

УДК 630*17:582.475

UDC 630*17:582.475

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ СУХОДОЛЬНОЙ И БОЛОТНОЙ ЦЕНОПОПУЛЯЦИЙ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В РЕСПУБЛИКЕ МАРИЙ ЭЛ

GENETIC VARIATION AND DIFFERENTIATION OF PINUS SYLVESTRIS IN THE SWAMPS AND DRY LANDS CENOPOPULATIONS OF THE MARY EL REPUBLIC

Шейкина Ольга Викторовна
к.с.-х.н., доцент

Sheikina Olga Viktorovna
Cand.Agr.Sci., associate professor

Демаков Юрий Петрович
д.б.н., профессор

Demakov Yuriy Petrovich
Dr.Sci.Biol., professor

Гладков Юрий Федорович
аспирант

Gladkov Yuriy Fedorovich
postgraduate student

Унженина Ольга Владимировна
магистрант
Поволжский государственный технологический университет, Йошкар-Ола, Россия

Unzhenina Olga Vladimirovna
student
Volga State University of Technology, Yoshkar-Ola, Russia

Приведены результаты изучения генетической изменчивости и дифференциации смежных болотных и суходольных ценопопуляций сосны обыкновенной на основе анализа полиморфизма ISSR регионов ДНК. Показан близкий уровень изменчивости и относительно высокая генетическая подразделенность

The results of genetic variation and differentiation study of adjacent populations growing on swamp and on dry land was done using examine of ISSR DNA regions. The same diversity level and comparatively high division were shown in this article

Ключевые слова: СОСНА ОБЫКНОВЕННАЯ, БОЛОТНЫЕ И СУХОДОЛЬНЫЕ ЦЕНОПОПУЛЯЦИИ, ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ, ISSR МАРКЕРЫ

Keywords: *PINUS SYLVESTRIS*, WETLAND AND TERRESTRIAL MATERIAL, GENETIC VARIABILITY, ISSR MARKERS

Введение.

Сосна обыкновенная является одним из наиболее широко распространенных лесообразующих видов в России, который играет важную экономическую и средобразующую роль [1]. Поэтому исследованиям данного вида необходимо уделять пристальное внимание. Одним из аспектов современных исследований является изучение популяционно-хорологической структуры вида, что необходимо для разработки методов сохранения разнообразия генофонда и его рационального использования. Одной из нерешенных проблем при исследовании популяционной структуры сосны обыкновенной является оценка степени генетической обособленности болотных и суходольных насаждений данного вида.

По мнению Т.С. Седельниковой [2], болотные и суходольные популяции хвойных видов имеют общее происхождение, что подтверждают выявленные в ходе исследований сходные значения стабильных признаков репродуктивной сферы, или индексов - индекса формы макростробилов, индекса формы семенных крылаток и аэродинамических характеристик их полета, относительной длины и центромерного индекса хромосом. Формирование болотных популяций видов семейства Pinaceae происходит в соответствии с развитием процесса заболачивания. Предполагается, что возникновение фенотипической и генетической дифференциации между суходольными и болотными популяциями сосны обыкновенной вызвано изменением направления естественного отбора в контрастных гидротермических и трофических условиях данных экотопов и возникновением изоляции между ними [2, 3, 4, 5, 6]. По мнению И.Д. Махаткова и др. [7] уровень генетической дифференциации насаждений сосны из контрастных экотопов может определяться сложным взаимодействием различных факторов эволюции (отбора, фенологической изоляции и миграции семян) и зависеть от возраста болотных экосистем.

Ряд исследований указывают на наличие ярко выраженной фенологической изоляции между суходольными и болотными популяциями сосны обыкновенной [3, 5, 8, 9]. Таким образом, возникновение репродуктивной изоляции способствует фенотипической и генетической дивергенции популяций сосны обыкновенной произрастающих на болотах и суходолах, что было подтверждено рядом исследований. Было выявлено, что болотные и суходольные популяции *Pinus sylvestris* дифференцируются по содержанию пигментов первичной хвои у однолетних всходов [10], числу ядрышек в интерфазных ядрах [11], морфологическим характеристикам хвои [12], размерам пыльцевых зерен [13], частотам фенов первого и третьего слоев окраски семян, типа

развития апофиза, окраски шишек и микростробилов [14], частоте встречаемости вторичных перетяжек в хромосомах [2], по соотношению деревьев с различным строением апофизов шишек, встречаемости деревьев со светлыми и темными семенами, с красноокрашенными и желтоокрашенными микростробилами [2, 6].

На генетическую дифференциацию болотных и суходольных популяций так же указывают достоверные различия качественных показателей семян и показателей роста их семенных потомств [5, 6]. По данным И.В. Петровой [5] наиболее существенные альтернативные морфологические различия между полусибсовыми потомствами деревьев с суходолов и болот были обнаружены в строении главных корней. В семилетнем возрасте 95% суходольных растений имели хорошо выраженный вертикальный корень, в то время как среди потомков болотной сосны преобладали растения с отсутствующим главным вертикальным корнем, а на 22-й год жизни вертикальные корни у болотных сеянцев вообще отсутствовали. По мнению автора, это может быть адаптивной особенностью болотной сосны к условиям среды верховых болот.

Предполагается, что фенотипическая дифференциация индивидуальных особенностей особей в болотных и суходольных популяциях может рассматриваться как проявление стратегии выживания сосны обыкновенной [6, 15].

В ряде исследовательских работ были установлены различия в генетической структуре насаждений сосны произрастающих на суходолах и болотах на основе анализа изоформ различных ферментов [16, 17, 18, 19, 20]. Также было установлено, что различия в генетической структуре наблюдаются не только между суходольной и болотными ценопопуляциями сосны, но и между ценопопуляциями, расположенными на болотах, различающихся по типу водно-минерального питания, и на

разных олиготрофных болотах [21]. В работах С.Н. Санникова и И.В. Петровой [19] и В.А. Духарева [22] была показана большая генетическая подразделенность выборок с олиготрофных болот по сравнению с выборками деревьев произрастающих в более благоприятных экологических условиях на суходолах.

Таким образом, исследования дифференциации болотных и суходольных популяций сосны обыкновенной на территории России проводились в основном на основе анализа признаков репродуктивной сферы и изменчивости изоферментов. В тоже время, нам не удалось обнаружить данные о различиях между популяциями, произрастающими в существенно различающихся экотопах на уровне ДНК. Цель нашей работы заключалась в исследовании уровня генетической изменчивости и оценке степени генетической обособленности смежных болотных и суходольных насаждений сосны обыкновенной на основе анализа ISSR участков ДНК. Данный вид ДНК маркеров хорошо себя зарекомендовал в популяционных биологических исследованиях хвойных видов [23, 24, 25, 26, 27].

Объект и методы исследования.

Объектами исследования служили ценопопуляции сосны обыкновенной, произрастающие в квартале 17 Старожильского лесничества на смежных участках в лишайниково-мшистом (пробная площадь № 1) и сфагновом (ПП № 2) типах леса (рис. 1). Древозой на ПП № 1 абсолютно одновозрастный 80-летний II класса бонитета полнотой 0,75. Средний диаметр деревьев равен 25,3 см ($d_{\min} = 14$ см, $d_{\max} = 42$ см), а средняя высота составляет 22,4 м. На ПП № 2 древозой абсолютно разновозрастный (возраст отдельных деревьев достигает 320 лет) V^a класса бонитета полнотой 0,62. Средний диаметр деревьев составляет всего 9,8 см ($d_{\min} = 1$ см, $d_{\max} = 36$ см), а средняя высота – 6,6 м.

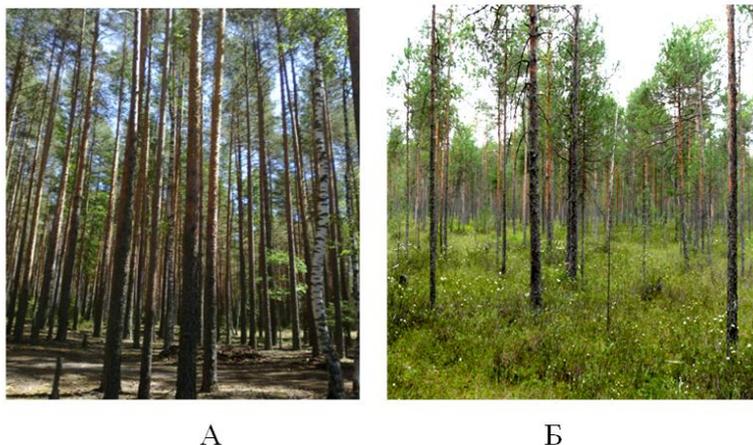


Рис. 1 – Общий вид фитоценоза А – на суходольной участке Б - на болоте «Изи Куп

В каждой ценопопуляции сосны для анализа было случайным образом отобрано по 30 деревьев, у которых с помощью особой высечки взяли образцы коры, луба, камбия и древесины. Суммарная ДНК была экстрагирована из луба ствола по протоколу Doyle J.J. and Doyle J.L. [28]. Для анализа были взяты 6 полиморфных ISSR праймеров (табл. 1).

Таблица 1.– Характеристика включенных в анализ ISSR праймеров

	Праймер	Секвиенс	Температура отжига (Tm), °C
1.	(CA) ₆ RY	CACACACACACAATGC	60
2.	(CA) ₆ AG	CACACACACACAAGG	60
3.	(CA) ₆ GT	CACACACACACAGT	60
4.	(CA) ₆ AC	CACACACACACAAC	60
5.	(AG) ₈ T	AGAGAGAGAGAGAGAGT	60
6.	(AG) ₈ YT	AGAGAGAGAGAGAGAGGCT	65

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили на амплификаторе MJ Mini™ Gradient Thermal Cycler (Bio-Rad, США) с использованием коммерческого набор реактивов «Encyclo PCR kit» (Evrogen, Россия) объемом 10 мкл: 1 мкл ПЦР-буфера; 0,2 мкл 10Мм dNTPs; 0,1 мкл 100 мкМ праймера; 1 мкл образца ДНК; 0,1 мкл Taq-полимеразы (2 ед/мкл); 7,6 мкл воды. Режим ПЦР: 5 мин денатурация при 94°C (горячий старт), 0,5 мин денатурация при 94°C, 45 сек отжиг при 60°C, элонгация 45 сек при 72°C, 7 мин достройка при 72°C, 45 циклов амплификации. Детекцию

продуктов амплификации проводили путем электровореза в 1,5% агарозном геле в TBE буфере. Обработку данных проводили с использованием системы гель-документации GelDoc 2000 (Bio-Rad, США) и программного пакета Quantity One® Version 4.6.3. ISSR профили анализировались по наличию (1) или отсутствию (0) полос на геле. Для создания матрицы характеризующей генетические профили исследуемых образцов использовали программу BioImageGelesPCRAalysisv. 1.0 [29]. Математическую обработку данных проводили в среде POPGENE Version 1.32 [30].

Результаты и обсуждение.

Всего при использовании 6 ISSR праймеров было амплифицировано 215 фрагментов ДНК, при этом у разных праймеров количество ампликонов варьировало от 27 до 39. Длина амплифицированных фрагментов варьировала у праймера (CA)₆RY от 200 до 1930 п.н., у праймера (CA)₆AG от 200 до 2450 п.н., у праймера (CA)₆GT от 210 до 2200, у праймера (CA)₆AC от 210 до 2500 п.н., у праймера (AG)₈T от 290 до 1580 п.н. и у праймера (AG)₈YT от 210 до 2400 п.н.

Было установлено, что в целом показатели генетического разнообразия выборок деревьев из смежных суходольной и болотной популяций близкие (табл. 2). Так доля полиморфных локусов составила 79,53 и 75,81%; наблюдаемое число аллелей 1,795 и 1,758; эффективное число аллелей 1,299 и 1,27; генетическое разнообразие 0,187 и 0,173; индекс Шеннона 0,294 и 0,276 соответственно для болотной и суходольной популяций.

Таблица 2 - Основные показатели генетической изменчивости выборки деревьев из смежных суходольной и болотной ценопопуляций

Параметры генетической изменчивости	Болотная популяция	Суходольная популяция	В целом
Доля полиморфных локусов, P, %	79,53	75,81	89,77
Наблюдаемое число аллель, Na	1,795	1,758	1,897
Эффективное число аллель, Ne	1,299	1,278	1,331
Генетическое разнообразие по Nei, H	0,187	0,173	0,209
Индекс Шеннона, I	0,294	0,276	0,334

О дифференциации исследованных объектов можно судить по значению генетической дистанции по Nei [31], которая составила 0,0736. Величина генетической дистанции указывает на достаточно большую генетическую подразделенность изученных смежных и болотной и суходольной ценопопуляций. Такой уровень дифференциации был установлен ранее для выборок деревьев из насаждений и с лесосеменных плантаций из Республики Марий Эл и Пензенской области [32]. На генетическую дифференциацию указывает также значение показателя генетической подразделенности популяций (G_{st}) который в нашем случае составил 0.1389. Он говорит о том, что 86,1% всей изменчивости находится внутри изученных выборок деревьев. О существовании генетической изоляции и отсутствии прямого обмена генами также свидетельствует и малая величина потока генов (N_m) которая составила 3,09 мигранта на поколение. Также необходимо отметить, что при наличии значительной фенологической изоляции между болотными и суходольными ценопопуляциями, на существование которых указывали ряд авторов [3, 5, 8, 9], появление мигрантов может быть вызвано в результате определенного «миграционное давление» в виде попадания семян со стороны смежных насаждений, так как между ними практически отсутствует дистанционная изоляция.

Полученные результаты не противоречат проведенным ранее исследованиям, направленным на анализ изменчивости изоферментных

локусов в суходольных и болотных популяциях. Так, А.В. Духарев с соавторами [16] установили, что около 30% локусов кодирующих изоформы одного фермента имеют достоверные различия при уровне значимости 0,05 у особей сосны обыкновенной в суходольной и произрастающей на болоте олиготрофного типа популяциях. И.В. Петрова [5] также установила достоверные различия аллельного состава и значительные (на уровне популяций) генетические дистанции Nei между смежными суходольными и болотными популяциями в южной части лесной зоны Западной Сибири и Русской Равнины.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках проекта № 13-04-00483.

Список литературы:

1. Бобров, Е.Г. Лесообразующие хвойные СССР / Е.Г. Бобров. – Л.: Наука, 1978. – 188с.
2. Седельникова, Т.С. Дифференциация болотных и суходольных популяций видов семейства Pinaceae (репродуктивные и кариотипические особенности) / Т.С. Седельникова // Автореферат на соискание ученой степени доктора биологических наук. – Томск. – 2008. – 35с.
3. Гришина, И.В. О дифференциации смежных групп популяций болотной и суходольной сосны обыкновенной / И.В. Гришина // Генет.-селекц. исслед. на Урале. Инф. материалы. Свердловск. –1984, с. 108-109.
4. Муратова, Е.Н. Кариологическое исследование болотных и суходольных популяций сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) / Е.Н. Муратова, Т.С. Седельникова // Экология. – 1993. - № 6. – С. 41-50.
5. Петрова, И.В. Изоляция, дифференциация и хорологическая структура популяций сосны обыкновенной (на примере Северной Евразии) / И.В. Петрова // Автореферат на соискание ученой степени доктора биологических наук, Екатеринбург. – 2002. – 48 с.
6. Пименов, А.В. Качественная оценка формового разнообразия сосны обыкновенной в лесоболотных комплексах Западной Сибири / А.В. Пименов, Т.С. Седельникова // Хвойные бореальной зоны. – 2012. – XXX.№1. – С. 157-161.
7. Махатков, И.Д. Генетическая структура популяций сосны на суходолах и болотах Западной Сибири / Махатков И.Д., Тараканов В.В., Тюпина В.М. // Хвойные бореальной зоны. – 2007. – №2-3. 248-250.
8. Гришина, И.В. О фенологической изоляции популяций сосны обыкновенной / И.В. Гришина // Экологические исследования в лесных и луговых биогеоценозах равнинного Зауралья (Труды Института экологии растений и животных УНЦ АН СССР). – Свердловск. – 1979. – С. 18-21.

9. Гришина, И.В. Изоляция и фенотипические различия смежных болотных и суходольных популяций сосны обыкновенной / И.В. Гришина // Экология. – 1985. – №5. – С 14-20.
10. Петрова И.В., Изоляция и дифференциация популяций сосны обыкновенной / И.В. Петрова, С. Н. Санников, Екатеринбург. -1996. – 156с.
11. Седельникова Т.С. Изучение ядрышек у хвойных на болотах и суходолах / Т.С. Седельникова, Е.Н. Прохорчук // Цитология. – 1999. – Т. 41, № 12.
12. Urbaniak, L. Variation of morphological needle characters of scotd pine (*Pinus sylvestris* L.) populations in different habitats / L. Urbaniak, L. Karlinski, R. Popiearz // Acta societatis botanicorum Poland. – 2003. – Vol. 72. – №1. – P. 37-44.
13. Седельникова, Т.С. Морфология пыльцы сосны обыкновенной на болотах и суходолах / Т. С. Седельникова, А. В. Пименов, С. П. Ефремов // Лесоведение. – 2004. – № 6. – С. 58-62.
14. Видякин, А.И. Фенетика, популяционная структура и сохранение генетического фонда сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) / Видякин А.И. // Хвойные бореальной зоны. – 2007. – №2-3. – С. 159-167.
15. Седельникова, Т.С. Особенности генеративной сферы сосны обыкновенной болотных и суходольных популяций / Т.С. Седельникова, А.В. Пименов, С.П. Ефремов, Е.Н. Муратова // Лесоведение. – 2007. – № 4. – С. 44-50.
16. Духарев, В.А. Гетерозиготность и семенная продуктивность сосны обыкновенной / А.В. Духарев, М.Г. Романовский, С.М. Рябоконт // Лесоведение. – 1987. - №2. – С.87-90.
17. Белоконов, Ю.С. Генетическая дифференциация болотной и суходольной популяций сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) / Ю.С. Белоконов, Д.В. Политов, М.М Белоконов, К.В. Крутовский // Жизнь популяций в гетерогенной среде. Часть 2. Йошкар-Ола: Периодика Марий Эл, 1998. - С.23-24.
18. Дворник, В.Я. Генетическая дифференциация соседних популяций сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), произрастающих в различных экотопах / В.Я Дворник, В.С. Котов, В.П. Михеенко // Генетика. – 1998. – №9. – С. 1258-1263.
19. Санников, С.Н. Дифференциация популяций сосны обыкновенной / С.Н. Санников, И.В. Петрова. – Екатеринбург: УрО РАН. –2003. – 247 с.
20. Larionova, A. Ya. Isoenzyme Diversity and Differentiation of Marsh Scotch pine (*Pinus sylvestris* L.) Populations in The Western Siberia / Larionova A. Ya., Ekart A. K. // Eurasian J. For. Res. – 2011. –14-1. – P. 21-28
21. Ларионова, А.Я. Генетическое разнообразие и дифференциация болотных популяций сосны / А.Я. Ларионова, А.К. Экарт // Хвойные бореальной зоны. – 2010. – XXVII. – № 1 – 2. – С. 120-126.
22. Духарев, В.А. Распределение деревьев по аллельному составу / В.А. Духарев // Особенности формирования популяций сосны обыкновенной: сб. ст. – Москва, 1984. – С. 81-86.
23. Новиков, П.С. Изменчивость плюсовых деревьев сосны обыкновенной на архиве клонов по ISSR маркерам // П.С. Новиков, О.В. Шейкина, Т.Н. Милютин. - Вестник МарГТУ. – 2011.- № 3. – С. 82-87
24. Новиков, П.С. ISSR-анализ деревьев сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*) различных селекционных категорий /П.С. Новиков, О.В. Шейкина // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ) [Электронный ресурс]. – Краснодар: КубГАУ, 2012. – №08(82). – Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2012/08/pdf/65.pdf>, 0,750 у.п.л

25. Прохорова, А.А. Генетическая изменчивость вегетативных потомств плюсовых деревьев на архиве клонов в Республике Марий Эл / А.А. Прохорова, О.В. Шейкина, Ю.Ф. Гладков // Вестник ПГТУ. – 2013.- № 2. – С. 91-100.
26. Милютин, Т.Н. Молекулярно - генетические исследования изменчивости клонов плюсовых деревьев *Pinus sylvestris* по ISSR-маркерам / Т.Н. Милютин, О.В. Шейкина, П.С. Новиков // Хвойные бореальной зоны. – 2013. – № 1-2. – том XXXI. – С. 102-105.
27. Hui-yu, L. Genetic variation and division of *Pinus sylvestris* provenances by ISSR markers / L. Hui-yu, J. Jing, L. Gui-feng et al. // Journal of Forest Research. – 2005. – V. 16. - № 3. – P. 216-218.
28. Doyle, J.J. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue / Doyle J.J. and Doyle J.L. // Phytochem. Bull. – 1987. – 19. – P. 11-15.
29. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ. BioImageGelesPCRAnalysisv. 1.0 / Ю.А. Ипатов, П.С. Новиков, Р.В. Сергеев, А.И. Шургин, О.В. Шейкина; заявитель и патентообладатель Поволжский государственный технологический университет. - №2012619172, заявл. 20.08.2012 г.; опубл. 11.10.2012 г.
30. Yeh, F.C. POPGENE Version 1.32. Ag/For Molecular Biology and Biotechnology Centre / F.C. Yeh, R. Yang, T. Boyle // University of Alberta and Center for International Forestry Research 1997.
31. Nei, M. Genetic distance between populations Nei M. // Am Nat. – 1972. – 106. – P. 283-292.

References

1. Bobrov, E.G. Lesobrazuyushchie khvoynye SSSR / E.G. Bobrov. – L.: Nauka, 1978. – 188s.
2. Sedel'nikova, T.S. Differentsiatsiya bolotnykh i sukhodol'nykh populyatsiy vidov semeystva Pinaceae (reproduktivnye i kariotipicheskie osobennosti) / T.S. Sedel'nikova // Avtoreferat na soiskanie uchenoy stepeni doktora biologicheskikh nauk. – Tomsk. – 2008. – 35s.
3. Grishina, I.V. O differentsiatsii smezhnykh grupp populyatsiy bolotnoy i sukhodol'noy sosny obyknovennoy / I.V. Grishina // Genet.-selekt. issled. na Urale. Inf. materialy. Sverdlovsk. –1984, s. 108-109.
4. Muratova, E.N. Kariologicheskoe issledovanie bolotnykh i sukhodol'nykh populyatsiy sosny obyknovennoy (*Pinus sylvestris* L.) / E.N. Muratova, T.S. Sedel'nikova // Ekologiya. – 1993. - № 6. – S. 41-50.
5. Petrova, I.V. Izolyatsiya, differentsiatsiya i khorologicheskaya struktura populyatsiy sosny obyknovennoy (na primere Severnoy Evrazii) / I.V. Petrova // Avtoreferat na soiskanie uchenoy stepeni doktora biologicheskikh nauk, Ekaterinburg. – 2002. – 48 s.
6. Pimenov, A.V. Kachestvennaya otsenka formovogo raznoobraziya sosny obyknovennoy v lesobolotnykh kompleksakh Zpadnoy Sibiri / A.V. Pimenov, T.S. Sedel'nikova // Khvoynye boreal'noy zony. – 2012. – XXX.№1. – S. 157-161.
7. Makhatkov, I.D. Feneticheskaya struktura populyatsiy sosny na sukhodolakh i bolotakh Zapadnoy Sibiri / Makhatkov I.D., Tarakanov V.V., Tyupina V.M. // Khvoynye boreal'noy zony. – 2007. – №2-3. 248-250.
8. Grishina, I.V. O fenologicheskoy izolyatsii populyatsiy sosny obyknovennoy / I.V. Grishina // Ekologicheskoe issledovaniya v lesnykh i lugovykh biogeotsenozakh ravninnogo Zaural'ya (Trudy Instituta ekologii rasteniy i zhivotnykh UNTs AN SSSR). – Sverdlovsk. – 1979. – S. 18-21.

9. Grishina, I.V. Izolyatsiya i fenogeneticheskie razlichiya smezhnykh bolotnykh i sukhodol'nykh populyatsiy sosny obyknovennoy / I.V. Grishina // *Ekologiya*. – 1985. – №5. – S 14-20.
10. Petrova I.V., Izolyatsiya i differentsiatsiya populyatsiy sosny obyknovennoy / I.V. Petrova, S. N. Sannikov, Ekaterinburg. -1996. – 156s.
11. Sedel'nikova T.S. Izuchenie yadryshek u khvoynykh na bolotakh i sukhodolakh / T.S. Sedel'nikova, E.N. Prokhorchuk // *Tsitologiya*. – 1999. – T. 41, № 12.
12. Urbaniak, L. Variation of morphological needle characters of scotd pine (*Pinus sylvestris* L.) populations in different habitats / L. Urbaniak, L. Karlinski, R. Popiearz // *Acta societatis botanicorum Poland*. – 2003. – Vol. 72. – №1. – P. 37-44.
13. Sedel'nikova, T.S. Morfologiya pyl'tsy sosny obyknovennoy na bolotakh i sukhodolakh / T. S. Sedel'nikova, A. V. Pimenov, S. P. Efremov // *Lesovedenie*. – 2004. – № 6. – S. 58-62.
14. Vidyakin, A.I. Fenetika, populyatsionnaya struktura i sokhranenie geneticheskogo fonda sosny obyknovennoy (*Pinus sylvestris* L.) / Vidyakin A.I. // *Khvoynye boreal'noy zony*. – 2007. – №2-3. – S. 159-167.
15. Sedel'nikova, T.S. Osobennosti generativnoy sfery sosny obyknovennoy bolotnykh i sukhodol'nykh populyatsiy / T.S. Sedel'nikova, A.V. Pimenov, S.P. Efremov, E.N. Muratova // *Lesovedenie*. – 2007. – № 4. – S. 44-50.
16. Dukharev, V.A. Geterozigotnost' i semennaya produktivnost' osobe sosny obyknovennoy / A.V. Dukharev, M.G. Romanovskiy, S.M. Ryabokon' // *Lesovedenie*. – 1987. - №2. – S.87-90.
17. Belokon', Yu.S. Geneticheskaya differentsiatsiya bolotnoy i sukhodol'noy populyatsiy sosny obyknovennoy (*Pinus sylvestris* L.) / Yu.S. Belokon', D.V. Politov, M.M. Belokon', K.V. Krutovskiy // *Zhizn' populyatsiy v geterogennoy srede*. Chast' 2. Yoshkar-Ola: Periodika Mariy El, 1998. - S.23-24.
18. Dvornik, V.Ya. Geneticheskaya differentsiatsiya sosezdnykh populyatsiy sosny obyknovennoy (*Pinus sylvestris* L.), proizrastayushchikh v razlichnykh ekotopakh / V.Ya. Dvornik, V.S. Kotov, V.P. Mikheenko // *Genetika*. – 1998. – №9. – S. 1258-1263.
19. Sannikov, S.N. Differentsiatsiya populyatsiy sosny obyknovennoy / S.N. Sannikov, I.V. Petrova. – Ekaterinburg: UrO RAN. –2003. – 247 s.
20. Larionova, A. Ya. Isoenzyme Diversity and Differentiation of Marsh Scotch pine (*Pinus sylvestris* L.) Populations in The Western Siberia / Larionova A. Ya., Ekart A. K. // *Eurasian J. For. Res.* – 2011. –14-1. – P. 21-28
21. Larionova, A.Ya. Geneticheskoe raznoobrazie i differentsiatsiya bolotnykh populyatsiy sosny / A.Ya. Larionova, A.K. Ekart // *Khvoynye boreal'noy zony*. – 2010. – XXVII. – № 1 – 2. – S. 120-126.
22. Dukharev, V.A. Raspredelenie derev'ev po allel'nomu sostavu / V.A. Dukharev // *Osobennosti formirovaniya populyatsiy sosny obyknovennoy: sb. st.* – Moskva, 1984. – S. 81-86.
23. Novikov, P.S. Izmenchivost' plyusovykh derev'ev sosny obyknovennoy na arkhive klonov po ISSR markeram // P.S. Novikov, O.V. Sheykina, T.N. Milyutina. - *Vestnik MarGTU*. – 2011.- № 3. – S. 82-87
24. Novikov, P.S. ISSR-analiz derev'ev sosny obyknovennoy (*Pinus sylvestris*) razlichnykh selektsionnykh kategoriy /P.S. Novikov, O.V. Sheykina // *Politematicheskiy setevoy elektronnyy nauchnyy zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta (Nauchnyy zhurnal KubGAU) [Elektronnyy resurs]*. – Krasnodar: KubGAU, 2012. – №08(82). – Rezhim dostupa: <http://ej.kubagro.ru/2012/08/pdf/65.pdf>, 0,750 u.p.l

25. Prokhorova, A.A. Geneticheskaya izmenchivost' vegetativnykh potomstv plyusovykh derev'ev na arkhive klonov v Respublike Mariy El / A.A. Prokhorova, O.V. Sheykina, Yu.F. Gladkov // Vestnik PGU. – 2013.- № 2. – S. 91-100.
26. Milyutina, T.N. Molekulyarno - genetichesk-ye issledovaniya izmenchivosti klonov plyusovykh derev'ev Pinus sylvestris po ISSR-markeram / T.N. Milyutina, O.V. Sheykina, P.S. Novikov // Khvoynye boreal'noy zony. – 2013. – № 1-2. – tom XXXI. – S. 102-105.
27. Hui-yu, L. Genetic variation and division of Pinus sylvestris provenances by ISSR markers / L. Hui-yu, J. Jing, L. Gui-feng et al. // Journal of Forest Reseach. – 2005. – V. 16. - № 3. – P. 216-218.
28. Doyle, J.J. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue / Doyle J.J. and Doyle J.L. // Phytochem. Bull. – 1987. – 19. – P. 11-15.
29. Svidetel'stvo o gosudarstvennoy registratsii programmy dlya EVM. BioImageGelesPCRAnalysisv. 1.0 / Yu.A. Ipatov, P.S. Novikov, R.V. Sergeev, A.I. Shurgin, O.V. Sheykina; zayavitel' i patentoobladatel' Povolzhskiy gosudarstvennyy tekhnologicheskiy universitet. - №2012619172, zayavl. 20.08.2012 g.; opubl. 11.10.2012 g.
30. Yeh, F.C. POPGENE Version 1.32. Ag/For Molecular Biology and Biotechnology Centre / F.C. Yeh, R. Yang, T. Boyle // University of Alberta and Center for International Forestry Research 1997.
31. Nei, M. Genetic distance between populations Nei M. // Am Nat. – 1972. – 106. – P. 283-292.