫХ
МАРКЕРОВ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ИЗМЕНЧИВОСТИ ЛЕСНЫХ
ДРЕВЕСНЫХ ВИДОВ****И. И. Камалова**, М. Ю. ПетюренкоФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт
лесной генетики, селекции и биотехнологии»

Поступила в редакцию 03.05.2022 г.

Аннотация. В обзорной статье приводится опыт по изучению генетической изменчивости основных лесообразующих видов лесных древесных пород сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), сосны кедровой (*Pinus sibirica*), дуба черешчатого (*Quercus robur* L.), лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.), ели европейской и сибирской (*Picea abies* (L.) Karst., *Picea obovata* Ledeb.) с использованием молекулярных и классических биохимических методов с целью использования полученной информации для совершенствования воспроизводства лесов. Показана эффективность комплексного подхода к оценке генетического разнообразия с применением разных типов маркеров: изоферментов, микросателлитов (SSR), ДНК-маркеров органелл, RAPD-маркеров и др. Анализ информации показал, что зачастую оценки генного разнообразия на внутривидовом уровне, полученные с использованием разных маркеров, могут различаться. Например, для сосны гибкой (*Pinus flexilis*) показаны различия в оценках уровня дифференциации популяций, полученные с использованием изоферментов, RAPD-маркеров, ДНК-маркеров органелл. У дуба черешчатого в исследованиях SSR-маркеры по сравнению с изоферментами показали большую дифференциацию. В статье приводятся данные, показывающие наличие существенных различий в уровне полиморфизма у локусов, относящихся к одному типу молекулярных маркеров. Наиболее подробно с привлечением большого числа литературных источников рассмотрены величины параметров генетической изменчивости между разными видами маркеров, которые различаются между отдельными видами в 2 и более раз на основе обоих типов локусов. Например, ожидаемая гетерозиготность (H_e) у *Pinus sylvestris* L. вдвое превосходит аналогичный параметр у *Pinus sibirica* как по оценке, проведённой на базе изоферментов, так и на основе микросателлитных локусов. У этих типов маркеров и внутри видов также наблюдается широкий размах варьирования основных генетических параметров. При этом сохраняется тенденция более высоких оценок изменчивости, вычисленных по микросателлитным локусам. Анализ литературных источников показывает, что, как правило, оценки, полученные на базе SSR-локусов, вдвое и более раз выше, чем на основе изоферментного анализа. Показано, что, с одной стороны, результаты сравнения генетической изменчивости на основе разных типов молекулярных маркеров могут быть неоднозначны, с другой стороны, могут дополнять генетическую изменчивость популяций, которая была не доступна ранее при использовании изоферментных маркеров.

Ключевые слова: изоферменты, микросателлиты, митохондриальные ДНК-маркеры, лесная генетика, популяционная структура видов, *Pinus sylvestris* L., *Pinus sibirica*, *Quercus robur* L., *Larix sibirica* Ledeb., *Picea abies* (L.) Karst., *Picea obovata* Ledeb.

Сохранение лесного генетического разнообразия включает в себя комплекс направлений: оценку эволюционно сложившегося уровня, структуры и дифференциации внутривидовой генетической изменчивости лесных древесных видов на пространстве ареала обитания, монито-

ринг его трансформации под влиянием различных антропогенных и природных воздействий, уточнение границ популяций и ареалов родственных видов и зон (областей) естественной межвидовой гибридизации, выявление наиболее ценных и уникальных в генетическом отношении популяций. В естественных насаждениях изучаются факторы, влияющие на генетическую изменчивость и фор-

мирующие её. Сюда входят исследования генетического дрейфа, величины и направления генного потока, популяционная структура и её изменения под влиянием антропогенных и других факторов, особенности системы размножения, влияние экологических условий местопроизрастания, а также вопросы межвидовой гибридизации *in situ*, идентификация видов, филогения и таксономия.

Информация по ряду перечисленных вопросов необходима для научно-обоснованного семеноводства и лесовоспроизводства, которая должна сохранять и воспроизводить эволюционно сложившийся паттерн генетической изменчивости, характерный для каждого целевого вида.

До середины прошлого века изменчивость лесных пород изучалась на основе фенотипических признаков – фенологических, морфологических, количественных хозяйственно важных признаков роста и развития, которые обычно оценивались в ходе полевых испытаний [1]. Генетическая изменчивость исследовалась кариологическими и цитогенетическими методами, которые характеризовали особенности хромосомного аппарата. В течение последних нескольких десятилетий мир стал свидетелем быстрого роста знаний о последовательностях генома растений, физиологической и молекулярной роли различных генов растений, что произвело революцию в молекулярной генетике и её эффективности в программах селекции растений [2-3].

Были разработаны новые методы молекулярной биологии, позволяющие оценивать генетическую изменчивость отдельных особей по продуктам деятельности их генов: вначале аллозимный (изоферментный) анализ и позже – методы исследования изменчивости кодирующих и не кодирующих участков ДНК. Непрерывное развитие молекулярной биологии способствует появлению всё новых молекулярных маркеров, анализ которых дополняет традиционные методы и позволяет получить ответы на вопросы функционирования генома. К моменту разработки современных ДНК-маркеров (полиморфизм длины рестрикционного фрагмента (RFLP), полиморфизм длины амплифицированного фрагмента (AFLP), простые повторы последовательности (SSR), однонуклеотидный полиморфизм (SNP) и др.) был получен уже большой объем информации на базе аллозимных маркеров, разработаны основные общие принципы оценки генетической изменчивости кодоминантных молекулярных локусов [4-5]. Стоит особо отметить, что свойства отдельных молекулярных маркеров и эффективность их

применения зависит от специфики организации генетического аппарата конкретных тканей и оргanelл растительных клеток, а также от специфики генома анализируемых древесных видов. Все выявленные локусы должны быть тестированы на пригодность для оценки того или иного вида изменчивости. Разработка маркеров “с нуля”, т.е. начиная со случайного выбора последовательностей и проверки на применимость к новому объекту исследования достаточно трудоёмка.

Таким образом, на выбор для исследования тех или иных маркеров влияют многие факторы – от соответствия конкретных типов маркеров стоящим перед исследователем задачам до финансовой обеспеченности и наличия специального оборудования в лаборатории.

Успешное внедрение в лесную генетику метода аллозимного анализа позволило российским исследователям получить качественно новую информацию о генетическом разнообразии лесных древесных растений. Этот вид анализа показал себя как объективный метод оценки внутривидовой генетической изменчивости, позволяющий выявлять гомо- и гетерозиготность особи, идентифицировать генотипы, определять материнский и отцовский вклад в потомство. Однако, эти маркеры обнаруживают только те замены аминокислот, которые приводят к изменению заряда белковой молекулы, а это около трети всех мутационных замен. При этом, характеризуя вариабельность в основном ферментных локусов, расположенных в ядре клетки, аллозимные маркеры описывают изменчивость только части ядерного генома.

На сегодняшний день приложение молекулярных маркеров в лесной области можно условно объединить в два блока. Первый охватывает круг задач, связанных с получением информации об уровне и структуре внутривидовой изменчивости лесных древесных пород в их естественном ареале обитания. Второй касается вопросов, связанных с привлечением молекулярных маркеров к решению разнообразных задач в ходе генетико-селекционных и семеноводческих работ в практике лесного хозяйства. Такое деление довольно условно, поскольку многие проблемы неразрывно связаны с вопросами обоих блоков. На сегодняшний день многочисленными работами исследователей была показана целесообразность и эффективность комплексного подхода к оценке генетического разнообразия с применением разных типов маркеров.

За рубежом информация об особенностях внутривидовой изменчивости древесных лесных ви-

дов давно получила практическое применение и включается в Технические руководства (Technical Guidelines) по управлению лесами, по сохранению и использованию более чем 40 хвойных и лиственных пород [6-8].

Дополнение у *Picea abies* данных по изменчивости аллозимов оценкой варибельности хлоропластных и SSR-маркеров выявило четкую географическую структуру, обусловленную наличием в Европе двух рефугиумов этого вида в ледниковый период [9]. Межпопуляционные различия составляли 10%, внутривидовые – 90%, что хорошо согласовалось с данными аллозимного анализа [10] и в целом соответствовало параметрам, характерным для видов с большим непрерывным ареалом [11]. Анализ митохондриальных маркеров также подтвердил наличие двух главных пулов у *Picea abies* в Европе [12].

Анализ микросателлитов ядерной [13] и хлоропластной ДНК [14] у горных альпийских популяций *Picea abies* не выявил существенных различий между популяциями. Авторами был сделан вывод, что высотная поясность не влияет на генетическое разнообразие SSR-локусов [13]. Исследование генетической изменчивости более чем 100 популяций этого вида позволило выделить генетически гомогенные районы (“генетические зоны”) [14], получить важную информацию о миграции этого вида в постледниковый период, что является одним из важных факторов разнообразия у лесных древесных растений [15].

Использование микросателлитных (SSR) локусов хлоропластной и митохондриальной ДНК позволило исследовать геногеографическую структуру популяций ели европейской (*Picea abies* (L.) Karst.) на территории Беларуси. Авторами с помощью обоих типов маркеров были выявлены особенности географического распределения аллельных вариантов локусов цитоплазматической ДНК с территориальным размещением формового разнообразия *P. abies* (деревья с тупо - и остро-чешуйчатыми формами шишек) [16].

На основании анализа изменчивости изоферментных и микросателлитных локусов ядерной и хлоропластной ДНК были получены новые данные о степени дифференциации ряда популяций ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.), включая изолированные популяции, расположенные на острове Ольхон (Монголия) и на юге Магаданской области. Авторами показано, что совместное использование разных типов генетических маркеров дает возможность получить более полную и

объективную информацию о генетическом разнообразии и внутривидовой дифференциации этого широко распространенного в Сибири вида [17].

В тоже время изменчивость трех микросателлитных локусов хлоропластной ДНК (cpSSR) изученная в популяциях ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.) из Иркутской и Магаданской областей, Бурятии и Монголии, оказалась более высокой, чем это было установлено ранее при исследовании 21 аллозимных локусов. Однако сопоставление результатов, полученных при использовании двух классов генетических маркеров, показало, что распределение изменчивости среди популяций во многом совпадает [18].

Использование молекулярных микросателлитных маркеров позволило авторам в работе [19] установить возможность их использования для определения видовых различий между елью европейской и сибирской (*Picea abies* (L.) H. Karst. и *Picea obovata* Ledeb.), а также оценить степень генетической обособленности региональных популяций ели на территории Европейской части РФ.

С использованием молекулярных маркеров хлоропластной и митохондриальной ДНК определены родословные *Pinus sylvestris* L. [20]. У этого вида с использованием митохондриального интрона (*nad1*) выявлено 2 гаплотипа. Исследованные 23 популяции распределялись на Иберийском полуострове в соответствии с географической структурой [21]. Изучение территориального распределения аллелей микросателлитных (SSR) локусов хлоропластной ДНК помогло также выявить особенностей генетической структуры и геногеографическую дифференциацию популяций *P. sylvestris* в Беларуси. Анализ географического распространения аллельных вариантов показал, что по доминирующим вариантам популяционная структура сосновой формации достаточно однородна, хотя в тоже время были определены региональные отличия по частоте группы аллелей характеризующиеся увеличением или уменьшением частоты встречаемости в направлении с юго-запада на северо-восток территории [22].

С использованием молекулярных маркеров разных типов (аллозимов, хлоропластных и ядерных микросателлитов, AFLP) было изучено генетическое разнообразие популяций *Pinus pinaster* Aiton в широком ареале обитания [23]. Результаты группировки популяций [24] подтверждали наличие трёх происхождений этого вида.

Накопление информации показало, что оценки генного разнообразия на внутривидовом уровне

ном уровне, полученные с использованием разных маркеров, различались. Авторы отметили, что при разработке рекомендаций по сохранению вида на базе молекулярных маркеров и ограниченном числе изученных популяций необходима осторожность. У *Pinus pinaster* Aiton S.C. Gonzalez-Martine с соавторами рекомендовали брать за основу аллельный состав материнских происхождений с учётом имеющейся популяционной структуры и адаптационных признаков [23].

Стоит особо отметить, что часть авторов высказывают предположение о том, что, например, для обнаружения более тонких нарушений и начальных стадий негативных для возобновления генофонда популяций процессов, в т.ч. связанных с антропогенными нарушениями, а также данных для анализ филогеографической структуры популяций и оценки накопления различий в рефугиумах, аллозимных маркеров может быть недостаточно. Необходимо использовать более чувствительные, чем этот вид маркеры, оценивающие генетический полиморфизм популяций вида (например, различные типы ДНК-маркеров ядерного и цитоплазматических геномов) [25, 26].

Как видим, результаты сравнения генетической изменчивости на основе разных типов молекулярных маркеров могут быть неоднозначны.

У *Pseudotsuga menziesii* генное разнообразие и дифференциация были сходны как по изоферментным, так и по RAPD-маркерам [27]. Низкий уровень изменчивости имели RADP- и RFLP-маркеры у сосны смолистой (*Pinus resinosa*) [28, 29], что согласовалось с данными по аллозимам [30]. Аналогичная картина наблюдалась у туи гигантской [31]. Сходная картина имела место в генетических взаимоотношениях между видами лиственниц из шести удалённых друг от друга районов Сибири и Дальнего Востока по RAPD-маркерам [32] и аллозимам [33]. Средняя величина генного потока между двумя выборками *Larix sibirica* рассчитанная по RAPD и аллозимным локусам коррелировала между собой (соответственно 3.89 и 2.91-5.57).

В то же время у сосны гибкой (*Pinus flexilis*) наблюдались различия в оценках уровня дифференциации популяций, полученные с использованием аллозимов, RAPD и ДНК-маркеров органелл. В наибольшей степени популяции этого вида различались по маркерам митохондриальной ДНК, наследуемым по материнской линии, межпопуляционная компонента разнообразия (Fst) для них составляла 6.8%. Уровень дифференциации маркеров

хлоропластной ДНК, распространяемых с пылью на большие расстояния был значительно ниже (1.3%). Fst для разных ферментных локусов варьировал от 0.1 до 4.8%. Самый большой разброс значений этого показателя имели RAPD-маркеры (0.1-40%). Такие различия, вероятно, связаны со сложностями в интерпретации доминантных RAPD-маркеров, что затрудняет анализ и может приводить к некорректным результатам [34].

У *Quercus robur* [35] SSR-локусы по сравнению с аллозимами показали большую дифференциацию. У микросателлитов межлокусная вариация была ниже, чем у аллозимов, что указывает на их большую селективную нейтральность.

Исследование 14 популяций дуба черешчатого [36] с использованием трёх разных типов маркеров – аллозимных, ISSRs и SSRs-локусов показало сравнительно высокое разнообразие этого вида на Южном Урале. По аллозимным локусам при слабой внутригрупповой дифференциации популяции группировались по зонам растительности и крупным геоморфологическим образованиям. Наиболее отличались краевые популяции из экологически пессимальных условий. Отмечена простанственно-семейная кластеризация генотипов, объясняющая высокое генетическое разнообразие популяций на географической и экологической границах ареала. Для пяти аллозимных локусов (Skdh-1, Fdh-1, Aap-1, Lap-2 и Dia-1) отмечена относительная информативность для целей генотипирования дуба черешчатого. По результатам анализа 16 случайных выборок по 32 дерева из разных частей ареала дуба на Южном Урале для этих ферментных локусов было выявлено 30 аллельных вариантов, и в среднем около 94% деревьев в выборке имели уникальный мультилокусный генотип. Абсолютные величины показателей подразделённости по 5 аллозимным и 9 ISSRs-локусам различались, однако имели общую тенденцию.

На северо-западе Франции в насаждении, состоящем из смеси двух видов дуба (*Q. robur* и *Q. petraea*), при очень низкой межвидовой дифференциации как ядерных (рибосомальная ДНК), так и маркеров ДНК хлоропластов, виды существенно различались уровнем полиморфизма [37]. Маркеры хлоропластной ДНК по сравнению с RFLP рибосомальной ДНК характеризовались очень низкой изменчивостью. Ген-ферментные локусы имели высокое различие между видами по сравнению с фрагментами молекулы рибосомальной ДНК. Межвидовая дифференциация аллельных частот у большинства аллозимов была особенно вы-

сока у взрослых деревьев [38]. У рода *Quercus* изменчивость хлоропластных маркеров в основном соответствует географии происхождения образцов, а не видовой принадлежности. Например, популяции дуба в Европе и США имеют в основном одни и те же хлоропластные гаплотипы, даже если особи принадлежат к разным видам дуба [8, 39, 40].

Интересные данные были получены для дуба красного (*Quercus rubra* L.) на территории Германии с помощью 12 EST-SSR локусов и 8 селективно нейтральных ядерных микросателлитных (nSSR) маркеров. Авторами показано, что популяции дуба красного на территории Германии сохраняют сравнительно высокий уровень генетической изменчивости как в EST-SSR, так и в nSSR локусах, при этом полученные результаты согласуются с более ранним анализом ДНК хлоропластов, на основании которых было выдвинуто предположение, что часть генофонда *Q. rubra*, завезенного в Германию, имели происхождение из локального географического района в Северной Америке [41].

Изменчивость хлоропластной ДНК помогла ученым исследовать филогеографию дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) в 42 популяциях в европейской части России, Беларуси, Польше, Украине, на Урале и на Кавказе. Показано, что группы гаплотипов имеют неслучайное географическое распространение, вероятно отражающее историю заселения дубом данных районов [42].

В работе [43] генетико-популяционные исследования дуба черешчатого в России не показали особого снижения изменчивости ядерных маркеров (аллозимных, ядерных микросателлитов) в восточных популяциях дуба, по сравнению с центральной частью ареала. Однако на крайнем юго-востоке была отмечена высокая степень дифференциации популяций, предположительно вследствие генетического дрейфа. При этом авторы отмечают, что ядерные маркеры имеют больший эффективный размер популяции по сравнению с хлоропластными, что снижает их чувствительность к генетическому дрейфу.

Изоферментный анализ 4-х естественных популяций дуба черешчатого в Марий Эл показал, что уровень их генетического разнообразия предполагается, с одной стороны, между германскими и французскими популяциями, обладающими более низкой изменчивостью, и, с другой стороны, финскими популяциями, характеризующимися более высоким уровнем изменчивости [43]. RAPD-анализ 6-ти праймеров у 4-х популяций

этого вида из географически удаленных точек ареала (Республика Мордовия, Башкортостан, Воронежская и Новгородская области) выявил высокую изменчивость этих генетических маркеров у дуба. Географически удаленные популяции существенно различались по частотам ампликонов. При этом была отмечена слабая дифференциация насаждений дуба по средним генетико-статистическим параметрам, вычисленным на основе как изоферментного, так и RAPD-анализа, что объясняется наличием генного потока между ними, составляющего в среднем 4.6 [44].

Три разных типа молекулярно-генетических маркеров (5 аллозимных, 99 ISSRs- и 9 SSRs- локусов) показали сравнительно высокое генетическое разнообразие дуба черешчатого на Южном Урале, в том числе в краевых географически изолированных малых популяциях, произрастающих в экологически неблагоприятных условиях среды. Несмотря на различия в абсолютных величинах межпопуляционной компоненты (G_{ST} и F_{ST}), общий вывод, сделанный на основе аллозимов, был подтвержден анализом микросателлитных маркеров [36]. Сравнительное изучение полиморфизма популяций дуба черешчатого на территории всей южно-уральской части ареала на основе аллозимного и ISSR-анализов доказало информативность использованных генетических маркеров для выбора объектов охраны и сохранения генетического разнообразия этого вида в регионе [46]. На основе проведенных исследований популяции из низкогорий западного макросклона южно-уральских гор со сравнительно богатым генофондом рекомендованы авторами для создания генетического резервата, генетические ресурсы которого могут быть полезны для улучшения лесосеменного фонда дуба черешчатого на Южном Урале и повышения эффективности искусственного воспроизводства лесов в данном регионе.

Используя ISSR-анализ полиморфизма ДНК дуба черешчатого в дубравах Южного Урала, Р.Ю. Янбаев с коллегами показали различие между популяциями дуба черешчатого в западной части Башкортостана и дубовыми насаждениями широколиственной зоны в республике. Результаты исследований поставили под сомнение отнесение этих популяций к одному общему лесосеменному району. Для сохранения генофонда дубрав Белебеевской возвышенности авторы рекомендуют при лесокультурном производстве использовать местный семенной материал как можно большего числа семенных деревьев [47-48].

Эффективность комплексного использования разных типов маркеров продемонстрирована при исследовании уровней видовой организации рода *Quercus*: видовые комплексы, виды внутри комплексов и популяции внутри видов [40]. По результатам изоферментного анализа 33 видов из 3 секций (более 200 популяций) и анализа хпДНК двух видовых комплексов (7 видов, более 100 популяций) показаны различия в структуре генного разнообразия ядерных аллозимных и хлоропластных генов у дуба. Наибольшее разнообразие ядерных ген-ферментных локусов наблюдается на внутривидовом уровне, что характерно для видов с широким ареалом и может свидетельствовать об успешной стратегии адаптации и выживания у долгоживущих и подверженных воздействию чрезвычайно гетерогенной среды видов [49]. Межпопуляционная внутривидовая компонента изменчивости для этих генов очень мала (0.030), это объясняется биологическими особенностями дуба, относящегося к ветроопыляемым перекрестноопыляющимся видам со значительным генным потоком между популяциями, что уменьшает их дифференциацию [8].

Напротив, у генов, локализованных в хлоропластах, максимальная дифференциация наблюдается между популяциями внутри комплексов и видов (0.895 и 0.791 соответственно). Это объясняется тем, что эти гены у дуба наследуются по материнской линии. Даже при разносе сойками и грызунами распространение этих генов с тяжёлыми желудями существенно ниже, чем ядерных генов, которые распространяются в том числе и пыльцой. Этим объясняется низкая дифференциация хлоропластных маркеров в условиях одного насаждения даже при наличии естественной гибридизации симпатрических видов дуба [38].

Интересные результаты сравнения анатомо-морфологических и молекулярно-генетических методов (аллозимы и хлДНК) получены у можжевельника [50]. Изучение 32 природных популяций можжевельника обыкновенного в широком географическом масштабе показало, что североамериканский *J. communis* var. *depressa* и дальневосточный *J. communis* var. *saxatilis* не различаясь морфологически и анатомически, дифференцированы генетически. Таким образом, различить их можно только генетически на основе анализа молекулярных маркеров. Напротив, эти же разновидности, произрастающие в Европе и Азии, генетически идентичны, но имеют статистически значимые различия по ряду морфологических и анатомических параме-

тров хвои и преобладающей жизненной форме. На основе полученных данных авторы сделали вывод, что изученные разновидности можжевельника являются экотипами, которые, произрастая на обширном ареале в разных экологических условиях (под пологом или в горах), в результате высокой экологической пластичности вида приобретают отличия в морфологии и анатомии. В то же время генетическое единообразие на обширном ареале поддерживается постоянным обменом генами между популяциями.

Разнообразие гаплотипов второго интрона гена *nad1* и их географическое распределение в ареале комплекса европейской и сибирской елей (*Picea abies* (L.) H. Karst. – *P. obovata* Ledeb.) было исследовано в 32 природных популяциях и 16 провинциях географических культур, представляющих Восточную Европу. Межпопуляционная компонента генетической изменчивости изученных выборок составляет 65%, внутривидовая – 35%. Сильную генетическую подразделённость европейских и сибирских популяций ели по митохондриальной ДНК авторы объясняют затрудненным потоком генов с семенами через безлесные участки Западно-Сибирской равнины в плейстоцене и, возможно, через поймы крупных рек [51].

Видякиным А.И. на примере сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) была разработана система методов выделения фенотипов и аллометрических индексов маркеров генотипа дерева. Это позволило выделить и картировать хронологически смежные фенотипически гетерогенные популяции *P. sylvestris* на востоке Русской равнины [52–53]. Подтверждение такого подразделения было получено с помощью ISSR-маркеров ядерной ДНК. Исследования показали, что хронологически смежные морфотипически выделенные популяции *P. sylvestris* статистически значимо различаются по показателям генетической изменчивости и генетической структуры. Подразделённость популяций по ISSR-маркерам оказалась как минимум на порядок выше, чем при аллозимном анализе. Было отмечено, что классовые частоты аллометрических индексов отражали специфику пространственной дифференциации популяций аналогично ISSR-маркерам [54].

Нужно отметить наличие существенных различий в уровне полиморфизма у локусов, относящихся к одному типу молекулярных маркеров. Например, в семьях полусибсов сосны обыкновенной у 5 SSRs-локусов ядерной ДНК ожидаемая гетерозиготность (H_e) варьировала от 10 до 60% и более

[55]. При тестировании 23 SSRs-локусов у сосны обыкновенной их индекс полиморфизма (PIC) варьировал от 18 до 85% [56], а в работе [57] наблюдаемая гетерозиготность от 0.033 до 0.900. У дуба черешчатого ожидаемая гетерозиготность у 10 генферментных локусов менялась от 10 до 71% [58].

Различия в изменчивости между разными типами маркеров объясняются тем, что, как уже упоминалось выше, они характеризуют полиморфизм участков ДНК, обладающий различной скоростью мутирования, уровнем нейтральности, наследования. Существенные различия в уровне и структуре изменчивости отдельных видов объясняются спецификой их биологии и эволюционной истории. В таблице 1 приведены примеры оценок внутривидовой изменчивости аллозимных и разных типов микросателлитных локусов у лесных древесных пород на территории России.

Данные этой таблицы показывают, что величины параметров генетической изменчивости различаются между отдельными видами в 2 и более раз на основе обоих типов локусов. Например, ожидаемая гетерозиготность (He) у *Pinus sylvestris* L. вдвое превосходит аналогичный параметр у *Pinus sibirica* как по оценке, проведенной на базе аллозимов, так и на основе SSRs-локусов. У этих типов маркеров и внутри видов также наблюдается широкий размах варьирования основных генетических параметров. При этом сохраняется тенденция более высоких оценок изменчивости, вычисленных по микросате-

лелитам. Как правило, оценки, полученные на базе SSRs-локусов вдвое и более раз выше, чем на основе аллозимного анализа (таблица 1).

Дифференциация популяций требует выяснения факторов, влияющих на их генетическое разнообразие, понимания какую величину генетической изменчивости принимать за норму для того или иного вида. Использование разных типов генетических маркеров позволяет получить более точную характеристику генетической изменчивости целевых видов.

Стоит особо отметить, что применимость молекулярных маркеров во многом еще и зависит от решения конкретных задач, которые ставит для себя исследователь. Маркеры митохондриальной ДНК наиболее информативны для филогеографических и географических исследований, установления ареалов гаплотипов. На наш взгляд, для более точного результата в популяционных исследованиях древесных видов важно использовать несколько независимо эволюционирующих маркеров, например, ядерных и хлоропластных или ядерных и митохондриальных. Это позволит не только оценить генетическое разнообразие, но и более корректно определить дифференциацию в популяциях. В тоже время, для выявления уровня внутривидового полиморфизма на наш взгляд, наиболее пригодны кодоминантные маркеры (аллозимы, микросателлиты), они позволяют идентифицировать гомо- и гетерозиготы, в то время

Таблица 1

Оценки внутривидовой изменчивости лесных древесных видов на основе аллозимных и микросателлитных локусов

Вид	Тип маркера	P	Ho	He	Fst или Gst, %	Литературный источник
<i>Pinus sylvestris</i>	аллозимы	0.55-0.92	0.22-0.46	0.23-0.40	3-6	[59-67]
	SSR	-	0.66-0.78	0.80-0.85	2-3	[68- 69]
	4 nSSR	-	0.49-0.68	0.58-0.71	9	[70]
	ISSR	-	-	-	49	[54]
	14 EST-SSRs	1.0	0.033- 0.900	0.153- 0.693	-	[57]
<i>Pinus sibirica</i>	аллозимы	0.42-0.64	0.14-0.20	0.14-0.18	-	[63, 71, 72]
	8 nSSR	-	0.35-0.46	0.43-0.47	2	[73]
<i>Picea abies</i>	аллозимы	0.46-0.80	0.18-0.21	0.16-0.22	3	[59, 67, 74-76, 87]
	19 EST-SSRs	-	0.02-0.78	0.2-0.78	3	[78]
<i>Picea obovata</i>	аллозимы	0.58-1.0	0.16-0.44	0.16-0.56	6	[78, 79, 87]
	9 nSSR	-	0.27-0.47	0.31- 0.45	2.8-18.9	[80]
	mh44 (мтДНК)	0.47-0.73	-	-	25	[81]
<i>Larix sibirica</i>	аллозимы	-	0.12-0.19	0.13-0.20	5.8-9.1	[33]
	20 ISSR	0.9	-	0.10-0.20	27.8	[82]
<i>Quercus robur</i>	аллозимы	0.40-1.00	0.13-0.42	0.17-0.46	-	[78, 36, 83-85]
	аллозимы	-	0.25-0.37	0.32-0.43	9.7	[33]
	SSR	-	0.75-0.85	0.69-0.81	-	
	99 ISSR	-	-	0.08-0.13	-	
	5 ISSR	0.13-0.53	-	0.16-0.35	-	[86]

Примечание: P – полиморфность, Ho – наблюдаемая гетерозиготность, He – ожидаемая гетерозиготность, Fst, Gst – показатели доли межпопуляционной компоненты изменчивости.

как доминантные маркеры (например, RAPD, ISSR, AFLP) имеют более уровень полиморфизма и низкую воспроизводимость.

Приведенные основные результаты применения молекулярных маркеров, а в частности изоферментов и микросателлитных маркеров (SSR-локусы) с успехом можно использовать в практике лесного хозяйства по следующим направлениям: проверка схем лесосеменных плантаций, генотипирование клонов на лесосеменных плантациях и архивах клонов, мониторинга доли гибридных семян на межвидовых плантациях, паспортизации плюсовых деревьев и сортов, сохранения генофонда основных лесообразующих видов, уточнения лесосеменного районирования, установления происхождения лесного растительного материала, в том числе древесины.

Завершая краткий обзор о развитии использования разных типов молекулярных маркеров для изучения изменчивости лесных древесных видов, следует отметить, что, несмотря на не до конца изученный вопрос о комплексном изучении генетической изменчивости качественных и количественных признаков, комбинированное использование разных генетических маркеров служит задачами получения объективной информации для сохранения биоразнообразия, а так же является залогом успешного решения многих практических лесохозяйственных задач.

Особо хочется отметить вклад ведущего научный сотрудника, кандидата биологических наук ФГБУ «ВНИИЛГИСбиотех» Камаловой Ирины Ивановны, которая много внимания в своих исследованиях уделяла разработке методических указаний для идентификации клонов сосны обыкновенной с использованием ген-ферментных маркеров и вопросам, связанным с изучением генетического разнообразия основных лесообразующих видов и трансформации их генофонда под влиянием антропогенных факторов. Под руководством Камаловой И.И. были проведены работы по оценке генетического разнообразия сосны обыкновенной и ели в Европейской части России. Описаны адаптационные особенности генетической структуры сосны обыкновенной, в том числе одного из аллелей ($Gdh-1^1$), являющегося эмбриональным полуплеталем, выявлены существенные специфические особенности генетических структур между разными популяциями сосны и ели на основе аллозимного анализа. В кратком обзоре невозможно рассмотреть все успехи использования генетических маркеров, в том числе и для

практических целей направления современной лесной генетики, таких как: проверка схем лесосеменных плантаций (ЛСП), генотипирование клонов на ЛСП и клоновых архивах, мониторинг доли гибридных семян и т.д. Большинство работ, связанных с этими вопросами, также успешно выполнялись под руководством Камаловой И.И.

Подготавливая этот материал, можно надеяться, что приведенные материалы окажутся полезными для дальнейшего использования применительно к практике лесного хозяйства.

Работа выполнена в рамках темы государственного задания № АААА-А-20-120012890084-1 Федерального агентства лесного хозяйства.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Крутовский К.В. // Генетика. 2006. Т. 42. № 10. С.1088-1100.
2. Крутовский К.В. // Сибирский лесной журнал. 2014. № 4. С.11-15.
3. Милютин Л.И., Муратова Е.Н., Ларионова А.Я. // Сибирский лесной журнал. 2018. № 1. С.3-15.
4. Камалова И.И. Методические указания для идентификации клонов сосны обыкновенной с использованием ген-ферментных маркеров. Воронеж, 2001, 24 с.
5. Падутов В.Е. Методы молекулярно-генетического анализа. Минск, Юнипол, 2007, 176 с.
6. Skroppa T. EUFORGEN Technical Guidelines for genetic conservation and use for Norway spruce (*Picea abies*). Rome, Italy, 2003, 6 p.
7. Mátyás C., Ackzell L., Samuel C.J.A. EUFORGEN Technical Guidelines for genetic conservation and use for Scots pine (*Pinus sylvestris*), Rome, Italy, 2004, 6 p.
8. Ducouso A., Bordacs S. EUFORGEN Technical Guidelines for genetic conservation and use for pedunculate and sessile oaks (*Quercus robur* and *Q. petraea*), Rome. Italy, 2004, 6 p.
9. Vendramin G.G., Anzidei M., Madaghiele A., Sperisen C., Bucciet G. // Genome. 2000. Vol.43, pp. 68-78.
10. Lagercrantz U., Ryman N. // Evolution. 1990. Vol.44, pp. 38-53.
11. Hamrick J.L., Godt M.J.W., Sherman-Broyes S.L. // New Forests. 1992. Vol. 6. pp. 95-124.
12. Sperisen C., Büchler U., Gugerli F., Matyas G., Geburek T., Vendramin G.G. // Molecular Ecology. 2001. Vol.10, pp. 257-263.
13. Scotti I., Vendramin G.G., Matteotti L.S., Scarponi C., Sari-Gorla M., Binelli G. // Molecular Ecology. 2000. Vol. 9, pp. 699-708.

14. Bucci G., Vendramin G.G. // *Molecular Ecology*. 2000. Vol.9, pp. 923-934.
15. Giannini R., Vendramin G.G. «Genetic diversity studies of *Picea abies* in Italy», Conifers Network, Report of First Meeting 5-7 March 2000, Brdo Kranj, Slovenia. 2001. pp. 13-16.
16. Падутов В.Е., Каган Д.И., Ивановская С.И. // Доклады Национальной академии наук Беларуси. 2021. Т. 65. № 4. С. 439-447.
17. Экарт А.К., Семерикова С.А., Семериков В.Л. // Сибирский лесной журнал. 2014. № 4. С. 84-91.
18. Экарт А.К., Семерикова С.А., Семериков В.Л. // Генетика. 2016. Т. 52. № 3. С. 311-315.
19. Волков В.А., Калько Г.В. // Известия Санкт-Петербургской лесотехнической академии. 2021. № 237. С. 97-108.
20. Sinclair W.T., Morman J.D., Ennos R.A. *Molecular Ecology*. 1999. No 8, pp. 83-88.
21. Soranzo N., Alia R., Provan J., Powell W. // *Molecular Ecology*. 2000. Vol.9, pp. 1205-1211.
22. Падутов В.Е., Каган Д.И., Ивановская С.И. // Доклады Национальной академии наук Беларуси. 2021. Т. 65. № 1. С. 87-95.
23. Gonzalez-Martinez S.C., Mariette S., Ribeiro M.M., Burban C., Raffin A., Chambel M.R., M. Ribeiro C.A., Aguiar A., Plomion C., Alí'a R., Gil L., Vendramin G.G., Kremer A. // *Forest Ecology and Management*. 2004. Vol.197, pp. 103-115.
24. Burban C., Petit R.J. // *Molecular Ecology*. 2003. No 12, pp. 1487-1495.
25. Тихонова И.В., Экарт А.К., Зацепина К.Г., Кравченко А.Н. // Сибирский лесной журнал. 2019. № 5. С. 70-80.
26. Семериков В.Л., Семерикова С.А., Дымшакова О.С. Зацепина К.Г. // Генетика. 2014. Т. 50. № 6. С. 660-669.
27. Aagaard J.E., Krutovsky K.V., Strauss S.N. // *Heredity*. 1998. Vol. 81, pp. 69-78.
28. Mosseler A., Egger K.N., Hughes G.A. // *Canad. J. Forest Res.* 1992, Vol. 22, pp. 1332-1337.
29. De Verno L.L., Mosseler A. // *Canad. J. Forest Res.* 1997. V.27. No 8, pp. 1316-1320.
30. Fowler D.P., Morris R.W. // *Canad. J. Forest Res.* 1977. Vol.7, pp. 343-347.
31. Copes D.L. // *Canad. J. Forest Res.* 1981. Vol.11, pp. 451-453.
32. Glaubitz J.C., El-Kassaby Y.A., Carlson J.E. // *Canad. J. Forest Res.* 2000. Vol.30. No 3, pp. 379-389.
33. Semerikov V.L., Semerikov L.F., Lascoux M. // *Heredity*. 1999. Vol.82, pp. 193-204.
34. Isabel N., Beaulieu J., Theriault P., J. Bousquet. // *Molecular Ecology*. 2003. Vol.8. No 3, pp. 477-483.
35. Degen B., Streiff R., Ziegenhagen B. // *Heredity*. 1999. Vol. 83, pp. 567-603.
36. Габитова А.А. Дисс. канд.биол. наук. Уфа, 2012, 19 с.
37. Petit R.J., Wagner D.B., Kremer A. // *Annales des sciences forestières*. 1993. Vol.50, pp. 41-47.
38. Bacilieri R., Roussel G., Ducousso A. // *Annales des sciences forestières*. 1993. Vol. 50, pp. 122-127.
39. Wittermore A.T., Schaal B.A. // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1991. Vol. 88, pp. 2540-2544.
40. Kremer A., Petit R.J. // *Annales des Sciences Forestières*. 1993. Vol.50, pp. 186-202.
41. Pettenkofer T., Finkeldey R., Müller M., Krutovsky K.V., Vornam B., Leinemann L., Gailing O. // *European Journal of Forest Research*. 2020. Vol. 139. No 2. P. 321-331.
42. Семерикова С.А., Исаков И.Ю., Семериков В.Л. // Генетика. 2021. Т. 57. № 1. С. 56-71.
43. Degen B., Yanbaev R., Yanbaev Y. // *Silvae Genetica*. 2019. V. 68. № 1. P. 111-115.
44. Яковлев И.А., Гемори Д., Пауле Л. // Генетика. 1999. Т.35. № 7. С.925-932.
45. Яковлев И.А., Клейншмидт И. // Генетика. 2002. Т. 38. № 2. С. 148-155.
46. Габитова А.А., Янбаев Р.Ю., Редькина Н.Н. // Вестник Башкирского университета. 2015. Т. 20. № 3. С. 854-856.
47. Янбаев Р.Ю. // Вестник Башкирского университета. 2016. № 4. С. 943-948.
48. Янбаев Р.Ю., Габитова А.А., Султанова Р.Р., Боронникова С.В., Янбаев Ю.А. // Известия Оренбургского гос. ун-та. 2017. В.63. № 1. С.220-222.
49. Muller-Stark G., Herzog S., Hattemer H.H. // *Annales des sciences forestières*. 1993. Vol.50. Suppl.1, pp. 223-244.
50. Князева С.Г., Хантемирова Е.В. // «Сохранение лесных генетических ресурсов Сибири», сборник трудов 3-го международного совещания, 23-29 августа 2011 г., Красноярск, 2011, С. 175-177.
51. Мудрик Е. А., Полякова Т. А., Шатохина А. В. Бондаренко Г.Н., Политов Д.В. // Генетика. 2015. Т. 51. № 10. С. 1117-1125.
52. Видякин А.И. // Экология. 2001. № 3. С. 197-202.
53. Видякин А.И. Дисс. докт. биол. наук. Екатеринбург, 2004, 48 с.

54. Видякин А.И., Боронникова С.В., Пришнинская Я.В. // «Сохранение лесных генетических ресурсов Сибири», сборник трудов 4-го международного совещания 24-29 августа 2015 г., Барнаул, 2015, с.35-37.
55. Баранов О.Ю., Балюцкас В., Юшкаускайте А., Пантелеев С.В., Падутов В.Е. // «Сохранение лесных генетических ресурсов Сибири», сборник трудов 4-го международного совещания 24-29 августа 2015 г., Барнаул, 2015, с. 9-11.
56. Калько Г.В. // Труды Санкт-Петербургского научно-исследовательского института лесного хозяйства. 2017. № 1. С. 23-34.
57. Камалова И.И., Петюренко М.Ю., Сердюкова А.П. // «Лесные экосистемы: современные вызовы, состояние, продуктивность и устойчивость», сборник трудов международной научно-практической конференции, 13-15 ноября 2020 года, Гомель, 2020, с. 42-47.
58. Камалова И.И., Ивановская С.И., Клушевская Е.С. // «Биотехнология, генетика, селекция в лесном хозяйстве, мониторинг экосистем», сборник трудов международной научно-техн. конф., 21-22 июня 2017 г., Воронеж, 2017, с.155-160.
59. Падутов В.Е. Генетические ресурсы сосны и ели в Беларуси. Беларусь, Гомель, 2001, 144 с.
60. Янбаев Ю.А., Шигапов З.Х., Бахтиярова Р.М. // «Лесная генетика, селекция и физиология древесных растений», сборник трудов Матер. междуна. симп. 25-30 сент., 1989 г., Воронеж, 1989, с.118-120.
61. Камалова И.И., Внукова Н.И., Камалов Р.М. // «Организация и регуляция физиолого-биохимических процессов» ВГУ. 2009. №11. С. 106-109.
62. Гончаренко Г.Г., Силин А.Е., Падутов В.Е. // Генетика. 1993. Т. 29. № 12. С. 2019-2037.
63. Гончаренко Г.Г., Силин А.Е. Популяционная и эволюционная генетика сосен Восточной Европы и Сибири. Беларусь, 1997, 191 с.
64. Камалова И.И. // «Генетика и селекция - на службу лесу»: Материалы Междуна. н.-пр. конф. 28-29 июня 1996 г., Воронеж, 1996, с. 12-16.
65. Абдуллина Д.С., Петрова И.В. // «Сохранение лесных генетических ресурсов Сибири», сборник трудов 4-го международного совещания 24-29 августа 2015 г., Барнаул, 2015, С.6-7.
66. Егоров Е.В. // «Сохранение лесных генетических ресурсов Сибири», сборник трудов 4-го международного совещания 24-29 августа 2015 г., Барнаул, 2015, с.54-56.
67. Падутов В.Е., Баранов О.Ю., Каган Д.И., Ивановская С.И. // «Сохранение лесных генетических ресурсов Сибири», сборник трудов 4-го международного совещания 24-29 августа 2015 г., Барнаул, 2015, с.129-131.
68. Nowakowska J.A. Microsatellite Markers in Analysis of Forest-Tree Populations / in book Microsatellite Markers, Ed. by I.Y. Abdurakhmonov. 2019. P.95-116.
69. Шейкина О.В., Гладков Ю.Ф., Унженина О.В. // «Сохранение лесных генетических ресурсов Сибири»: сборник трудов 3-го международного совещания. 23-29 августа 2011 г., Красноярск, 2011, с. 189-190.
70. Ильинов А.А., Раевский Б.В. // Сибирский лесной журнал. 2016. № 5. С. 45-54
71. Политов Д.В. Дисс. докт. биол. наук. Москва, 2007, 47 с.
72. Крутовский К.В., Политов Д.В., Алтухов Ю.П. // Генетика. 1989. Т. 25. № 11. С. 2009-2032.
73. Шуваев Д.Н., Кальченко Л.И., Сулименко Т.И. // «Лесные экосистемы бореальной зоны: биоразнообразие, биоэкономика, экологические риски», сборник трудов Всерос. конф. с международным участием, 26-31 августа 2019 г., Красноярск, 2019, с.529-531.
74. Ledig F.T. // Conservations and Management of rare and endangered Plants. 1987, pp. 587-594.
75. Giannini R., Morgante M., Vendramin G.G. // Silvae Genetica. 1991. Vol. 40, pp. 160-166.
76. Ильинов А.А., Раевский Б.В. // Сибирский лесной журнал. 2016. № 5. С. 45-54
77. Fluch S., Burg A., Kopecky D., A. Homolka, Spiess N. Vendramin G. G. // BMC Res Notes. 2011. Vol.4. Article number 401.
78. Наквасина Е. Н., Юдина О.А, Прожерина Н.А Камалова И.И., Минин Н.С. Географические культуры в ген-экологических исследованиях на Европейском Севере. Архангельск, 2008, 308 с.
79. Камалова И.И., Ирошников А.И., Внукова Н.И // «Генетико-селекционные основы улучшения лесов», сборник трудов 1999, с. 21-41.
80. Кравченко А.Н., Ларионова А.Я., Милютин Л.И. Генетический полиморфизм ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.) в Средней Сибири // Генетика. 2008. Т. 44. №1. С.33-45.
81. Экарт А.К., Семериков В.Л., Ларионова А.Я. // «Лесные экосистемы бореальной зоны: биоразнообразие, биоэкономика, экологические риски», сборник трудов Мат. всерос. конф. с международным участием, 26-31 августа 2019 г., Красноярск, 2019, с. 542-543.
82. Боронникова С.В., Пришнинская Я.В., Нечаева Ю.С., Чумак Е.И., Андрианова М.Ю. // «Со-

Камалова И. И., Петюренко М. Ю.

хранение лесных генетических ресурсов Сибири», сборник трудов Материалы 4-го международного совещания, 24-29 августа 2015 г., Барнаул, 2015, с. 23-25.

83. Падутов В.Е., Баранов О.Ю., Силин А.Е. // «Проблемы лесоведения и лесоводства (Институт леса НАН Беларуси – 75 лет)», сборник трудов ИЛ НАН Беларуси, Вып. 63, Гомель, 2005, с.171-173.

84. Каган Д.И., Ивановская С.И., Барсукова М.М. // «Генетика и селекция древесных растений», сборник научных трудов, Воронеж, 2008, с.51-58.

ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии»

Камалова И. И., кандидат биол. наук, ведущий научный сотр., зав. лабораторией биохимии, молекулярной генетики и физиологии растений

Петюренко М.Ю., к. с-х. н., научный сотрудник лаборатории биохимии, молекулярной генетики и физиологии

E-mail: forestgenetic@mail.ru

85. Каган Д.И. Дисс. канд. биол. наук, Гомель, 2012, 20 с.

86. Чохели В.А., Каган Д.И., Вардуни Т.В., Козловский Б.Л., Серета М.М., Капралова О.А., Дмитриев П.А., Падутов В.Е. // *Turczaninowia*, 2018, Vol. 21. No.4. pp. 161-167.

87. Гончаренко Г.Г., Падутов В.Е. Популяционная и эволюционная генетика елей Палеарктики // Гомель: ИЛ НАНБ. –2001. – 197 с.

All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology

Kamalova I. I., PhD., Leading researcher, Head of the Laboratory of Biochemistry, Molecular Genetics and Physiology Laboratory

Peturenko M. Yu., PhD., Researcher of the Biochemistry, Molecular Genetics and Physiology Laboratory

E-mail: forestgenetic@mail.ru

USE OF DIFFERENT TYPES OF MOLECULAR MARKERS TO STUDY THE VARIABILITY OF FOREST TREE SPECIES

I. I. Kamalova, M. Yu. Peturenko

All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology

Abstract. The review article presents the experience of high genetic variability of the main forest-forming species of forest tree species of Scotch pine (*Pinus sylvestris* L.), Siberian pine (*Pinus sibirica*), English oak (*Quercus robur* L.), Siberian larch (*Larix sibirica* Ledeb.), spruce European and Siberian (*Picea abies* (L.) Karst., *Picea obovata* Ledeb.) using molecular and classical biochemical methods using the obtained information to detect forest reproduction. The effectiveness of complex application to the assessment of genetic diversity using various types of markers is shown: isozyme, microsatellites (SSR), DNA markers, organelles, RAPD markers, etc. An analysis of the information showed that the estimates of gene diversity at the intrapopulation level, obtained using different markers, can often differ. For example, for Scotch pine (*Pinus flexilis*), differences in estimates of the level of population differentiation obtained using isozyme, RAPD markers, and DNA markers of organelles are shown. In English oak, SSR markers showed greater differentiation in comparison with isozyme. The article presents data showing the presence of significant differences in the level of polymorphism in loci belonging to the same type of molecular markers. In most detail, with the involvement of a large number of literary sources, the values of the parameters of genetic variability between different types of markers are considered, which differ between individual species by 2 or more times based on both types of loci. For example, the expected heterozygosity (H_e) in *Pinus sylvestris* L. is twice as high as that in *Pinus sibirica*, both according to the assessment based on isozyme and on the basis of microsatellite loci. In these types of markers, and within species, there is also a wide range of variation in the main genetic parameters. At the same time, the trend of higher variability estimates calculated from microsatellite loci remains. An analysis of literature sources shows that, as a rule, the estimates obtained on the basis of SSR loci are twice or more times higher than those based on isozyme analysis. It is shown that, on the one hand, the results of comparing genetic variability based on different types of molecular markers can be ambiguous, on the other hand, they can complement the genetic variability of populations, which was not previously available when using isozyme markers.

Keywords: isozyme markers, microsatellite markers, mitochondrial DNA markers, forest genetics, population structure of species, *Pinus sylvestris* L., *Pinus sibirica*, *Quercus robur* L., *Larix sibirica* Ledeb., *Picea abies* (L.) Karst., *Picea obovata* Ledeb.

REFERENCES

1. Krutovskij K.V. Genetika, 2006, Vol. 42, No. 10, pp. 1088-1100.
2. Krutovskij K.V. Sibirskij lesnoj zhurnal, 2014, Vol. 4, pp. 11-15.
3. Miljutin L.I., Muratova E.N., Larionova A.Ja. Sibirskij lesnoj zhurnal, 2018, Vol.1, pp. 3-15.
4. Kamalova I.I. Metodicheskie ukazaniya dlja identifikacii klonov sosny obyknovvennoj s ispol'zovaniem gen-fermentnyh markerov. Voronezh, 2001, 24 s.
5. Padutov V.E. Metody molekulyarno-geneticheskogo analiza. Minsk, Junipol, 2007, 176 s.
6. Skroppa T. EUFORGEN Technical Guidelines for genetic conservation and use for Norway spruce (*Picea abies*). Rome, Italy, 2003, 6 p.
7. Mátyás C., Ackzell L., Samuel C.J.A. EUFORGEN Technical Guidelines for genetic conservation and use for Scots pine (*Pinus sylvestris*), Rome, Italy, 2004, 6 p.
8. Ducouso A., Bordacs S. EUFORGEN Technical Guidelines for genetic conservation and use for pedunculate and sessile oaks (*Quercus robur* and *Q. petraea*), Rome. Italy, 2004, 6 p.
9. Vendramin G.G., Anzidei M., Madaghiele A., Sperisen C., Bucciet G., Genome, 2000, Vol. 43, pp. 68-78.
10. Lagercrantz U., Ryman N., Evolution, 1990, Vol. 44, pp. 38-53.
11. Hamrick J.L., Godt M.J.W., Sherman-Broyes S.L., New Forests, 1992, Vol.6, pp. 95-124.
12. Sperisen C., Büchler U., Gugerli F., Matyas G., Geburek T., Vendramin G.G., Molecular Ecology, 2001, Vol.10, pp. 257-263.
13. Scotti I., Vendramin G.G., Matteotti L.S., Scarponi C., Sari-Gorla M., Binelli G., Molecular Ecology, 2000, Vol. 9, pp. 699-708.
14. Bucci G., Vendramin G.G., Molecular Ecology, 2000, Vol.9, pp. 923-934.
15. Giannini R., Vendramin G.G. «Genetic diversity studies of *Picea abies* in Italy», Conifers Network, Report of First Meeting 5-7 March 2000, Brdo Kranj, Slovenia, 2001, pp. 13-16.
16. Padutov V.E., Kagan D.I., Ivanovskaja S.I. Doklady Nacional'noj akademii nauk Belarusi, 2021, Vol. 65, No. 4, pp. 439-447.
17. Jekart A.K., Semerikova S.A., Semerikov V.L. Sibirskij lesnoj zhurnal, 2014, Vol. 4, pp. 84-91.
18. Jekart A.K., Semerikova S.A., Semerikov V.L. Genetika, 2016, Vol. 52, No. 3, pp. 311-315.
19. Volkov V.A., Kal'ko G.V. Izvestija Sankt-Peterburgskoj lesotekhnicheskoy akademii, 2021, Vol. 237, pp. 97-108.
20. Sinclair W.T., Morman J.D., Ennos R.A., Molecular Ecology, 1999, No. 8, pp. 83-88.
21. Soranzo N., Alia R., Provan J., Powell W., Molecular Ecology, 2000, Vol.9, pp.1205-1211.
22. Padutov V.E., Kagan D.I., Ivanovskaja S.I. Doklady Nacional'noj akademii nauk Belarusi, 2021, Vol. 65, No. 1. pp. 87-95.
23. Gonzalez-Martinez S.C., Mariette S., Ribeiro M.M., Burban C., Raffin A., Chambel M.R., M. Ribeiro C.A., Aguiar A., Plomion C., Ali'a R., Gil L., Vendramin G.G., Kremer A., Forest Ecology and Management, 2004, Vol. 197, pp.103-115.
24. Burban C., Petit R.J., Molecular Ecology, 2003, No.12, pp.1487-1495.
25. Tihonova I.V., Jekart A.K., Zacepina K.G., Kravchenko A.N. Sibirskij lesnoj zhurnal, 2019, Vol.5, pp. 70-80.
26. Semerikov V.L., Semerikova S.A., Dymshakova O.S. Zacepina K.G. Genetika, 2014, Vol. 50, No. 6, pp. 660-669.
27. Aagaard J.E., Krutovsky K.V., Strauss S.N., Heredity, 1998, Vol. 81, pp. 69-78.
28. Mosseler A., Egger K.N., Hughes G.A., Canad. J. Forest Res., 1992, Vol. 22, pp. 1332-1337.
29. De Verno L.L., Mosseler A., Canad. J. Forest Res., 1997, Vol. 27, No. 8, pp. 1316-1320.
30. Fowler D.P., Morris R.W., Canad. J. Forest Res., 1977, Vol. 7, pp. 343-347.
31. Copes D.L., Canad. J. Forest Res., 1981, Vol.11, pp. 451-453.
32. Glaubitz J.C., El-Kassaby Y.A., Carlson J.E., Canad. J. Forest Res., 2000, Vol. 30, No.3, pp. 379-389.
33. Semerikov V.L., Semerikov L.F., Lascoux M., Heredity, 1999, Vol. 82, pp. 193-204.
34. Isabel N., Beaulieu J., Theriault P., J. Bousquet, Molecular Ecology, 2003, Vol. 8, No.3, pp. 477-483.
35. Degen B., Streiff R., Ziegenhagen B., Heredity, 1999, Vol. 83, pp. 567-603.
36. Gabitova A.A. Diss. kand.biol. nauk. Ufa, 2012, 19 p.
37. Petit R.J., Wagner D.B., Kremer A., Annales des sciences forestières, 1993, Vol. 50, pp. 41-47.

38. Bacilieri R., Roussel G., Ducouso A., *Annales des sciences forestières*, 1993, Vol. 50, pp. 122-127.
39. Wittemore A.T., Schaal B.A., *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1991, Vol. 88, pp. 2540-2544.
40. Kremer A., Petit R.J., *Annales des Sciences Forestières*, 1993, Vol. 50, pp. 186-202.
41. Pettenkofer T., Finkeldey R., Müller M., Krutovsky K.V., Vornam B., Leinemann L., Gailing O. // *European Journal of Forest Research*, 2020, Vol. 139, No 2, pp. 321-331.
42. Semerikova S.A., Isakov I.Ju., Semerikov V.L. // *Genetika*, 2021, Vol. 57, No. 1, pp. 56-71.
43. Degen B., Yanbaev R., Yanbaev Y. // *Silvae Genetica*, 2019, Vol. 68, No.1, pp. 111-115.
44. Jakovlev I.A., Gemori D., Paule L., *Genetika*, 1999, Vol. 35, No. 7, pp. 925-932.
45. Jakovlev I.A., Klejnshmidt I., *Genetika*, 2002. Vol. 38, No. 2, pp. 148-155.
46. Gabitova A.A., Janbaev R.Ju., Red'kina N.N., *Vestnik Bashkirskogo universiteta*, 2015, Vol. 20, No.3, pp. 854-856.
47. Janbaev R.Ju., *Vestnik Bashkirskogo universiteta*, 2016, No.4, pp. 943-948.
48. Janbaev R.Ju., Gabitova A.A., Sultanova R.R., Boronnikova S.V., Janbaev Ju.A., *Izvestija Orenburgskogo gos. un-ta*, 2017, Vol. 63, No.1, pp. 220-222.
49. Muller-Stark G., Herzog S., Hattemer H.H., *Annales des sciences forestières*, 1993, Vol.50, Suppl.1. pp. 223-244.
50. Knjazeva S.G., Hantemirova E.V. «Sohranenie lesnyh geneticheskikh resursov Sibiri», *sbornik trudov 3-go mezhdunarodnogo soveshhanija*, August 23-29, 2011, Krasnojarsk, 2011, pp. 175-177.
51. Mudrik E. A., Poljakova T. A., Shatohina A. V. Bondarenko G.N., Politov D.V., *Genetika*, 2015, Vol. 51, No.10, pp. 1117-1125.
52. Vidjakin A.I., *Jekologija*, 2001, No.3, pp. 197-202.
53. Vidjakin A.I. *Diss. dokt .biol. nauk. Ekaterinburg*, 2004, 48 p
54. Vidjakin A.I., Boronnikova S.V., Prishnivskaja Ja.V. «Sohranenie lesnyh geneticheskikh resursov Sibiri», *sbornik trudov 4-go mezhdunarodnogo soveshhanija*, August 24-29, 2015, Barnaul, 2015, pp. 35-37.
55. Baranov O.Ju., Baljuckas V., Jushkauskajte A., Panteleev S.V., Padutov V.E. «Sohranenie lesnyh geneticheskikh resursov Sibiri», *sbornik trudov 4-go mezhdunarodnogo soveshhanija*, August 24-29, 2015, Barnaul, 2015, pp. 9-11.
56. Kal'ko G.V., *Trudy Sankt-Peterburgskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta lesnogo hozjajstva*, 2017, No.1, pp.23-34.
57. Kamalova I.I., Peturenko M.Ju., Serdjukova A.P. «Lesnye jekosistemy: sovremennye vyzovy, sostojanie, produktivnost' i ustojchivost'», *sbornik trudov mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoj konferencii*, November 13-15, 2020, Gomel', 2020, pp. 42-47.
58. Kamalova I.I., Ivanovskaja S.I., Klushevskaja E.S. «Biotehnologija, genetika, selekcija v lesnom hozjajstve, monitoring jekosistem», *sbornik trudov mezhdunarodnoj nauchno-tehn. konf.*, June 21-22, 2017, Voronezh, 2017, pp. 155-160.
59. Padutov V.E. *Geneticheskie resursy sosny i eli v Belarusi*. Belarus', Gomel', 2001, 144 p.
60. Janbaev Ju.A., Shigapov Z.H., Bahtijarova R.M. «Lesnaja genetika, selekcija i fiziologija drevesnyh rastenij», *sbornik trudov Mater. mezhdun. simp.* September 25-30, 1989, Voronezh, 1989, pp. 118-120.
61. Kamalova I.I., Vnukova N.I., Kamalov R.M. «Organizacija i reguljacija fiziologo-biohimicheskikh processov», *VGU*, 2009, No.11, pp.106-109.
62. Goncharenko G.G., Silin A.E., Padutov V.E., *Genetika*, 1993, Vol. 29, No.12, pp. 2019-2037.
63. Goncharenko G.G., Silin A.E. *Populjacionnaja i jevoljucionnaja genetika sosen Vostochnoj Evropy i Sibiri*. Belarus', 1997, 191 p.
64. Kamalova, I.I. «Genetika i selekcija - na sluzhbu lesu»: *Materialy Mezhdun. n.-pr. konf.*, June 28-29, 1996, Voronezh, 1997, pp.12-16.
65. Abdullina D.S., Petrova I.V. «Sohranenie lesnyh geneticheskikh resursov Sibiri»: *sbornik trudov 4-go mezhdunarodnogo soveshhanija*, August 24-29, 2015, Barnaul, 2015, pp. 6-7.
66. Egorov E.V. «Sohranenie lesnyh geneticheskikh resursov Sibiri» *sbornik trudov 4-go mezhdunarodnogo soveshhanija* August 24-29, 2015, Barnaul, 2015, pp. 54-56.
67. Padutov V.E., Baranov O.Ju., Kagan D.I., Ivanovskaja S.I. «Sohranenie lesnyh geneticheskikh resursov Sibiri», *sbornik trudov 4-go mezhdunarodnogo soveshhanija*, August 24-29, 2015, Barnaul, 2015, pp. 129-131.
68. Nowakowska J.A. *Microsatellite Markers in Analysis of Forest-Tree Populations* / in book *Microsatellite Markers*, Ed. by I.Y. Abdurakhmonov, 2019, pp. 95-116.
69. Shejkina O.V., Gladkov Ju.F., Unzhenina O.V. «Sohranenie lesnyh geneticheskikh resursov Sibiri»: *sbornik trudov 3-go mezhdunarodnogo soveshhanija*,

August 23-29, 2011, Krasnojarsk, 2011, pp. 189-190.

70. Il'inov A.A., Raevskij B.V., Sibirskij lesnoj zhurnal, 2016, No. 5, pp. 45-54.

71. Politov D.V. Diss. dokt. biol. nauk. Moskva, 2007, 47 p.

72. Krutovskij K.V., Politov D.V., Altuhov Ju.P., Genetika, 1989, Vol. 25, No.11, pp. 2009-2032.

73. Shuvaev D.N., Kal'chenko L.I., Sulimenko T.I. «Lesnye jekosistemy boreal'noj zony: bioraznoobrazie, biojekonomika, jekologicheskie riski», sbornik trudov Vserossijskoj konferencii s mezhdunarodnym uchastiem, August 26-31, 2019, Krasnojarsk, 2019, pp.529-531.

74. Ledig F.T., Conservations and Management of rare and endangered Plants, 1987, pp. 587-594.

75. Giannini R., Morgante M., Vendramin G.G., Silvae Genetica, 1991, Vol. 40, pp.160-166.

76. Il'inov A.A., Raevskij B.V., Sibirskij lesnoj zhurnal, 2016, No. 5, pp.45-54.

77. Fluch S., Burg A., Kopecky D., A. Homolka, Spiess N. Vendramin G. G., BMC Res Notes, 2011, No.4, Article number 401.

78. Nakvasina E. N., Judina O.A, Prozherina N.A Kamalova I.I., Minin N.S. Geograficheskie kul'tury v gen-jekologicheskikh issledovaniyah na Evropejskom Severe, Arhangel'sk, 2008, 308 p.

79. Kamalova I.I., Iroshnikov A.I., Vnukova N.I. «Genetiko-selekcionnye osnovy uluchsheniya lesov», sbornik trudov, 1999, pp. 21-41.

80. Kravchenko A.N., Larionova A.Ja., Miljutin L.I., Genetika, 2008, Vol. 44, No. 1, pp.33-45.

81. Jekart A.K., Semerikov V.L., Larionova A.Ja. «Lesnye jekosistemy boreal'noj zony: bioraznoobrazie, biojekonomika, jekologicheskie riski»: Materialy Vserossijskoj konferencii s mezhdunarodnym uchastiem, August 26-31, 2019, Krasnojarsk, 2019, pp. 542-545.

82. Boronnikova S.V., Prishnivskaja Ja.V., Nechaeva Ju.S. «Sohranenie lesnyh geneticheskikh resursov Sibiri»: Materialy 4-go mezhdunarodnogo soveshhanija, August 24-29, 2015, Krasnojarsk, 2015, pp.23-25.

83. Padutov V.E., Baranov O.Ju., Silin A.E. «Problemy lesovedeniya i lesovodstva»: Sb. nauch. tr., Belarusi, 2005, pp.171-173.

84. Kagan D.I., Ivanovskaja S.I., Barsukova M.M. «Genetika i selekcija drevesnyh rastenij», sb. nauch. tr. Voronezh: NIILGiSV, 2008, pp.51-58.

85. Kagan D.I. Diss. cand. biol. Nauk. Gomel', 2012, 20 p.

86. Choheli V.A., Kagan D.I., Varduni T.V. // Turczaninowia, 2018, Vol. 21, No.4, pp. 161-167.

87. Goncharenko G.G., Padutov V.E. Populjacionnaja i jevoljucionnaja genetika elej Palearktiki, Gomel, IL NANB, 2001, 197 p.