

Научная статья  
УДК 575.174:582.475  
DOI: 10.37482/0536-1036-2023-3-48-68

### Микросателлитные локусы в генетической оценке плюсовых деревьев *Pinus sylvestris* L.

А.А. Ильинов, канд. с.-х. наук; *ResearcherID*: [L-5854-2013](https://orcid.org/0000-0003-3416-0312).

*ORCID*: <https://orcid.org/0000-0003-3416-0312>

Б.В. Раевский<sup>✉</sup>, д-р с.-х. наук; *ResearcherID*: [K-6424-2018](https://orcid.org/0000-0002-1315-8937).

*ORCID*: <https://orcid.org/0000-0002-1315-8937>

Институт леса Карельского научного центра РАН, ул. Пушкинская, д. 11, г. Петрозаводск, Россия, 185910; [ialexa33@yandex.ru](mailto:ialexa33@yandex.ru), [borisraevsky@gmail.com](mailto:borisraevsky@gmail.com)<sup>✉</sup>

Поступила в редакцию 22.03.21 / Одобрена после рецензирования 19.06.21 / Принята к печати 21.06.21

**Аннотация.** С помощью 4-ядерных микросателлитных локусов осуществлена сравнительная оценка уровня генетического разнообразия Петрозаводской и Заонежской лесосеменных плантаций сосны обыкновенной I порядка и испытательных культур, созданных полусибсовыми семенными потомствами клонов с Петрозаводской лесосеменной плантации. Для выявления нуль-аллелей и исключения ошибок генотипирования использована программа Micro-Checker. Для изучения генетической структуры селекционных объектов с точки зрения пропорции редких и наиболее общих аллелей для каждого отобранного дерева определены коэффициенты генетической оригинальности. На лесосеменных плантациях и в испытательных культурах обнаружена значительная доля (27,3–37,0 %) наиболее редких и, напротив, невысокая доля наиболее типичных (3,3–14,8 %) аллелей для данной части ареала сосны. Для Петрозаводской лесосеменной плантации установлено наибольшее число (40) аллелей из всех выявленных (51). Тест на соответствие частот аллелей ожидаемым по Харди–Вайнбергу показал достоверный дефицит гетерозигот на обеих лесосеменных плантациях и в испытательных культурах. Все селекционные объекты характеризовались высоким уровнем аллельного и генетического разнообразия (среднее число аллелей на локус – 7,75–10,50; среднее эффективное число аллелей – 5,00–6,54; наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность соответственно – 0,60–0,70 и 0,63–0,71), обнаруженные отличия оказались статистически недостоверными. Результаты молекулярной дисперсии AMOVA (5 %) свидетельствуют об отсутствии значительной генетической дифференциации между селекционными объектами. Причина дефицита гетерозигот – не только наличие нуль-аллелей. В процессе селекции в итоге случайного отбора ограниченного числа генотипов (клонов) соотношение частот аллелей может не соответствовать соотношению в естественной популяции. Выявленный у селекционных объектов высокий уровень наиболее редких для данной части ареала сосны аллелей также можно объяснить влиянием отбора. Полученные результаты будут использованы при создании селекционных объектов повышенной генетической ценности.

**Ключевые слова:** сосна обыкновенная, микросателлиты, коэффициент генетической оригинальности, генетическое разнообразие, лесосеменные плантации, испытательные культуры

**Для цитирования:** Ильинов А.А., Раевский Б.В. Микросателлитные локусы в генетической оценке плюсовых деревьев *Pinus sylvestris* L. // Изв. вузов. Лесн. журн. 2023. № 3. С. 48–68. <https://doi.org/10.37482/0536-1036-2023-3-48-68>

Original article

## Genetic Evaluation by Microsatellite Loci of *Pinus sylvestris* L. Plus Trees

Alexey A. Ilinov, Candidate of Agriculture; ResearcherID: [L-5854-2013](https://orcid.org/0000-0003-3416-0312),

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3416-0312>

Boris V. Raevsky<sup>✉</sup>, Doctor of Agriculture Sciences; ResearcherID: [K-6424-2018](https://orcid.org/0000-0002-1315-8937),

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1315-8937>

Forest Research Institute of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, ul. Pushkinskaya, 11, Petrozavodsk, 185910, Russian Federation; [ialex33@yandex.ru](mailto:ialex33@yandex.ru), [borisraevsky@gmail.com](mailto:borisraevsky@gmail.com)<sup>✉</sup>

Received on March 22, 2021 / Approved after reviewing on June 19, 2021 / Accepted on June 21, 2021

**Abstract.** In this study, a comparative analysis was performed to estimate the genetic diversity levels of *Pinus sylvestris* L. in 49 seed orchards of I generation and progeny test plantings using 4-nucleus microsatellite loci. The seed orchards are located in the Petrozavodsk and Zaonezhye regions of the Republic of Karelia. The progeny trials were created by half-sibling seed progenies of the clones in the Petrozavodsk seed orchard. Micro-Checker software was used to identify null alleles and exclude genotyping errors. Coefficients of genetic originality were determined by examining the genetic structure of breeding objects in relation to the proportion between the rare and the dominant alleles for each selected tree. A major part of the rarest alleles (27.3–37.0 %) and a small fraction of the most common alleles (3.3–14.8 %) were detected for the distinct range of the pine trees in both seed orchards and test cultures. The largest number (40) of all identified alleles (51) was found in the Petrozavodsk seed orchard. The Hardy-Weinberg test comparing allele rates to expectational values showed a lack of heterozygotes in each category of the empirical substances. The selected material also had high levels of allelic and genetic diversity. The average number of alleles per locus ranged from 7.75 to 10.50. The average effective number was from 5.00 to 6.54. The observed heterozygosity varied from 0.60 to 0.70. The expected heterozygosity was 0.63–0.71. The numerical deviations were statistically insignificant. The AMOVA molecular dispersion result was 5 %, indicating the absence of significant genetic differentiation between the breeding objects. The heterozygote deficiency was caused not only by the presence of null alleles, but also by the selection. Namely, the set of alleles in the experimental material, randomly selected from a limited number of genotypes (clones), may differ from the natural population. The high level of the rarest alleles in the given range of the pine trees can also be explained as a selection effect. The results obtained in this study are important for creating breeding objects with higher genetic value.

**Key words:** Scots pine, microsatellites, coefficient of genetic originality, genetic diversity, forest seed orchards, test cultures

**For citation:** Ilinov A.A., Raevsky B.V. Genetic Evaluation by Microsatellite Loci of *Pinus sylvestris* L. Plus Trees. *Lesnoy Zhurnal = Russian Forestry Journal*, 2023, no. 3, pp. 48–68. (In Russ.). <https://doi.org/10.37482/0536-1036-2023-3-48-68>



*Введение*

Важнейшим аспектом проблемы сохранения биоразнообразия лесов является сохранение генетического разнообразия популяций древесных видов [11, 13, 15, 20, 22, 28, 32]. Один из путей достижения этого – проведение мероприятий, направленных на сохранение генетических ресурсов вне пределов естественных популяций (*ex situ*). Прежде всего, речь идет о создании и эффективном использовании постоянной лесосеменной базы как основного источника генетически улучшенных семян для целей лесовосстановления. К селекционным объектам относятся плюсовые насаждения (ПН), плюсовые деревья (ПД), клоновые лесосеменные плантации (ЛСП), архивы клонов (АК) и испытательные культуры (ИК) [1]. При закладке ЛСП I порядка используется привойный материал, заготовленный с ПД, отобранных исключительно по фенотипу. Как правило, какая-либо специальная информация о генетической ценности отбираемого ПД отсутствует. В результате при использовании семян, собранных с таких ЛСП, могут измениться генетическая структура и уровень генетической изменчивости, свойственные естественным популяциям, что способно отразиться на эффективности всего процесса искусственного лесовосстановления [10, 12, 23, 26].

В Карелии при реализации системы плюсовой селекции основных лесобразующих видов (сосны обыкновенной и ели финской) были созданы 6 прививочных ЛСП I порядка общей площадью около 454 га, в том числе сосны – 365 га. Растущие на них вегетативные потомства (клоны) – итог массового отбора лучших (плюсовых) деревьев по фенотипу. До недавнего времени селекционно-генетическая оценка клонов ПД, представленных на ЛСП, не проводилась. Отсутствие какой-либо информации о генетической ценности этих деревьев препятствовало переходу к закладке ЛСП повышенной генетической ценности.

В последние десятилетия интерес к генетическим аспектам плюсовой селекции усилился благодаря развитию и применению новых молекулярно-генетических методов с использованием ДНК-маркеров. Однако публикации по этой проблеме, особенно в отечественной литературе, носят единичный характер [2, 6]. Ранее на основе микросателлитного анализа была дана оценка уровня генетического разнообразия естественных карельских популяций, ЛСП сосны обыкновенной и ели финской, 2 ПН сосны, а также описана их генетическая структура [3–5].

Таким образом, актуальность изучения особенностей генетической структуры и уровня генетического разнообразия на селекционных объектах диктуется проблемой сохранения в практике искусственного лесовосстановления и селекционного семеноводства основных лесобразующих пород генетического разнообразия, свойственного их естественным ценозам. Цель исследования – сравнительная оценка генетической структуры и уровня генетического разнообразия на клоновых ЛСП I порядка и в ИК сосны обыкновенной *Pinus sylvestris* L. в Карелии.

*Объекты и методы исследования*

Объектами исследований стали клоновые ЛСП I порядка – Петрозаводская и Заонежская – и ИК (пос. Маньга) сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), представленные полусибсовыми семенными потомствами клонов с Петрозаводской ЛСП (табл. 1, рис. 1).

Таблица 1

**Информация об исследованных селекционных объектах**  
**Information about the investigated breeding objects**

Селекционный объект	Географическое положение, ...°		Площадь, га	Год закладки
	с. ш.	в. д.		
Петрозаводская ЛСП	61,92009	34,41364	150,7	1975–1996
Заонежская ЛСП	62,29852	34,96531	82,6	1978–1996
ИК, пос. Маньга	61,63154	33,43291	4,0	2012

*а**б*

Рис. 1. Исследованные селекционные объекты: *а* – Петрозаводская клоновая ЛСП; *б* – ИК, пос. Маньга

Fig. 1. The investigated breeding objects: *а* – forest seed orchard in Petrozavodsk; *б* – test planting, pos. Manga

ЛСП были созданы производственными подразделениями Министерства лесного хозяйства Республики Карелии в последней трети XX столетия в Прионежском и Медвежьегорском районах Карелии (подзона средней тайги). ЛСП заложены в разные годы в типичных для Карелии холмисто-грядовых моренных ландшафтах, на дренированных слабо- и среднеподзолистых супесчаных почвах. Прививки высажены по схеме 5×8 м. Опытный участок ИК создан весной 2012 г. сотрудниками лаборатории лесовосстановления Института леса Карельского научного центра РАН в Пряжинском районе Карелии, также при содействии республиканского Министерства природопользования и экологии. Для закладки ИК выбрана территория бывшего лесного питомника, располагавшегося на песчаных иллювиально-железистых подзолах, что является типичным для таких объектов. Всего высажено 72 варианта, 1×3 м (полусибсовых потомств), в 3–4-кратных повторностях, а также 5 повторностей контроля. Контролем служил общий образец семян с Петрозаводской ЛСП. Схема смешения вариантов – рендомезированная, рядами.

В 2007–2011 гг. на Петрозаводской ЛСП проведена комплексная селекционно-генетическая оценка 72 клоновых потомств сосны обыкновенной. Отобранные для наблюдений клоны (по 5 нормально развитых рамет на каждый клон) произрастали в пределах одного поля плантации, заложенного в 1982–1984 гг. Методика комплексной оценки вегетативных потомств сосны обыкновенной

Таблица 2

Сведения о материнских плюсовых деревьях  
Information about maternal plus trees

№ ПД	Географические координаты, ...		Лесничество	Тип леса	Характеристика ПД				Год отбора	
	с. ш.	в. д.			Возраст, лет	Высота, м	Диаметр, см	Превышение, % ** по высоте по диаметру		
<i>Северокарельский лесосеменной район</i>										
1143*	66,03115	33,02971	Чупинское	Черничный	96	23	28	109,5	133,3	1983
1201*	65,58507	30,46405	Калевальское		105	26	31	123,8	147,6	1984
1202*						27	39	128,6	185,7	
1134*	65,50867	30,39988	Калевальское	114	24	27	114,3	128,6	1983	
671*	65,21076	30,11390		76	27	31	128,6	129,2	1979	
<i>Центральнокарельский лесосеменной район</i>										
997*	63,90118	34,35494	Сегежское	Черничный	110	27	31,5	121,6	132,4	1982
1007*					145	25,5	31	114,9	130,3	
1081*	63,33092	33,40714	Сегежское	Черничный	76	25	33	127,5	150,0	1983
1095*					80	26	26	125,0	118,2	
1038	63,02872	34,07558	Медвежьегорское	Черничный	120	26	28,5	118,2	129,5	1982
1049*	63,01019	34,01969			80	22,5	27	112,5	135,0	
1026	63,00897	34,07675	Медвежьегорское	Черничный	88	24,5	28,5	111,4	129,5	1982
1027*					87	25	29	113,6	131,8	

Продолжение табл. 2

№ ПД	Географические координаты, ...		Лесничество	Тип леса	Характеристика ПД				Год отбора	
	с. ш.	в. д.			Возраст, лет	Высота, м	Диаметр, см	Превышение, %** по высоте по диаметру		
<i>Южнокарельский лесосеменной район</i>										
1046*	62,85304	34,89227	Медвежьегорское	Брусливый	135	24,5	30	116,7	150,0	1982
439*	62,74728	34,56553	Заонежское	Черничный	60	20	22	153,8	146,7	1977
432	62,61508	34,97982			56	19	25	126,7	138,9	
437			53			23	126,7	127,8		
505					75	28	28	140,0	127,3	1978
508	62,60891	34,38541	Кондопожское	70	30	31	150,0	140,9		
510				65	24,5	27	122,5	122,7	1977	
448	62,47570	34,74433	Заонежское	70	28	30	186,7	200,0		
835				Кисличный	85	24	32	120,0	145,5	1980
861	62,45538	33,66628	Кондопожское	Черничный	80	27	29	108,0	120,8	1981
864					90	30	33	120,0	137,5	
871					85	29	34	116,0	141,7	
752	62,45092	34,85057	Заонежское	Травяно-сфагновый	95	24	33	160,0	220,0	1980

Продолжение табл. 2

№ ПД	Географические координаты, ...		Лесничество	Тип леса	Характеристика ПД					Год отбора
	с. ш.	в. д.			Возраст, лет	Высота, м	Диаметр, см	Превышение, %**		
							по высоте	по диаметру		
33*	62,40332	33,68707		Вересковый	101	26	27	146,1	135,0	1974
36	62,36648	33,90141			110	28	31,5	131,9	131,3	1973
37					115	25,5	35	121,4	145,8	
353	62,34988	33,91504	Кондопожское		120	28,5	43	129,5	153,6	1976
513					75	29,5	28	128,3	116,7	
515	62,34689	34,50933			75	29,5	30	128,3	125,0	1978
516					76	30	27	130,4	112,5	
849					90	26	32	118,2	123,1	1981
876	62,20560	33,34322	Спасогубское	Черничный	75	27	28	122,7	107,7	
962	62,19303	34,40828			80	29	37	111,5	142,3	1982
40	62,16714	34,38418			100	27,7	29	115,4	103,6	1973
522					70	30,5	32	138,6	145,5	1978
528	62,12057	34,49504			80	32,5	38	147,7	172,7	
853					100	32	34	123,1	121,4	1981
59						27	32	142,1	160,0	
60						25	28	131,6	140,0	1973
62	62,11988	34,51438			110	27	32	142,1	160,0	
63						25	32	131,6	160,0	
361					90	26,5	30	115,2	125,0	1976

Окончание табл. 2

№ ПД	Географические координаты, ...°		Лесничество	Тип леса	Возраст, лет	Характеристика ПД			Год отбора	
	с. ш.	в. д.				Высота, м	Диаметр, см	Превышение, %** по высоте по диаметру		
104					96	29	31	102,5	110,7	
107	62,03970	33,90698	Спасогубское	Травяно-злаковый	93	29	30	103,6	107,1	1973
114					98	28,5	26	101,8	92,9	
780					90	25	34	125,0	130,8	
841	61,89732	34,38784	Петрозаводское	Черничный	70	24	28	133,3	127,3	1980
754*	61,80900	37,03428			100	32	40	177,8	222,2	
1221*					94	33	43	122,2	153,6	
1231*	61,78013	36,20031	Пудожское	Кисличный	96	29	35	107,4	125,0	1985
1233*						32	34	119,6	121,4	
578	61,69742	34,3193	Петрозаводское	Черничный	106	26	30	123,8	136,4	1978
157					110	30	46	142,9	164,3	
163*	61,61583	30,0147	Лахденпохское	Кисличный	130	27	40	122,7	125,0	1973
				Брусничный						
651	61,41908	34,66236	Ладвинское	Черничный	82	28	34	116,7	130,8	1979
657					80	28,5	32,5	118,8	125,0	
644	61,41832	34,68516			118	26	32	117,3	114,3	
804	61,37383	33,6677	Пряжинское		70	23	24	121,1	126,3	1980
815						24,5	27	128,9	142,1	

\*Вегетативное потомство (клоны) произрастает на Заонежской ЛСП. \*\*Превышения по высоте и диаметру даны в сравнении со средними показателями.

подробно изложена ранее [8]. Параметры материнских ПД приведены в табл. 2. Все отобранные деревья характеризовались хорошим очищением стволов от сучьев, прямоствольностью, полнодревесностью, а также отсутствием дефектов и пороков. Основные параметры вегетативных потомств (клонов) материнских ПД указаны в табл. 3. В 2011 г. образцы семян с исследуемых клонов были высеяны в теплице питомника «Вилга». Сеянцы с закрытой корневой системой выращивали по стандартной технологии отдельно по семьям. Общая комбинационная способность (ОКС) рассчитана как относительное преимущество (%) того или иного варианта (семьи) над контролем по результатам замеров общей высоты растений в 2018 г.

На Петрозаводской и Заонежской ЛСП, а также в ИК были отобраны образцы хвой с 30, 22 и 27 деревьев соответственно. На Заонежской ЛСП взят только материал для генетического анализа, без описания клонов. Выделение образцов геномной ДНК сосны осуществлено с помощью стандартного набора (Qiagen).

Для анализа генетической структуры селекционных объектов сосны взято 4 микросателлитных локуса: PtTX2123, PtTX2146, SPAC11,8, SPAC12,5 [16, 31]. Для проведения полимеразной цепной реакции использовали 26 мкл реакционной смеси следующего состава: 50 нг ДНК исследуемых образцов, 100 пм праймера, 5 мкл набора с Taq ДНК-полимеразой. Условия амплификации: денатурация – 30 с при 94 °С, отжиг – 30 с при 54–57 °С (в зависимости от используемого праймера), полимеризация – 40 с при 72 °С; количество циклов – 35; достраивание фрагментов – 6 мин при 72 °С. Амплификацию проводили на приборе MaxuGene Gradient (Qiagen). Разделение и определение фрагментов ДНК осуществляли с помощью системы капиллярного электрофореза на приборе SEQ 8000 (Beckman Coulter).

Для изучения генетической структуры селекционных объектов с точки зрения пропорции редких и наиболее общих аллелей для каждого отобранного дерева были установлены коэффициенты генетической оригинальности (КГО) [7, 9]. Определение основных показателей генетической изменчивости – среднее число аллелей на локус, нередких аллелей (с частотой > 5 %) и уникальных аллелей на локус, среднее эффективное число аллелей, наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность, индекс фиксации Райта, а также AMOVA с целью выявления уровня генетической дифференциации проводили с помощью программы GenAlEx 6.5 [30]. Соответствие наблюдаемых частот аллелей ожидаемым согласно равновесию Харди–Вайнберга оценивали на основе теста  $\chi^2$ . Для обнаружения и исключения возможных вариантов ошибок генотипирования ядерных микросателлитных локусов использована программа Micro-Checker [33].

#### *Результаты исследования и их обсуждение*

При сравнительной оценке свойств материнских ПД и их вегетативного потомства было обнаружено, что произрастающие на выравненном фоне клоны ПД не всегда сохраняют качества «плюсовости», характерные для материнских деревьев. Все отобранные материнские деревья отличались отсутствием дефектов и пороков ствола, однако у 40 % их вегетативных потомств (клонов) были обнаружены такие пороки, как многоствольность, раздвоение ствола и снеголом (табл. 3). Оценка ОКС в 7-летних ИК показывает, что 49 % семенных потомств испытываемых деревьев не имеют статистически достоверного преимущества перед контролем. Эти факты могут свидетельствовать о том, что не всегда причиной «плюсовости» отдельных материнских деревьев являются их наследственные качества.

Таблица 3

Характеристика исследованных клонов на Петрозаводской ЛСП  
 Characteristics of the studied clones from the Petrozavodsk seed orchard

№ клона	Селекционный объект*	Высота**, м	Диаметр**, см	Возраст***, лет	Дефекты	Цветение****, балл		Длина шишки**, см	Масса шишки**, г	Масса 1000 семян**, г	Урожай семян****, шт.	ОКС*****
						мужское	женское					
36	ИК	9,9	19,3	7	–	3,7	3,3	4,1	2,2	6,5	9191	1,04
37		10,3	22,6			4,4	3,7	4,2	1,9	4,8	10 203	0,96
40	ЛСП/ИК	9,0	19,1	24/7	Снеголом	3,9	2,9	4,4	10,3	6,8	7218	1,00
59	ЛСП	10,3	21,3	24	–	4,1	3,3	4,1	1,9	5,4	5142	1,11
60	ЛСП/ИК	10,0	19,9	24/7	–	5,0	3,5	4,2	7,5	6,1	10 241	1,10
62		9,3	16,2		–	4,1	3,0	4,3	6,9	4,7	7059	
63	ИК	10,6	20,9	7	–	3,7	3,5	4,1	2,2	5,0	4796	1,11
104	ЛСП	7,3	15,2	24	Многоствольность	3,0	2,4	4,4	5,9	6,3	6465	1,00
107	ИК	9,8	20,1	7	Раздвоение	3,7	3,4	3,8		5,4	6012	1,20
114	ЛСП/ИК	10,4	20,9	24/7	–	4,7	2,6	4,1	5,8	4,6	5340	
157	ЛСП	6,8	21,2	24	Раздвоение	4,9	3,6	4,6	8,5	5,0	13 420	1,00
353		9,7	21,1		–	3,1	2,6	4,2	2,3	5,7	9114	
361	ИК	9,4	22,6	7	Многоствольность	4,5	2,4	4,5	7,7	6,0	4935	
432	ЛСП/ИК	7,8	18,3	24/7	–	4,2	4,4	4,3	6,9	5,7	19 687	
437	ЛСП	8,0	17,3	24	Раздвоение	4,8	4,3	4,2	6,2	4,2	10 203	1,10
448	ИК	9,5	20,3	7	–	3,0	3,7		2,0	5,7	14 521	0,97
504		9,4	19,7		Многоствольность	4,4	3,1	4,4	8,2	6,7	5723	1,10

Продолжение табл. 3

№ клона	Селекционный объект*	Высота**, м	Диаметр**, см	Возраст***, лет	Дефекты	Цветение****, балл		Длина шишки**, см	Масса шишки**, г	Масса 1000 семян**, г	Урожай семян****, шт.	ОКС*****
						муж-ское	жен-ское					
505	ЛСП	9,7	21,3	24	Раздвоение	3,0	2,5	4,3	7,0	6,1	4032	1,20
508	ИК	9,9	17,9	7	–	4,4	3,9	4,1	6,7	6,9	3414	1,10
510	ЛСП	9,8	20,4	24	–	4,5	3,1	4,2	7,3	6,7	5321	1,20
513		9,4	19,5			3,2	2,8	4,0	5,9	5,5	5165	
515		9,6	20,4			3,8	4,5	5,9	12 379	0,96		
516	ИК	10,4	21,1	7	Раздвоение	3,6	3,5	4,4	5,6	5,0	9040	1,00
522	ЛСП/ИК	10,1	23,6	24/7	–	3,3	2,0	4,2	6,1	6,2	2202	0,91
528	ЛСП	9,9	20,4	24	–	4,6	1,6	4,6	2,3	5,9	5463	
644	ЛСП/ИК	8,6	21,1	24/7	Много-ствольность	4,4	2,6	4,4	6,2	8,4	1930	0,90
651		9,6	18,5			4,5	3,4	4,3	6,3	6,1	2177	1,10
657		9,8				4,9	3,8	4,0	6,0	4,7	8803	
752	ЛСП	9,8	19,6	24	Снеголом	4,7	3,2	4,2	6,6	5,2	5702	1,20
804		9,2	19,9	4,5		3,0	6,8	4921	1,30			
815	ИК	8,3	18,1	7	–	3,5	3,5	3,2	3,9	5,1	5548	1,20
835	ЛСП	10,0	20,7	24	–	4,9		3,6	4,6	3,6	8183	1,00
841	ИК	8,1	17,2	7	Много-ствольность	4,2	3,7	4,5	7,7	6,0	9409	
849		Раздвоение	10,4	24,0		3,9	4,0	7,8	5504	1,10		
804	ЛСП	9,2	19,9	24	Снеголом	4,5	3,0	4,2	6,8	6,8	4921	1,30
815	ИК	8,3	18,1	7	–	3,5	3,5	3,2	3,9	5,1	5548	1,20

Окончание табл. 3

№ клона	Селекционный объект*	Высота**, м	Диаметр**, см	Возраст***, лет	Дефекты	Цветение****, балл		Длина шишки**, см	Масса шишки**, г	Масса 1000 семян**, г	Урожай семян****, шт.	ОКС*****
						муж- ское	жен- ское					
835	ЛСП	10,0	20,7	24	–	4,9	3,7	3,6	4,6	3,6	8183	
841	ИК	8,1	17,2	7	Много- ствольность	4,2	3,9	4,5	7,7	6,0	9409	1,00
849		10,4	24,0			4,0						
853	ЛСП/ИК	10,1	20,7	24/7	Снеголом	4,5	3,4		8,0	5,6	6828	0,90
861	ИК	8,9	17,9	7	–	3,8	4,0	4,3	7,9	6,5	5899	1,00
864		10,3	20,4			4,1	3,7	4,4	5,6	5,1	11 139	1,30
871		8,9	17,3			2,6	3,2	4,6	9,7	6,8	11 047	1,00
876	ЛСП/ИК	10,2	20,6	24/7	–	4,0	4,1	4,5	6,5	5,4	13 652	1,30
962	ЛСП	9,3	20,5	24	–	4,1	3,2	4,0	7,3	5,8	6693	1,20
1026		6,2	13,5			2,4	4,1	4,4	7,8		12 525	1,00
1038	ЛСП/ИК	9,7	19,5	24/7	–	3,0	3,5	4,5	7,9	6,5	7601	0,90

\* Проводилась генетическая оценка клона (Петрозаводская ЛСП) / семенного потомства клона (ИК). \*\* Данные по клонам ЛСП за 2007. \*\*\* Возраст клонов на ЛСП и семенного потомства в ИК в 2007 и 2018 г. соответственно. \*\*\*\* Усредненные данные по ЛСП за 2007–2010 гг. \*\*\*\*\* ОКС семенного потомства клона в ИК по высоте по сравнению с контролем.

Иногда воздействие совокупности случайно сложившихся благоприятных для произрастания внешних условий может привести к появлению у дерева или группы деревьев признаков «плюсовости» в материнском плюсовом насаждении, но не проявиться впоследствии в выровненных условиях ЛСП, где наиболее наглядно видны наследственные характеристики. Данный факт подтверждает необходимость генетической идентификации потомства отобранных ПД, а также испытания генотипов на выравненном фоне (ЛСП, АК, ИК и т. п.).

Анализ генетической структуры селекционных объектов (табл. 4) показал, что все изученные локусы полиморфны. Всего найден 51 аллель. Наибольшее количество (40) обнаружено у Петрозаводской ЛСП, а у Заонежской ЛСП и в ИК – 30 и 32 аллеля соответственно. По количеству редких (24) и уникальных (10) аллелей также выделяется Петрозаводская ЛСП, у Заонежской ЛСП и ИК их почти в 2 раза меньше. Аллелей, общих для всех селекционных объектов, обнаружено 20, причем все они оказались с частотой  $> 0,05$ . Отдельный интерес представляет соотношение аллелей у клонов с Петрозаводской ЛСП и в ИК, являющихся семенным потомством этих клонов. Дополнительно у Петрозаводской ЛСП с ИК выявлено еще 6 общих аллелей, а у Заонежской ЛСП с ИК – всего один. Таким образом, у семенного потомства (ИК) найдено лишь 26 аллелей из 40 обнаруженных у клонов с Петрозаводской ЛСП.

Для оценки состояния генофонда в пределах конкретного региона в той или другой части ареала вида каждая популяция может быть охарактеризована с точки зрения пропорции редких и обычных (типичных для популяций данного региона) аллелей при помощи расчета КГО [7]. Этот способ классификации внутривидового разнообразия по результатам молекулярного маркирования основан на принципе «взвешивания» признаков в зависимости от частоты их встречаемости. В соответствии с методикой [7], на основе частот аллелей 4 микросателлитных локусов для характеристики каждого из селекционных объектов сосны обыкновенной были определены КГО по каждому отобранному дереву. Значения КГО были соотнесены с 5-балльной шкалой на основании распределения их логарифмов соответственно подразделению на 5 интервалов, отражающих последовательное увеличение доли редких аллелей в образцах: минимум–5-й перцентиль (I класс); 6–25-й перцентиль (II класс); 26–75-й (III класс); 76–95-й (VI класс); 96-й–максимум (V класс). На рис. 2 показано соотношение представителей 5 классов по КГО в структуре изученных селекционных объектов.

Для исследователей и селекционеров наиболее интересны группы деревьев двух крайних классов. Группы генотипов (деревьев) I класса практически не содержат редких аллелей. Такие группы в популяции можно было бы рассматривать в качестве наиболее типичных для региона образцов, представляющих собой базовый генофонд. В коллекциях генных банков эти образцы используют при создании так называемых стержневых коллекций [7]. Группы деревьев с максимальными значениями КГО (V класс) интересны тем, что содержат наибольшее число редких, нетипичных для региона аллелей.

Таблица 4

**Генетическая структура селекционных объектов сосны обыкновенной**  
**Genetic structure of Scots pine breeding objects**

Локус	Аллель	ЛСП		ИК	Локус	Аллель	ЛСП		ИК
		Петро- завод- ская	Зао- неж- ская				Петро- завод- ская	Зао- неж- ская	
PtTX2123	192	0,083	0,318	0,056	Spac11,8	154	0,017	–	–
	195	0,917	0,659	0,944		156	–	0,045	
	201	–	0,023	–		135	–	0,023	
	201	–	0,023	–		139	–	–	
PtTX2146	168	0,017	–	0,019	Spac12,5	141	0,017	–	–
	171					0,050			
	183	0,283	0,159	0,167		147	0,033	–	0,056
	186	–	0,023	–		149	0,067	0,136	0,074
	189	–	–	0,037		151	0,017	0,114	0,130
	195	0,183	0,136	0,204		153	0,033	–	0,037
	204	0,033	0,091	0,019		155	0,100	0,159	0,074
	210	–	–			157	0,067	0,114	0,056
	222	0,367	0,477	0,389		159	0,083	0,023	0,074
	228	0,083	0,091	0,130		161	0,050		0,111
	237	–	–	0,019		163	0,033	0,068	0,056
	243	0,017	0,023	–		165	0,050		0,130
	Spac11,8	132	0,067	–		–	167	–	–
134		0,500	0,273	0,241	169	–	0,023	0,056	
136		0,067	0,432	0,519	171	0,100		0,019	
138		0,033	0,136	0,167	173	0,117	0,045	–	
140		0,167	–	–	175	0,050	–	–	
142		0,017	0,114	–	177	0,017	0,068	–	
144		0,050	–	–	179	–	–	0,037	
146		0,033	–	0,019	183	0,050		–	–
148		0,033	–	0,056	187	0,017	–	–	
152		0,017	–	–	199	–	0,045	–	

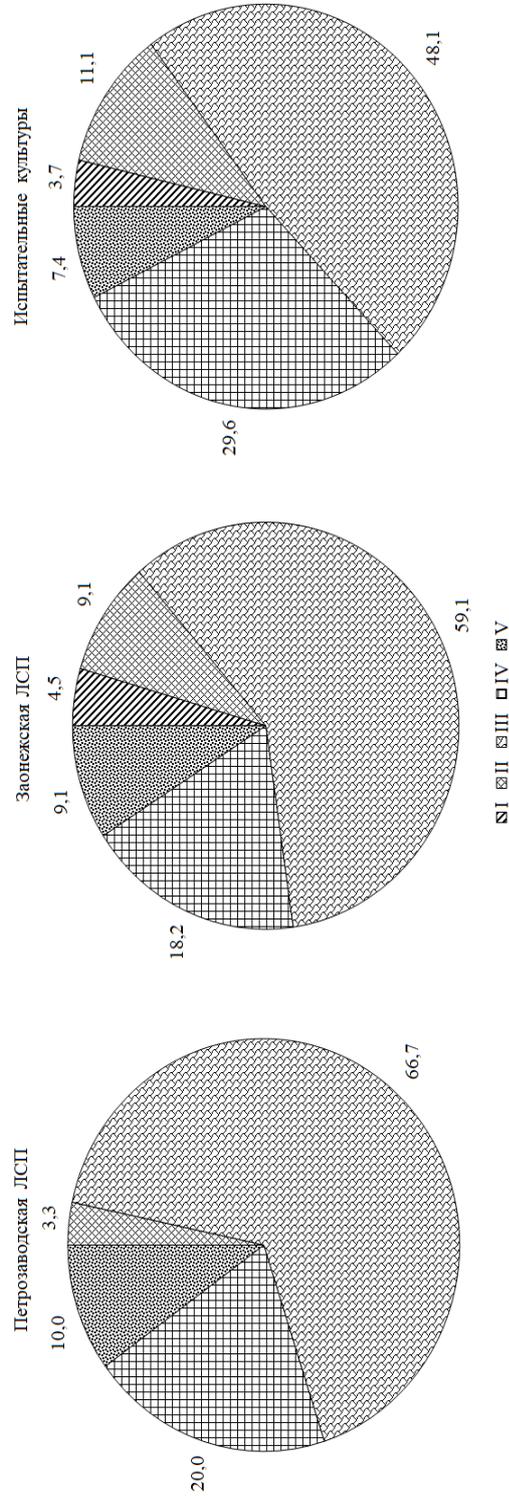


Рис. 2. Соотношение (%) представителей 5 классов (I–V) аллелей по КГО в структуре селекционных объектов сосны обыкновенной в Карелии

Fig. 2. Proportion (%) of representatives from five classes (I–V) of alleles by CGO within the composition of breeding objects of Scots pine in Karelia

Результаты сравнительного анализа генетической структуры селекционных объектов по КГО позволили обнаружить у клонов на ЛСП и их семенного потомства в ИК дефицит наиболее типичных для данной части ареала аллелей сосны обыкновенной (I и II классов), что указывает на недостаточную представленность базового генофонда – 3,3, 13,6 и 14,8 % на Петрозаводской, Заонежской ЛСП и в ИК соответственно. При этом доля как наиболее редких, так и среднетипичных аллелей в ИК, а также на обеих ЛСП оказалась достаточно высокой. Наибольшую долю в генотипах изученных деревьев на Петрозаводской и Заонежской ЛСП, а также в ИК составляли среднетипичные (III класс) для данной части ареала сосны обыкновенной аллели – 48,1, 59,1 и 66,7 % соответственно. У всех селекционных объектов обнаружены наиболее редкие аллели (IV и V классы), причем больше всего их оказалось в ИК и на Петрозаводской ЛСП – 37,0 и 30,0 % соответственно. Причины такого процентного распределения аллелей требуют дальнейшего изучения.

Анализ с использованием критерия  $\chi^2$  выявил достоверное несоответствие наблюдаемых и ожидаемых по правилу Харди–Вайнберга частот аллелей у всех селекционных объектов по локусам Spac11,8 и Spac12,5, а у ИК – по локусу PtTX2123.

С помощью программы Micro-Checker установлено возможное присутствие нуль-аллеля по локусу Spac11,8 у всех изученных селекционных объектов. Значимый уровень нуль-аллеля ( $p > 0,05$ ) локуса Spac12,5 обнаружен только на Петрозаводской ЛСП. Учет при генотипировании нуль-аллелей позволил провести корректировку в целях получения несмещенной оценки уровня генетического разнообразия (табл. 5).

Таблица 5

**Уровень генетического разнообразия на селекционных объектах *Pinus sylvestris***  
**The level of genetic diversity in *P. sylvestris* breeding objects**

Селекционный объект	<i>A</i>	<i>A</i> <sub>95%</sub>	<i>PA</i>	<i>ne</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>F</i>
Петрозаводская ЛСП	10,50± ±3,77	6,00± ±2,41	2,75± ±1,31	6,54± ±3,36	0,63± ±0,16	0,66± ±0,17	-0,01± ±0,11
Заонежская ЛСП	7,75± ±2,56	5,00± ±1,22	1,25± ±0,25	5,00± ±1,90	0,70± ±0,10	0,71± ±0,09	0,01± ±0,06
ИК, пос. Маньга	8,25± ±2,95	5,25± ±1,70	1,25± ±0,75	5,40± ±2,42	0,60± ±0,19	0,63± ±0,19	0,17± ±0,17

Примечание: *A*, *A*<sub>95%</sub>, *PA* – среднее число аллелей на локус, редких аллелей и уникальных аллелей соответственно; *ne* – среднее эффективное число аллелей; *Ho*, *He* – наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность соответственно; *F* – коэффициент инбридинга.

Максимальные значения всех параметров аллельного разнообразия (*A*, *A*<sub>95%</sub> и *ne*) обнаружены для Петрозаводской ЛСП. Заонежская ЛСП характеризуется минимальными значениями этих параметров. Показатель уникальных аллелей для ИК и Заонежской ЛСП был одинаковым и в 2 раза меньшим, чем у Петрозаводской ЛСП.

Сравнительный анализ уровня генетического разнообразия селекционных объектов сосны обыкновенной показал, что все они отличаются высокими уровнями наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности (табл. 6), сравнимыми с

уровнями естественных популяций вида в Карелии [4]. При этом максимальными значениями *Ho* и *He* характеризуются клоны Заонежской ЛСП, а минимальными – семенное потомство клонов Петрозаводской ЛСП в ИК.

По соотношению наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности можно судить об уровне инбридинга внутри изучаемых селекционных объектов. В нашем случае наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность для каждого из объектов оказалась примерно одинаковой. Коэффициенты инбридинга, рассчитанные для Петрозаводской и Заонежской ЛСП, близки к нулю (табл. 6), что указывает на отсутствие дефицита гетерозигот на клоновых плантациях. Выявленное для ИК положительное значение коэффициента инбридинга статистически незначимо, что также свидетельствует об отсутствии дефицита гетерозигот у семенного потомства клонов ПД.

Статистический анализ не выявил значимых различий в уровне генетического, в том числе аллельного, разнообразия между селекционными объектами, созданными вегетативным и семенным потомством ПД, отобранных для Петрозаводской ЛСП и ИК в пределах Южнокарельского лесосеменного района, а для Заонежской ЛСП – со всех лесосеменных районов Карелии.

AMOVA позволяет изучить распределение обнаруженной генетической изменчивости между селекционными объектами сосны обыкновенной (табл. 6). Результаты AMOVA свидетельствуют о невысоком уровне дифференциации между Петрозаводской и Заонежской ЛСП и ИК – на различия между ними приходится всего 5 % от всей выявленной генетической изменчивости.

Таблица 6

**Результаты AMOVA для селекционных объектов сосны обыкновенной**  
**Results of AMOVA for the breeding objects of Scots pine**

Источник изменчивости	Df	SS	MS	Доля в общей дисперсии, %
Между селекционными объектами	2	13,570	6,785	5,033
Внутри селекционных объектов	76	216,228	2,845	94,967
Общая	78	229,797	–	–

Примечание: Df – число степеней свободы; SS – сумма квадратов отклонений; MS – дисперсия (варианса).

Таким образом, полученные результаты обнаружили высокий уровень аллельного и генетического разнообразия на всех изученных селекционных объектах. Как уже было отмечено выше, все существующие в Карелии клоновые плантации, используемые для сбора семян, относятся к ЛСП I порядка. Для получения семян генетически улучшенного качества и большего объема необходимо создание новых ЛСП, предпочтительно повышенной генетической ценности, что позволит иметь большую генетическую выгоду. Такой подход, для сравнения, давно практикуется в соседней Финляндии [18]. В зависимости от страны требуется разное количество клонов на ЛСП [19]. Для Финляндии V. Koski [21] предлагает не менее 40 клонов, D. Lindgren и F. Prescher [25] для Швеции – 20 клонов.

Следует учитывать, что поставленные селекционные цели должны быть компромиссом между различными функциями будущих лесов. Интенсивный отбор, приводящий к улучшению хозяйственно-ценных признаков, требует

уменьшения количества клонов, поскольку достигнутый генетический выигрыш увеличивается с большей интенсивностью отбора и, следовательно, с уменьшением количества выбранных деревьев [14, 17]. Это часто связано со снижением генетической изменчивости. В то же время поддержание высокого уровня генетической изменчивости может иметь особое значение при адаптации вида к изменениям, происходящим в окружающей среде [27]. Кроме того, генетическое разнообразие является основным источником вариантов, используемых в программах отбора. На ранней стадии селекции отобранные материнские деревья характеризуются высокой степенью генетической изменчивости, сравнимой с той, которая зафиксирована для естественных популяций этих видов [24, 29, 34].

Полученные данные по КГО для селекционных объектов выявили дефицит наиболее характерных для данного региона аллелей, что может указывать на недостаточную представленность базового генофонда на исследованных ЛСП и в ИК. Данный факт может свидетельствовать о том, что на генетическую структуру селекционных объектов определенное влияние оказывает процесс отбора отдельных генотипов (ПД) без учета их аллельного состава (отбор только по фенотипу), в итоге доля генотипов с наиболее типичными аллелями оказалась невысокой. При этом в генотипах вегетативного и семенного потомства ПД выявлено наличие большой доли (27–37 %) наиболее редких для данной части ареала сосны обыкновенной аллелей. Это может указывать на смешение генофондов различных локальных популяций, что и происходит при создании ЛСП I порядка. Наибольшее количество наиболее редких аллелей обнаружено в ИК, т. е. семенное потомство клонов ПД обладает самым высоким потенциалом генетической изменчивости.

### Заключение

Высокий уровень генетического разнообразия, характерный для объектов базового (исходного) уровня системы плюсовой селекции, к которому относятся вегетативные и семенные потомства плюсовых деревьев на лесосеменных плантациях I порядка и в испытательных культурах, является закономерным и обусловлен массовым типом отбора. Проблема сохранения биоразнообразия обостряется при переходе к селекционным объектам более высокого порядка, повышенной генетической ценности, создаваемых интенсивным индивидуальным отбором. Уровень генетического разнообразия может быть снижен не только на этапе отбора по фенотипу, но и во время последующих этапов селекции (контролируемое скрещивание), а также непосредственно при получении семян и сеянцев. Поэтому на всех этапах селекционного процесса должен систематически выполняться генетический мониторинг.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Ивановская С.И. Оценка генофонда сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в плюсовых насаждениях Беларуси по данным изоферментного анализа // Тр. БГТУ. № 1. Лесное хозяйство. 2014. № 1. С. 130–134.  
Ivanovskaya S.I. Evaluation of the Scots Pine (*Pinus sylvestris* L.) Gene Pool in Plus Stands of Belarus According to Isozyme Analysis. *Trudy BSTU, Serie: Lesnoe khozyaistvo*, 2014, no. 1, pp. 130–134. (In Russ.).

2. Ивановская С.И., Барсукова М.М., Ревяко И.Д., Луферова Н.С., Падутов В.Е., Ревяко И.Д. Уровень генетической изменчивости у деревьев сосны обыкновенной различных селекционных категорий // Проблемы лесоведения и лесоводства: сб. науч. тр. Минск: Ин-т леса НАН Беларуси, 2008. Вып. 68. С. 178–186.

Ivanovskaya S.I., Barsukova M.M., Revyako I.D., Luferova N.S., Padutov V.E., Revyako I.D. Level of Genetic Variability in Scots Pine Trees of Various Breeding Categories. *Problems of Forest Science and Forestry: Proceedings of Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus*. Minsk, 2008, vol. 68, pp. 178–186. (In Russ.).

3. Ильинов А.А., Раевский Б.В. Сравнительная оценка генетического разнообразия естественных популяций и клоновых плантаций сосны обыкновенной и ели финской в Карелии // Экол. генетика. 2015. Т. XIII, № 4. С. 55–67.

Ilinov A.A., Raevsky B.V. Comparative Evaluation of the Genetic Diversity of Natural Populations and Clonal Seed Orchards of *Pinus sylvestris* L. and *Picea × fennica* (Regel) Kom. in Karelia. *Ekologicheskaya genetika* = Russian Journal of Genetics, 2015, vol. 13, no. 4, pp. 55–67. (In Russ.). <https://doi.org/10.17816/ecogen13455-67>

4. Ильинов А.А., Раевский Б.В. Состояние генофонда сосны обыкновенной *Pinus sylvestris* L. в Карелии // Сиб. лесн. журн. 2016. № 5. С. 45–54.

Ilinov A.A., Raevsky B.V. The Current State of *Pinus sylvestris* L. Gene Pool in Karelia. *Sibirskiy lesnoy zhurnal* = Siberian Journal of Forest Science, 2016, no. 5, pp. 45–54. (In Russ.). <https://doi.org/10.15372/sjfs20160504>

5. Ильинов А.А., Раевский Б.В. Использование микросателлитных локусов в изучении плюсового генофонда сосны обыкновенной *Pinus sylvestris* L. в Карелии // Тр. КарНЦ РАН. 2018. № 6. С. 124–134.

Ilinov A.A., Raevsky B.V. Analysis of the *Pinus sylvestris* L. Plus Tree Gene Pool in Karelia Using Microsatellite Loci. *Proceedings of the Karelian RC RAS*. 2018, no. 6, pp. 124–134. (In Russ.). <https://doi.org/10.17076/eb840>

6. Новиков П.С., Шейкина О.В. ISSR-анализ деревьев сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*) различных селекционных категорий // Науч. журн. КубГАУ. 2012. № 82(08). С. 100–112.

Novikov P.S., Sheikina O.V. ISSR Analysis of *Pinus sylvestris* Trees of Different Selection Categories. *Nauchnyi zhurnal KubGAU* = Scientific Journal of KubSAU, 2012, vol. 82, no. 8, pp. 100–112. (In Russ.).

7. Потоккина Е.К., Александрова Т.Г. Методы классификации внутривидового разнообразия по результатам молекулярного маркирования // Материалы Всерос. конф. «Фундаментальные и прикладные проблемы ботаники в начале XXI века», Петрозаводск, 22–27 сент. 2008 г. Ч. 3: Молекулярная систематика и биосистематика. Флора и систематика высших растений и флористика. Палеоботаника. Культурные и сорные растения. Ботаническое ресурсосведение и фармакогнозия. Охрана растительного мира. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2008. С. 62–65.

Potokina E.K., Aleksandrova T.G. Methods for Classifying Intraspecific Diversity Based on the Results of Molecular Labeling. *Proceedings of All-Russian Conference "Fundamental and Applied Problems of Botany at the Beginning of XXI century"*, Petrozavodsk, September 22-27, 2008. Petrozavodsk, Karelian RC RAS Publ., 2008, pp. 62–65. (In Russ.).

8. Раевский Б.В., Щурова М.Л. Методика селекционно-генетической оценки клонов сосны обыкновенной на лесосеменных плантациях // Сиб. лесн. журн. 2016. № 5. С. 91–98.

Raevsky B.V., Schurova M.L. The Method for Breeding and Genetic Assessment of Scotch Pine Clones at Forest Seed Orchards. *Sibirskii lesnoi zhurnal* = Siberian Journal of Forest Science, 2016, no. 5, pp. 91–98. (In Russ.). <https://doi.org/10.15372/SJFS20160509>

9. Смирнов Е.С. О кодировании признаков для таксономического анализа // Журн. общ. биол. 1971. Т. 32, № 2. С. 224–228.

Smirnov E.S. On Coding Traits for Taxonomic Analysis. *Zhurnal obshchey biologii* = Journal of General Biology, 1971, vol. 32, no. 2, pp. 224–228. (In Russ.).

10. Степанова Е.М., Гончаренко Г.Г. Аллельное и генотипическое разнообразие в природных и искусственных насаждениях сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*) // Молодой ученый. 2009. № 12(12). С. 122–124.

Stepanova E.M., Goncharenko G.G. Allelic and Genotypic Diversity in Natural and Artificial Forest Stands of *Pinus sylvestris*. *Molodoy uchenyj*, 2009, no. 12(12), pp. 122–124. (In Russ.).

11. Bergmann F., Ruetz W. Isozyme Genetic Variation and Heterozygosity in Random Tree Samples and Selected Orchard Clones from the Same Norway Spruce Populations. *Forest Ecology and Management*, 1991, vol. 46, no. 1-2, pp. 39–47. [https://doi.org/10.1016/0378-1127\(91\)90243-O](https://doi.org/10.1016/0378-1127(91)90243-O)

12. Brown A.H.D., Moran G.F. Isozymes, and the Genetic Resources of Forest Trees. *Proceedings of the Symposium on Iso-Zymes of North American Forest Trees and Forest Insects, California, Berkeley, July 27, 1979*. California, Berkeley Publ., 1981, pp. 1–10.

13. Cheliak W.M., Murray G., Pitel J.A. Genetic Effects of Phenotypic Selection in White Spruce. *Forest Ecology and Management*, 1998, vol. 24, no. 2, pp. 139–149. [https://doi.org/10.1016/0378-1127\(88\)90117-X](https://doi.org/10.1016/0378-1127(88)90117-X)

14. Danusevicius D., Lindgren D. Two-Stage Selection Strategies in Tree Breeding Considering Gain, Diversity, Time and Cost. *Forest Genetics*, 2002, vol. 9, iss. 2, pp. 147–159.

15. El-Kassaby Y.A., Namkoong G. Genetic Diversity of Forest Tree Plantations: Consequences of Domestication. *Consequences of Changes in Biodiversity. Proceedings of IUFRO World Congress*. Finland, Tampere, 1995, vol. 2, pp. 218–228.

16. Elsik C.G., Minihan V.T., Hall S.E., Scarpa A.M., Williams C.G. Low-Copy Microsatellite Markers for *Pinus taeda* L. *Genome*, 2000, vol. 43, no. 3, pp. 550–555. <https://doi.org/10.1139/g00-002>

17. Funda T., Lstiburek M., Lachout P., Klápšte J., El-Kassaby Y.A. Optimization of Combined Genetic Gain and Diversity for Collection and Deployment of Seed Orchard Crops. *Tree Genetics and Genomes*, 2009, vol. 5, no. 4, pp. 583–593. <https://doi.org/10.1007/s11295-009-0211-3>

18. Haapanen M., Hynynen J., Ruotsalainen S., Siipilehto J., Kilpelyainen M.-L. Realised and Projected Gains in Growth, Quality and Simulated Yield of Genetically Improved Scots Pine in Southern Finland. *European Journal of Forest Research*, 2016, vol. 135, no. 6, pp. 997–1009. <https://doi.org/10.1007/s10342-016-0989-0>

19. Ivetić V., Devetaković J., Nonić M., Stanković D., Šijačić-Nikolić M. Genetic Diversity and Forest Reproductive Material – from Seed Source Selection to Planting. *IForest: Biogeosciences and Forestry*, 2016, vol. 9, no. 5, pp. 801–812. <https://doi.org/10.3832/ifor1577-009>

20. Knowles P. Comparison of Isozyme Variation Among Natural Stands and Plantations: Jack Pine and Black Spruce. *Canadian Journal of Forest Research*, 1985, vol. 15, no. 5, pp. 902–908. <https://doi.org/10.1139/x85-145>

21. Koski V. A Note on Genetic Diversity in Natural Populations and Cultivated Stands of Scots Pine (*Pinus sylvestris* L.). *Investigación Agraria. Sistemas y Recursos Forestales*, 2000, vol. 9, no. 1, pp. 89–96.

22. Ledig F.T. The Conservation of Diversity in Forest Trees: Why and How Should Genes Be Conserved? *Bioscience*, 1988, vol. 38, no. 7, pp. 471–479. <https://doi.org/10.2307/1310951>

23. Ledig F.T. Human Impacts on Genetic Diversity in Forest Ecosystems. *Oikos*, 1992, vol. 63, no. 1, p. 87. <https://doi.org/10.2307/3545518>

24. Lewandowski A., Kowalczyk J., Litkowiec M., Urbaniak L., Rzońca M. Selection of Elite Mother Trees of Scots Pine, and European Larch to Establish 1.5 Generation Seed Orchards. *Sylwan*, 2017, vol. 161, no. 11, pp. 917–926. (In Polish).

25. Lindgren D., Prescher F. Optimal Clone Number for Seed Orchards with Tested Clones. *Silvae Genetica*, 2005, vol. 54, no. 1-6, pp. 80–92. <https://doi.org/10.1515/sg-2005-0013>
26. Lundkvist K. Genetic Structure in Natural and Cultivated Forest Tree Populations. *Silva Fennica*, 1982, vol. 16, pp. 141–149.
27. Muller-Starck G. Protection of Genetic Variability in Forest Trees. *Forest Genetics*, 1995, vol. 2, pp. 121–124.
28. Namkoong G. Biodiversity – Issues in Genetics, Forestry and Ethics. *Forestry Chronicle*, 1992, vol. 68, no. 4, pp. 438–443. <https://doi.org/10.5558/tfc68438-4>
29. Nardin M., Musch B., Rousselle Y., Guerin V., Sanchez L., Rossi J-P., Gerber S., Marin S., Paques L.E., Rozenberg P. Genetic Differentiation of European Larch Along an Altitudinal Gradient in the French Alps. *Annals of Forest Science*, 2015, vol. 72, no. 5, pp. 517–527. <https://doi.org/10.1007/s13595-015-0483-8>
30. Peakall R., Smouse P.E. GenAlEx 6.5: Genetic Analysis in Excel. Population Genetic Software for Teaching and Research – an Update. *Bioinformatics*, 2012, vol. 28, no. 19, pp. 2537–2539. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>
31. Soranzo N., Provan J., Powell W. Characterization of Microsatellite Loci in *Pinus sylvestris* L. *Molecular Ecology*, 1998, vol. 7, no. 9, pp. 1260–1261.
32. 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, vol. 94, no. 1, pp. 83–90. <https://doi.org/10.1007/s001220050385>
33. Van Oosterhout C., Hutchinson W., Wills D., Shipley P. Micro-Checker: Software for Identifying and Correcting Genotyping Errors in Microsatellite Data. *Molecular Ecology Notes*, 2004, vol. 4, no. 3, pp. 535–538. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00684.x>
34. Wójkiewicz B., Litkowiec M., Wachowiak W. Contrasting Patterns of Genetic Variation in Core and Peripheral Populations of Highly Outcrossing and Wind Pollinated Forest Tree Species. *AoB Plants*, 2016, vol. 8, pp. 1–13. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plw054>

**Конфликт интересов:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов  
**Conflict of interest:** The authors declare that there is no conflict of interest