

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЛИСТВЕННИЦЫ СУКАЧЕВА (*Larix Sukaczewii* Djil.) В ГЕОГРАФИЧЕСКИХ КУЛЬТУРАХ ПОД ВОРОНЕЖЕМ

инженер, аспирант **Е. Е. Кулаков**^{1,4}

кандидат сельскохозяйственных наук, директор филиала **В. А. Сиволапов**²

и. о. зав. отделом мониторинга состояния лесных генетических ресурсов **Е. А. Воробьева**³

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент **А. И. Сиволапов**⁴

1, 2, 3 – ФБУ «Рослесозащита» – «ЦЗЛ Воронежской области», г. Воронеж, Российская Федерация

4 – ФГБОУ ВО «Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г.Ф. Морозова»,
г. Воронеж, Российская Федерация

Сведения о генетической структуре популяций лесных древесных растений являются основой для оценки генетического потенциала вида. Особенно актуальны эти исследования для видов, имеющих хозяйственно ценное значение и занимающих обширные ареалы, как лиственница. Точные сведения о генетической структуре популяций, уровне их генетической изменчивости, характере ее распределения в пределах ареала позволят назначить мероприятия, направленные на сохранение генетических ресурсов вида для использования его в экономике страны и воспроизводстве. В ходе анализа электрофоретических спектров продуктов амплификации шести ядерных микросателлитных локусов (*bcLK056*, *bcLK066*, *bcLK224*, *bcLK232*, *bcLK235*, *bcLK260*) выявлены 42 аллельных варианта. Пять проанализированных локусов оказались полиморфными, локус *bcLK066* – мономорфным. Дана оценка генетического полиморфизма популяционной структуры лесных культур лиственницы Сукачева из семян Свердловской области (55–60⁰ с. ш.) микросателлитным анализом по 6 парам праймеров. Число амплифицированных фрагментов ДНК в общей выборке растений варьировалось в зависимости от праймера. Для праймеров *bcLK235* и *bcLK056* характерно 14 амплифицированных фрагментов, *bcLK224* показал 5 аллелей, *bcLK232* – 6 аллелей, *bcLK260* и *bcLK066* – 2 и 1 аллель соответственно. Получены показатели генетической изменчивости. Для лиственницы Сукачева наблюдаемое число аллелей на локус (N_A) составляет 5,250. Эффективное число аллелей на локус (N_E) 3,257. Рассчитан индекс Шеннона (I), который составил 0,913. Показан средний уровень генетического разнообразия биотипов в лесных культурах лиственницы Сукачева.

Ключевые слова: молекулярно-генетические методы, лиственница Сукачева, наблюдаемое число аллелей, эффективное число аллелей

GENETIC VARIABILITY OF SUKACHEV'S LARCH (*LARIX SUKACZEWII* DJIL.) IN GEOGRAPHICAL CULTURES UNDER VORONEZH

Engineer, Post-graduate student **E. E. Kulakov**^{1,4}

PhD (Agriculture), head of the branch **V. A. Sivolapov**²

Executive head of the Department of monitoring the state of forest genetic resources **E. A. Vorobyeva**³

PhD (Agriculture), Associate Professor **A. I. Sivolapov**⁴

1, 2, 3 – FBU "Roslezaschita" – "CFP of Voronezh region", Voronezh, Russian Federation

4 – FSBEI HE «Voronezh State University of Forestry and Technologies named after G.F. Morozov»,
Voronezh, Russian Federation

Abstract

Information on the genetic structure of populations of forest tree plants is the basis for assessing the genetic potential of the species. These studies are particularly relevant for economically valuable species and species occupying extensive areas, like larch. Accurate information about the genetic structure of populations, the level of their genetic

variability, the nature of its distribution within the range allows us to designate measures aimed at preserving the genetic resources of the species for the use in the country's economy and reproduction. During the analysis of electrophoretic spectra of the products of amplification of six nuclear microsatellite loci (*bcLK056*, *bcLK066*, *bcLK224*, *bcLK232*, *bcLK235*, *bcLK260*) 42 allelic variants have been identified. The five analyzed loci are polymorphic, the locus *bcLK066* is monomorphic. An estimation of the genetic polymorphism of the population structure of forest plantations of Sukachev's larch from the seeds of the Sverdlovsk region (55-600 N.) by microsatellite analysis for 6 pairs of primers is given. The number of amplified DNA fragments in the total sample of plants has varied depending on the primer. *BcLK235* u *bcLK056* primers are characterized by 14 amplified fragments, *bcLK224* has showed 5 alleles, *bcLK232* 6 alleles, *bcLK260* and *bcLK066* 2 and 1 alleles respectively. The indicators of genetic variability have been got. For Sukachev's larch, the observed number of alleles per locus (N_A) is 5,250. Effective number of alleles per locus (N_E) is 3,257. The Shannon index (I) has been calculated, which has been 0.913. The average level of genetic diversity of biotypes in forest plantations of Sukachev's larch has been calculated.

Keywords: molecular and genetic methods, Sukachev's larch, observed number of alleles, effective number of alleles

Введение

Генетическое разнообразие видов и популяций можно изучать по изменчивости их морфологических признаков, хотя это малоэффективно у древесных, так как по фенотипу далеко не всегда можно судить о генотипе. Использование гибридологического анализа и испытание отобранных деревьев по потомству затруднено в связи с биологическими особенностями древесных растений. Более эффективным для изучения генетического разнообразия оказалось применение молекулярных маркеров ДНК.

Ранее изучение генетического разнообразия и структуры рода *Larix* решалось с помощью изоферментных маркеров [2, 6, 7, 11, 16, 18 и др.]. Для количественной оценки генетического разнообразия популяций данных изоферментных маркеров мало: в силу специфики данного класса маркеров возможно изучить только 1-2 % от общей части генома, а полученные показатели генетической изменчивости занижены.

В последние десятилетия исследование генетической структуры популяций рода *Larix* проводят с помощью методов, основанных на полимеразной цепной реакции. Наиболее перспективным методом является ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) (Zietkiewicz et al., 1994) анализ. Микросателлитные локусы – это короткие фрагменты ДНК (2-10 нуклеотидов) с повторяющимися последовательностями, которые называют мотивами. Высокий уровень полиморфизма микросателлитов, от-

носителю равномерное их распределение в геноме, широкая представленность сделала их чрезвычайно популярными и широко используемыми в исследовании популяций. Поэтому для изучения генетического разнообразия лиственницы Сукачева нами применялся ISSR-анализ.

Объекты и методика

Объектом молекулярно-генетических исследований послужили биотипы лиственницы Сукачева в географических культурах, семена из Свердловской области 55-60⁰ с. ш. в Учебно-опытном лесхозе ВГЛТУ им. Г.Ф. Морозова.

Участок коллекционно-географических культур лиственницы заложен весной 1955 года Р.И. Дерюжкиным под руководством М.М. Вересина. Ранее участок находился под дубовым древостоем, который в 1944 году был вырублен. В 1951-1953 годах проводилась корчевка пней. Посадка культур осуществлена 2-летними сеянцами в период 20-25 апреля 1955 года под меч Колесова. Рельеф участка ровный. Почвы серые лесные суглинистые.

Всего было высажено 99 вариантов лиственницы на секциях с размещением 1,5 × 0,5 м, среди которых 53 экотипа лиственницы сибирской, 26 – лиственницы Сукачева, 2 экотипа лиственницы европейской и 1 экотип лиственницы гибридной (сибирская × японская), семена из Московской области и др. Образцы лиственницы на участке объединены по районам и высажены на секциях разного

размера. По границам участка и в центре его высажена рябина обыкновенная, между секциями – клен татарский [1].

Молекулярно-генетический анализ проводился в несколько этапов: выделение ДНК из растений, амплификация маркерных участков и статистическая обработка полученных результатов.

Выделение ДНК из образцов хвои лиственницы Сукачева было выполнено СТАВ-методом [10].

Основой ISSR-метода, или анализа полиморфных участков ДНК между микросателлитами, является ПЦР (полимеразная цепная реакция) с одним или несколькими праймерами длиной в 15-24 нуклеотида (Kalendar et al.). Такие праймеры амплифицируют фрагменты ДНК, которые находятся между двумя достаточно близко расположенными микросателлитными повторами [14, 15]. Постановка ПЦР для амплификации маркерных участков проводилась праймерами *bcLK056*, *bcLK066*, *bcLK224* и *bcLK232*, *bcLK235* и *bcLK260*. Характеристика микросателлитных локусов представлена в табл. 1.

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в тонкостенных полипропиленовых пробирках объемом 0,2 мл. В ходе исследований был использован следующий состав реакционной

смеси (в нескольких вариантах и повторностях) на 1 образец:

- 1) 10 × ПЦР буфер (100мМ Трис НСl, рН 9,2, 250мМ КСl) – 2,5 мкл;
- 2) 25 мМ MgCl₂ – 2,5 мкл;
- 3) mQ – 16 мкл;
- 4) смесь 5 мМ нуклеотидтрифосфатов – 0,25 мкл, 0,5 мкл, 1 мкл;
- 5) праймер (прямой) 10 (мкм), 50 (мкм) и 100 (мкм) – 0,5 мкл, 0,75 мкл, 1 мкл;
- 6) Праймер (обратный) 10 (мкм), 50 (мкм) и 100 (мкм) – 0,5 мкл;
- 7) Taq ДНК-полимераза (1 ед./мкл) – 0,2 мкл, 1 мкл;
- 8) образец ДНК (40 нг/мкл) – 1 мкл.

После окончания ПЦР проводили электрофоретическое разделение в вертикальных блоках 6 % ПААГ в трис-ЭДТА-боратной буферной системе. После электрофореза гели окрашивали в растворе бромистого этидия. В качестве стандартного маркера длины использовали ДНК плазмиды рBR322 *E. coli*, обработанную эндонуклеазой рестрикции *HpaII*. Обработку полученных данных производили в программе GenAlEx 6.2 (Peakall, Smouse, 2006) [4, 9, 17].

Таблица 1

Характеристика микросателлитных локусов, отобранных для анализа генетической изменчивости лиственницы в географических культурах

Локус	Мотив	Последовательность	Т °С отжига	Размеры ампликона, п. н.	Источник
<i>bcLK056</i>	(AG) ₂₀	F: ATGGGCTAAGGTATGTTTTACG R: TGCCAACATCTATACCAAGTCT	Touchdown 63-53°C	142-196	Хедрик Ф., [12]
<i>bcLK066</i>	(TG) ₁₂	F: GCAACCGACAATGATTACATAG R: СТААААСТГААСТТТГСТСААТ		143-157	
<i>bcLK224</i>	(AG) ₁₇	F: GAGAGGCCACTACTATTATTAC R: ATGCGTTCCTTCATTCCTCT		128-148	
<i>bcLK232</i>	(AG) ₁₉	F: TGTTGCTGGGTTGTTGTTAGA R: GGGTAATAGTCCAGTCTTTG		133-149	
<i>BcLK260</i>	(TG) ₁₄ (AG) ₉	F: CTCCATAAGGGGCATCACAT R: TGGGCTCAAGTTTGGACATTA		172-220	
<i>bcLK235</i>	(TC) ₉ (AC) ₂ AG(AC) ₁₄	F: TTCACCTGTGATCCTAGAGTTAGA R: AACCCCTAACCATATAAATATCCA	58 °С		

Результаты и обсуждение

По данным молекулярно-генетического анализа интродуцентов лиственницы Сукачева, семена из Свердловской области 55-60⁰ с. ш., было установлено, что локусы *bcLK235* и *bcLK056* показывают 14 аллельных вариантов, *bcLK224* показал 5 аллелей, *bcLK232* – 6 аллелей, *bcLK260* и *bcLK066* – 2 и 1 аллеля соответственно. Частоты встречаемости всех 42 аллелей, отражающие генетические структуры, представлены на рис. 1. Среди всех аллелей 42 % аллельных варианта оказались уникальными, которые встречаются только в каком-либо одном локусе. Анализ рисунка показывает, что локусы *bcLK235* и *bcLK056* практически по всем локусам имеют сходную генетическую структуру.

Определение уровня изменчивости и дифференциации в географических культурах лиственницы проводилось на основе ряда показателей [3, 5, 12]. Для этого рассчитаны следующие параметры оценки генетической изменчивости (табл. 3): на-

блюдаемое число аллелей (N_A); эффективное число аллелей (N_E); индекс Шеннона (I).

Результаты анализа основных параметров генетического разнообразия показали, что исследуемые нами географические культуры рода *Larix* существенного различия по их уровню не имеют. Так, наблюдаемое число аллелей на локус (N_A) для интродуцентов лиственницы Сукачева составила 5,25, а эффективное число аллелей на локус (N_E) – 3,257. Несущественные различия в частотах встречаемости аллелей обусловлены географическим районированием экотипов лиственницы. Самая распространенная мера генетической изменчивости для диплоидных особей – это гетерозиготность. Частота гетерозигот является наиболее важным показателем, т. к. каждая гетерозиготная особь несет разные аллели и тем самым показывает наличие изменчивости.

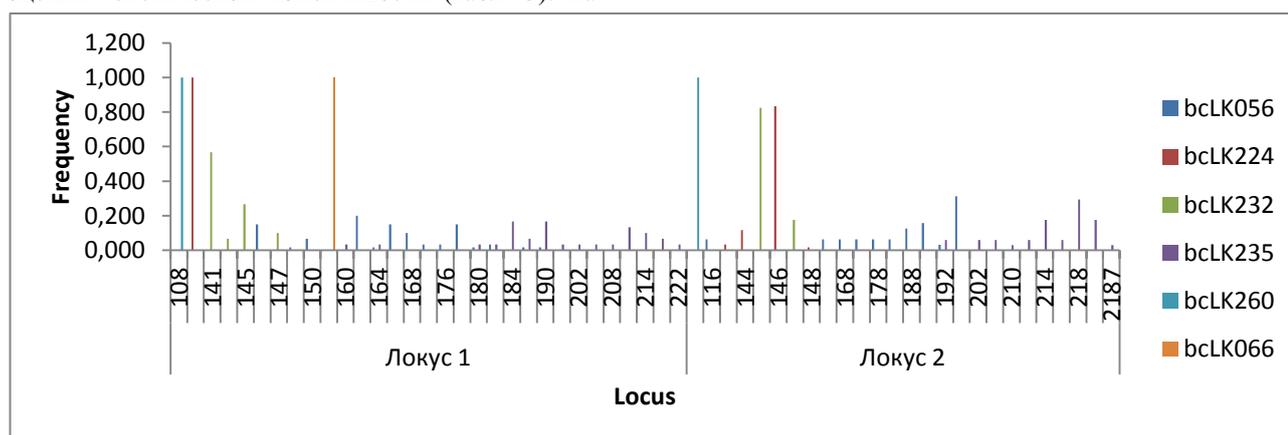


Рис. 1. Частоты аллелей по локусам лиственницы Сукачева в географических культурах

Таблица 2

Показатели генетической изменчивости лиственниц, рассчитанные по результатам микросателлитного анализа

Популяция	Локусы	N	N_A	N_E	I	H_o	H_e	uH_e	F
Лиственница Сукачева	Локус 1	30	6,000	3,856	0,972	0,044	0,394	0,401	0,449
	Локус 2	18	4,500	2,658	0,854	0,031	0,375	0,386	0,725
	Среднее	-	5,25	3,257	0,913	0,037	0,384	0,393	0,587

Примечание: N – количество образцов в исследуемой выборке, N_A – число аллелей на локус, N_E – эффективное число аллелей на локус, H_o – наблюдаемая гетерозиготность, H_e – ожидаемая гетерозиготность, F – индекс фиксации, I – индекс Шеннона.

Микросателлитный анализ показал, что полученные величины наблюдаемой (H_o) и ожидаемой гетерозиготности (H_e) составляют 0,037 и 0,384 соответственно. Обнаруженное снижение доли гетерозигот, в свою очередь, возможно, говорит о пониженной выживаемости растений в изученных популяциях и в целом об уменьшении генетического разнообразия в каждой из популяций лиственницы [8].

Оценка внутри- и межпопуляционного разнообразия была проведена на основе информационного индекса Шеннона [13]. Среднее значение индекса разнообразия Шеннона у биотипов лиственницы Сукачева в географических культурах, рассчитанное по праймерам *bcLK056*, *bcLK066*, *bcLK224* и *bcLK232*, составило 0,913 нит/особь. Полученные данные говорят о низком генетическом разнообразии данного экотипа.

Анализ значений F-статистик Райта показал, что 57,8 % наблюдаемой изменчивости приходится на межпопуляционную (F_{st}). В целом каждое отдельное дерево в изученных выборках в среднем обнаруживает 90%-й дефицит гетерозигот относительно популяции, и около 95 % составляет дефицит гетерозиготных генотипов относительно вида *L. sukaczewii*.

Выводы

1. Анализ шести ISSR-праймеров выявил 42 аллельных варианта, которые полиморфны

($P = 1,000$), кроме локуса *bcLK066*. При дальнейших исследованиях данные фрагменты могут быть использованы при составлении молекулярно-генетической формулы по предложенной С.В. Боронниковой методике молекулярно-генетической идентификации и паспортизации растений [5, 10].

2. Сопоставленные значения наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности показали дефицит гетерозиготных генотипов по всем изученным микросателлитным локусам.

3. Установленные значения основных показателей генетического полиморфизма свидетельствуют о низком и среднем уровнях генетического разнообразия выборок.

4. В целом выявленные значения основных показателей генетического полиморфизма свидетельствуют о невысоком уровне генетического разнообразия лиственницы Сукачева в географических культурах на территории Учебно-опытного лесхоза ВГЛТУ. Это можно объяснить тем, что для исследования из 26 экотипов лиственницы Сукачева, представленных в географических культурах, изучены только три; все из Свердловской области (Новолялинское лесничество, Исковский и Висимский лесхозы). Кроме того, у лиственницы пыльца не имеет воздушных мешков, что в большей степени приводит к самоопылению и снижению генетического полиморфизма.

Таблица 3

Значения показателей F-статистик Райта

Локус	Fis	Fit	Fst
Локус 1	0,887	0,951	0,561
Локус 2	0,916	0,966	0,594
Среднее	0,902±0,015	0,958±0,008	0,578±0,16

Библиографический список

1. Дерюжкин, Р. И. Биологические основы семеноводства и культуры лиственницы в Центральной лесостепи [Текст] : дис. д-ра с.-х. наук: 06.560 / Р. И. Дерюжкин. – Воронеж, 1970. – С. 1-30.
2. Ларионова, А. Я. Генетическая изменчивость лиственницы сибирской в Нижнем Приангарье [Текст] / А. Я. Ларионова, Н. В. Яхнева (Орешкова), Н. А. Кузьмина // Лесоведение. – 2003. – № 4. – С. 17-22.
3. Генетика популяций [Текст] / Е. К. Меркурьева [и др.]. – М., 2004. – С. 8-20.
4. Молекулярная генетика [Текст] : учеб.-метод. пособие / под ред. С. В. Боронниковой. – Пермь, 2007. – С. 9-13.

5. Изучение полиморфизма ISSR-маркеров в природных и искусственных популяциях лиственницы [Текст] / Ю. С. Нечаева, С. В. Боронникова, Р. Р. Юсупов, Б. Хайнце // *Фундаментальные исследования*. – 2013. – № 6-6. – С. 1426-1431.
6. Орешкова, Н. В. Аллозимный полиморфизм лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Le-deb.) [Текст] / Н. В. Орешкова, А. Я. Ларионова // *Лесные экосистемы Северо-Восточной Азии и их динамика: материалы междунар. конференции*. – Владивосток, 2006. – С. 220-223.
7. Орешкова, Н. В. Генетическое разнообразие лиственницы сибирской в Ужурской лесостепи (Красноярский край) [Текст] / Н. В. Орешкова, А. Я. Ларионова // *Вестник СВНЦ ДВО РАН*. – 2007. – № 3. – С. 50-55.
8. Орешкова, Н. В. Генетические особенности и морфологическая изменчивость лиственницы сибирской в Алтае-Саянской горной области [Текст] / Н. В. Орешкова, А. П. Барченков // *Вестник КрасГАУ*. – 2010. – № 10. – С. 59-64.
9. Падутов, В. Е. Методы молекулярно-генетического анализа [Текст] / В. Е. Падутов, О. Ю. Баранов, Е. В. Воропаев. – М. : Юнипол, 2007. – 176 с.
10. Программа и Методика по пункту 59. План мероприятий («дорожной карты») «Развитие биотехнологий и генной инженерии», утв. распоряжением Правительства РФ Природопользование от 18 июля 2013 г. № 1247-р. Программа и Методика утверждена ФБУ «Рослесозащита» 12.02.2014 [Текст]. – Пушкино, 2014. – 205 с.
11. Семериков, В. Л. Изучение генетической изменчивости лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ldb.) по изоферментным локусам [Текст] / В. Л. Семериков, А. В. Матвеев // *Генетика*. – 1995. – Т. 31. – № 8. – С. 1107–1113.
12. Хедрик, Ф. Генетика популяций / Ф. Хедрик // *Техносфера*. – 2003 – 592 с.
13. Detection of genetic variation between and within populations of *Gliricidia sepium* and *G. maculata* using RAPD markers [Text] / K. J. Chalmers [et al.] // *Heredity*. – 1992. – V. 69. – P. 465-472.
14. IRAP and REMAP: two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques [Text] / R. Kalendar, T. Grob, M. Regina, F. Suoniemi, A. Schulman // *Theor. Appl. Genet.* – 1999. – Vol. 98. – P. 704-711.
15. Kalendar, R. IRAP and REMAP for retrotransposon-based genotyping and fingerprinting [Text] / R. Kalendar, A. H. Schulman // *Nature Protocols*. – 2006. – № 1(5). – P. 2478-2484.
16. Somaclonal variation of haploid in vitro tissue culture obtained from Siberian larch (*Larix sibirica* Ledeb.) mega gametophytes for whole genome de novo sequencing [Text] / K. V. Krutovsky [et al.] // *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* – 2014. – Vol. 50(5). – P. 655-664.
17. Sambrook, J. Gel electrophoresis of DNA [Text] / J. Sambrook, E. F. Fritsh, T. Manias (eds.). // *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*. – New York : Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA, 1989. – Chapter 6.
18. Semerikov, V. L. Intra- and interspecific allozyme variability in Eurasian *Larix Mill.* species [Text] / V. L. Semerikov, L. F. Semerikov, M. Lascoux // *Heredity*. – 1999. – Vol. 82. – P. 193-204.

References

1. Deryujkin R. I. *Biologicheskie osnovy semenovodstva i kulturi listvennici v Centralnoi lesostepi* [Tekst]. Dis. D-ra s.-h. nauk: 06.560.Voronej, 1970. P. 1-30.
2. Larionova A. Ya., Yahneva (Oreshkova) N.V., Kuzmina N.A. *Geneticheskaya izmenchivost listvennici sibirskoi v Nijnem Priangarie // Lesovedenie*. 2003. № 4. S. 17-22.
3. Merkureva E. K. [et al.]. *Genetika populyacii*. M., 2004. S. 8-20.
4. *Molekulyarnaya genetika: ucheb.- metod. posobie* / ed. S. V. Boronnikova. Perm, 2007. S. 9-13.
5. Nechaeva Yu. S., Boronnikova S. V., Yusupov R. R., Haince B. *Izuchenie polimorfizma ISSR-markerov v prirodnih i iskusstvennih populyacijah listvennici // Fundamentalnie issledovaniya*. 2013. № 6-6. S. 1426-1431.

6. Oreshkova N. V., Larionova A. Ya. *Allozimnii polimorfizm listvennitsi sibirskoi (Larix sibirica Le_deb.)* [Tekst] // *Lesnie ekosistemi Severo-Vostochnoi Azii i ih dinamika: proceedings of international conf.* Vladivostok, 2006. S. 220-223.
7. Oreshkova N. V., Larionova A. Ya. *Geneticheskoe raznoobrazie listvennitsi sibirskoi v Ujurskoi lesostepi (Krasnoyarskii krai)* // *Vestnik SVNC DVO RAN.* 2007. № 3. S. 50-55.
8. Oreshkova N. V., Barchenkov A. P. *Geneticheskie osobennosti i morfologicheskaya izmenchivost listvennitsi sibirskoi v Altae-Sayanskoi gornoj oblasti* // *Vestnik KrasGAU.* 2010. № 10. S. 59-64.
9. Padutov V. E., Baranov O. Yu., Voropaev E. V. *Metodi molekulyarno-geneticheskogo analiza* [Tekst]. M.: Yunipol, 2007. 176 s.
10. *Programma i Metodika po punktu 59. Plan meropriyatii „dorojnoi karti», «Razvitie biotekhnologii i gennoi injenerii», utverjdenogo rasporyajeniem Pravitelstva RF Prirodopolzovanie ot 18 iyulya 2013 g.* № 1247-r. Programma i Metodika utverjdena FBU «Roslesozaschita» 12.02.2014. [Tekst]. Pushkino, 2014. 205 s.
11. Semerikov V. L., Matveev A. V. *Izuchenie geneticheskoi izmenchivosti listvennitsi sibirskoi (Larix sibirica Ldb.) po izofermentnim lokusam* // *Genetika.* 1995. T. 31. № 8. S. 1107-1113.
12. Hedrik F. *Genetika populjacji* // *Tehnosfera.* 2003. 592 s.
13. Chalmers K. J. [et al.] *Detection of genetic variation between and within populations of *Gliricidia sepium* and *G. maculata* using RAPD markers* // *Heredity.* 1992. V. 69. P. 465-472.
14. Kalendar R., Grob T., Regina M., Suoniemi F., Schulman A. *IRAP and REMAP: two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques* // *Theor. Appl. Genet.* 1999. Vol. 98. P. 704-711.
15. Kalendar R., Schulman A. H. *IRAP and REMAP for retrotransposon-based genotyping and fingerprinting* // *Nature Protocols.* 2006. № 1(5). P. 2478-2484.
16. Krutovsky K. V. [et al.]. *Somaclonal variation of haploid in vitro tissue culture obtained from Siberian larch (Larix sibirica Ledeb.) mega gametophytes for whole genome de novo sequencing* // *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 2014. Vol. 50(5). P. 655-664.
17. Sambrook J., Fritsch E. F., Manias T. (eds.). *Gel electrophoresis of DNA* // *Molecular Cloning: a Laboratory Manual.* New York : Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA, 1989. Chapter 6.
18. Semerikov V. L., Semerikov L. F., Lascoux M. *Intra- and interspecific allozyme variability in Eurasian Larix Mill. species* // *Heredity.* 1999. Vol. 82. P. 193-204.

Сведения об авторах:

Кулаков Евгений Евгеньевич – аспирант кафедры лесных культур, селекции и лесомелиорации ФГБОУ ВО «Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г.Ф. Морозова», г. Воронеж, Российская Федерация; инженер филиала ФБУ «Рослесозащита» – «ЦЗЛ Воронежской области», г. Воронеж, Российская Федерация; e-mail: evgenyukulakov@yandex.ru

Сиволопов Владимир Алексеевич – директор филиала ФБУ «Рослесозащита» – «ЦЗЛ Воронежской области», кандидат сельскохозяйственных наук, г. Воронеж, Российская Федерация; e-mail: sivolapovva@rcfh.ru

Воробьева Елена Анатольевна – и. о. начальника отдела мониторинга состояния лесных генетических ресурсов филиала ФБУ «Рослесозащита» – «ЦЗЛ Воронежской области», г. Воронеж, Российская Федерация; e-mail: vorobyeva@rcfh.ru

Сиволопов Алексей Иванович – профессор кафедры лесных культур, селекции и лесомелиорации ФГБОУ ВО «Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г.Ф. Морозова», кандидат сельскохозяйственных наук, доцент, г. Воронеж, Российская Федерация; e-mail: Aleksey-Sivolapov@yandex.ru

Information about authors

Kulakov Evgeny Evgenievich – graduate student of Forest crops, Selection and Afforestation department, Federal State Budget Education Institution of Higher Education «Voronezh State University of Forestry and Technologies named after G. F. Morozov», Voronezh, Russian Federation; Engineer of branch of Federal budget institution "Roslesozashchita" – "Center for forest protection of Voronezh oblast", Voronezh, Russian Federation e-mail: evgenyikulakov@yandex.ru

Sivolapov Vladimir Alekseevich – the Director of branch of Federal budget institution "Roslesozashchita" – "Center for forest protection of Voronezh oblast", PhD (Agricultural), Voronezh, Russian Federation; e-mail: sivolapovva@rcfh.ru

Vorobyova Elena Anatolievna – the acting head of the Department for monitoring the state of forest genetic resources branch of Federal budget institution "roslesozashchita" - "Center for forest protection of Voronezh oblast", PhD (Agricultural), Voronezh, Russian Federation; e-mail: vorobyevaea@rcfh.ru

Sivolapov Aleksey Ivanovich – Professor of Forest crops, Selection and Afforestation department, Federal State Budget Education Institution of Higher Education «Voronezh State University of Forestry and Technologies named after G. F. Morozov», PhD (Agricultural), Associate Professor, Voronezh, Russian Federation; e-mail: Aleksey-Sivolapov@yandex.ru

DOI: 10.12737/article_5ab0dfbc652664.55071475

УДК 631.526

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТРЕХ ТИПОВ ЛЕСНЫХ КУЛЬТУР СОСНЫ КЕДРОВОЙ СИБИРСКОЙ В ТОМСКОЙ ОБЛАСТИ

Аспирант **Пуджа Г.И.**¹

Доктор биологических наук, профессор **Данченко А.М.**¹,

Кандидат биологических наук **Кабанова С.А.**²,

Кандидат географических наук, доцент **Данченко М.А.**¹

1– ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», г. Томск, Российская Федерация

2– ТОО «Казахский научно-исследовательский институт лесного хозяйства и агролесомелиорации», г. Щучинск, Республика Казахстан

В подзоне южной тайги на территории Томской области были заложены пробные площади в лесных культурах под пологом леса, реконструкции малоценных насаждений и последующих культур. Изучены биометрические показатели и произведен сравнительный анализ трех типов культур. Выявлено, что на рост искусственных насаждений сосны кедровой в значительной мере влияет конкуренция со стороны взрослых деревьев основного полога в подпологовых культурах и в искусственных насаждениях, созданных в процессе реконструкции. Сохранность подпологовых культур изменялась от 55,6 до 64,4 % в 43-летнем возрасте и составила 59,8 % в 32-летнем возрасте. Подпологовые культуры на пробной площади с большей густотой значительно отставали по росту от участков с более низкой густотой при прочих идентичных условиях произрастания и возраста. Сохранность лесных культур, созданных реконструкцией, на участках без основного полога составила 72,6 %, на участке со взрослым древостоем – 46,8 %. Диаметр деревьев на реконструкции без основного полога различался в 2,1 раза, высота – в 1,8 раз в пользу культур на участке, где малоценное насаждение было вырублено. В последующих культурах на тех пробных площадях, где сохранились чистые культуры сосны кедровой,